

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) DOKTORA PROGRAMI
DR-2025-0034

**DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİ MODELİNDE KENEVİR TOHUMU YAĞININ
(*Cannabis sativa* Seed Oil) OLASI ETKİLERİ**

**DEREN TOKMAK
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) TPF- Birimi tarafından 23024 no'lu proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2025

KABUL VE ONAY

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (TIP) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Deren TOKMAK tarafından hazırlanan **“Deneysel Miyoglobinin Akut Böbrek Yetmezliği Modelinde Kenevir Tohumu Yağının (Cannabis Sativa Seed Oil) Olası Etkileri ”** başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 17 /07/2025

Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ	
	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Gökhan CESUR ...	
	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi.	
Üye	: Doç. Dr. Onur ELMAS	
	Isparta...Süleyman Demirel Üniversitesi.	
Üye	: Doç.Dr. Ersin BEYAZÇİÇEK	
	Düzce Üniversitesi	
Üye	: Doç.Dr. Mustafa Yılmaz	
	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Fizyoloji (Tıp) Doktora eğitimim boyunca, tez çalışmalarım esnasında mesleki bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, yardımlarıyla bana çalışmalarımda öncülük yapan danışman hocam Prof. Dr. Recep ÖZMERDİVENLİ, çalışmalarım ve eğitimim süresince tüm katkılarından dolayı hocalarım Prof. Dr. Gökhan CESUR ve Dr. Öğr. Üyesi Ferhat ŞİRİNYILDIZ'a teşekkürü bir borç bilirim. Adü Tıp Fakültesi Histoloji- Embriyoloji Anabilim dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kemal ERGİN'e ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi değerli Doç.Dr. Mustafa Yılmaz'a desteklerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen, bana güç veren değerli aileme sonsuz teşekkürler.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
ÖZET.....	xiv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.2. Risk Faktörleri.....	5
2.3. Epidemiyoloji	6
2.4. Etyoloji	6
2.5. Prerenal Akut Böbrek Hasarı	7
2.6. Post-renal ABH:	8
2.7. Renal (İntrinsik) Akut Böbrek Hasarı.....	8
2.8. Crush Sendromu ve Rabdomiyoliz	9
2.9. Miyoglobininürik Akut Böbrek Hasarı (MABH).....	12
2.9.1. Deneysel MABH Modelleri.....	13
2.9.2. Gliserol ile İndüklenen ABH	14
2.10. Serbest Radikaller	14
2.10.1. Reaktif Oksijen Türleri; Oluşum Mekanizması ve Fonksiyonu	15
2.10.2. Serbest Radikallere Bağlı Oluşan Hasar	17
2.10.3. Antioksidan Savunma Sistemi	18

2.11.İskemik Akut Böbrek Hasarında Fizyopatolojik Süreçlerde Rol Alan Mekanizmalar.....	21
2.11.1. Endotel Hasarı İnflamasyon ve immünolojik faktörler:	21
2.11.2. Hücre ölümü (apoptoz ve nekroz)	22
2.12. Kenevir	25
2.12.1. Kenevirin Genel Kullanım Alanları	27
2.12.2. Kenevirin Fitokimyasal İçeriği ve Etkileri	28
2.12.3. Fitokannabinoitler.....	29
2.12.4. Kenevir Tohumu Yağı	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	34
3.1. Etik Kurul Kararı.....	34
3.2. Deney Hayvanları	34
3.3. Deney Tasarımı	34
3.3.1. MABH Prosedürü.....	34
3.3.2. Deney Grupları.....	37
3.3.2.1. Sham grubu (n=10)	37
3.3.2.2. Gliserol grubu (n=10).....	38
3.3.2.3. G + KCS3 grubu (n=10).....	38
3.3.2.4. G+KCS6 grubu (n=10).....	39
3.3.2.5. G+UCS3 grubu (n=10).....	39
3.3.2.6. G+UCS6 grubu (n=10).....	40
3.3.6. Biyokimyasal Analiz	41
3.3.6.1. Dokuların Homojenizasyonu:	41
3.3.6.2. Serum Üre Düzeyi Ölçümü	42
3.3.6.3. Serum Kreatinin Düzeyi Ölçümü.....	43
3.3.6.4. Doku Caspase-3 Düzeyinin Ölçümü.....	43

3.3.6.5. Doku HIF-1 Alfa Düzeyinin Ölçümü.....	44
3.3.6.6. Doku TNF-alfa Düzeyinin Ölçülmesi	45
3.3.6.7. Doku İnterlökin-1 β Düzeyinin Ölçülmesi	45
3.3.6.8 Doku İnterlökin-6 Düzeyinin Ölçülmesi.....	46
3.3.6.9. Doku Malondialdehit Düzeyi Ölçümü	47
3.3.6.10. Doku Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	47
3.3.6.11. Doku Glutasyon Düzeyi Ölçümü	48
3.3.6.12. Doku Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü.....	48
3.3.6. 13. Doku Miyeloperoksidaz Düzeyi Ölçümü	48
3.4. Histopatolojik Analiz	49
3.5. İstatistiksel Analiz.....	50
3.6. Kullanılan Cihazlar	50
3.7. Kullanılan Sarf Malzemeler	51
3.8. Kenevir Tohumu Yağı	52
4. BULGULAR.....	53
4.1. Ağırlık Ölçümleri	53
4.2.Biyokimyasal Bulgular	55
2.1.Doku Malondialdehit Düzeyi.....	55
4.2.2.Doku Glutasyon Düzeyi.....	57
4.2.3.Doku CAT Düzeyi.....	58
4.2.4.Doku Miyeloperoksidaz Enzim Düzeyi	60
4.2.5.Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyi	61
4.2.6. Doku HIF 1A Düzeyi	63
4.2.7. Doku Caspase -3 Düzeyi.....	64
4.2.8. Doku Tümör Nekroz Faktör Alfa Düzeyi.....	65
4.2.9. Doku İnterlökin 1 Beta Düzeyi	67

4.2.10. Doku İnterlökün 6 Düzeyi	68
4.2.11. Serum BUN Düzeyi.....	70
4.2.12. Serum Kreatinin Düzeyi	71
4.3. Histoloji Bulguları.....	73
4.3.1. İnterstisyel Alandaki Mononükleer Hücre İnfiltrasyon Alanları	75
4.3.2. İnterstisyel Alandaki Konjesyon Alanları.....	77
4.3.3. Nekroz Alanları.....	78
4.3.4. Bowman Boşluğunun Genişlemesi	80
5. TARTIŞMA	88
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	102
KAYNAKLAR	104
BİLİMSEL ETİK BEYANI.....	134
EKLER	134
ÖZ GEÇMİŞ	135

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABY	: Akut böbrek yetmezliği
ADQI	: Acute Dialysis Quality Initiative
AKIN	: Acute Kidney Injury Network
ALT	: Alanin Transaminaz
AST	: Aspartat transaminaz
ATN	: Akut tübüler nekroz
ATP	: Adenozin trifosfat
BUN	: Kan üre azotu
Ca++	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
CK	: Kreatin kinaz
Cu	: Bakır
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Fe	: Demir
Fe+3	: Ferri demir
Fe+2	: Ferro demir
GCL	: Glutamin-sistein ligaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GRx	: Glutasyon redüktaz
GSS	: Glutasyon sentetaz
GSSG	: Glutasyon disülfid (okside glutasyon)
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GSH	: Glutasyon
HO	: Hipoklorik asit

HOCl	: Hipoklorik asit
IL-6	: İnterlökin-6
IL- 1β	: İnterlökin 1- Beta
IR	: İskemi reperfüzyon
KDIGO	:Kidney Disease Improving Global Outcomes
LOO	: Lipitperoksitler
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
MABY	: Miyoglobinürik akut böbrek yetmezliği
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
NAD	: Nikotinamid Dinükleotid
NADP	: Nkotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO	: Nitrik Oksit
NO₂	: Nitrik Dioksit
O₂^{• -}	: Süperoksid anyon radikali
ONOO⁻	: Peroksinitr
PNL	:Polimorf nükleer lökosit
RIFLE	: Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease
RO[•]	: Alkoksil Radikalleri
ROO[•]	: Peroksil Radikalleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikalleri
TLR-2	: Toll benzeri reseptör-2
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması	4
Tablo 2. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması	4
Tablo 3. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması	5
Tablo 4. ABH“nin Etiyolojisi	7
Tablo 5. Gruplar arası ağırlık ölçüm değerleri	53
Tablo 6. Biyokimyasal Parametreler.....	55
Tablo 7. Tüm grupların MDA düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	56
Tablo 8. Tüm grupların doku GSH düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	58
Tablo 9. Tüm grupların CAT düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (mU/ml) gösterildi.	59
Tablo 10. Tüm grupların doku MPO düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	61
Tablo 11. Tüm grupların doku SOD düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	62
Tablo 12. Tüm grupların HIF1A aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	63
Tablo 13. Tüm grupların doku Caspase 3 aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	65
Tablo 14. Tüm grupların doku TNF Alfa aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	66
Tablo 15. Tüm grupların doku İnterlökin1 Beta aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	68
Tablo 16. Tüm grupların doku IL- 6 aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	69

Tablo 17. Tüm grupların doku BUN aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	71
Tablo 18. Tüm grupların doku Kreatinin aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması	72
Tablo 19. Grupların histolojik skorlarının karşılaştırılması	74
Tablo 20. Gruplar arası İnterstisyel Alandaki Mononükleer Hücre İnfiltrasyon Alanlarının karşılaştırılması	76
Tablo 21. Gruplar arası interstisyel alandaki konjesyon alanlarının karşılaştırılması	77
Tablo 22. Gruplar arası nekroz alanlarının karşılaştırılması	79
Tablo 23. Gruplar arası bowman boşluğunun genişlemesinin karşılaştırılması.....	80

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Deney prosedüründe kullanılan hayvanlar	35
Resim 2. Deney prosedüründe kullanılan hayvanlar	36
Resim 3. Kenevir Tohumu Yağı İntragastrik Gavaj Uygulaması	36
Resim 4. a ve b. Ponksiyonla kan örneklerinin alınması	41
Resim 5. c. Nefrektomi ve örneklerin alınması sırasındaki görünümeler	41
Resim 6. Rat Böbreğinin Porsiyonlanması	42
Resim 7. Microplate Üzerinde Renk Değişimi.	44
Resim 8. Kenevir tohumu yağı	52
Resim 9. Kontrol (Sham) grubuna ait böbrek kesiti	82
Resim 10. Kontrol (Sham) grubuna ait böbrek kesiti	82
Resim 11. G+ UCS6 grubuna ait böbrek kesiti	83
Resim 12. G+UCS6 grubuna ait böbrek kesiti.	83
Resim 13. G+UCS3 grubuna ait böbrek kesiti.	84
Resim 14. G+UCS3 grubuna ait böbrek kesiti.	84
Resim 15. G+KCS6 grubuna ait böbrek kesiti.	85
Resim 16. G+KCS6 grubuna ait böbrek kesiti.	85
Resim 17. G+KCS3 grubuna ait böbrek kesiti.	86
Resim 18. G+KCS3 grubuna ait böbrek kesiti.	86
Resim 19. Gliserol grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi	87
Resim 20. Gliserol grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Akut böbrek hasarının sınıflandırması	7
Şekil 2. Oksijenin, süperoksit ve hidroksil radikaline dönüşümü	15
Şekil 3. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynaklar	15
Şekil 4. Süperoksit Kaynağı Olan NADPH Oksidaz ile Ksantin Oksidaz Enzimlerinin Katalizlediği Tepkimeler.....	16
Şekil 5. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları	17
Şekil 6. Süperoksit dismutasyon reaksiyonu	19
Şekil 7. Katalaz (CAT) enzimi temel olarak peroksizomlarda bulunur	20
Şekil 8. Glutasyon peroksidaz, redüktaz ve -S transferaz	20
Şekil 9. İskemik akut böbrek hasarının fizyopatolojisinde rol oynayan temel mekanizmalar	21
Şekil 10. TNF Alfa ve IL1, IL6, Başta Olmak Üzere Mediyatörlerin Akut İnflamasyondaki Rolü	22
Şekil 11. CS-ABH da yeni RIG-I sinyal yolunun şematik çizimi	23
Şekil 12. 29 Eylül 2016 Tarih ve 29842 Sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan 2016 ‘da düzenlenen yönetmeliğe göre kenevirin üretim izni haritası	26
Şekil 13. Kenevirdeki fitokannabinoidlerin sınıflandırılması.	29
Şekil 14. Kenevir Tohum Yağının Makro Kompozisyonu	33
Şekil 15. Deney hayvan ağırlığı 1.gün değerleri	54
Şekil 16. Deney hayvan ağırlığı 10.gün değerleri	54
Şekil 17. Gruplara göre MDA düzeylerinin dağılımı.....	57
Şekil 18. Gruplara göre glutasyon (GSH) düzeylerinin dağılımı.....	58
Şekil 19. Gruplara göre CAT aktivitesi düzeylerinin dağılımı	60
Şekil 20. Gruplara göre MPO aktivitesi düzeylerinin dağılımı	61
Şekil 21. Gruplara göre SOD aktivitesi düzeylerinin dağılımı.....	62

Şekil 22. Gruplara göre (HIF1A) aktivitesi düzeylerinin dağılımı	64
Şekil 23. Gruplara göre Caspase-3 aktivitesi düzeylerinin dağılımı	65
Şekil 24. Gruplara göre TNF-Alfa aktivitesi düzeylerinin dağılımı	67
Şekil 25. Gruplara göre Il-1B aktivitesi düzeylerinin dağılımı	68
Şekil 26. Gruplara göre Il-6 düzeylerinin dağılımı	70
Şekil 27. Gruplara göre BUN düzeylerinin dağılımı	71
Şekil 28. Gruplara göre Kreatin düzeylerinin dağılımı	73
Şekil 29. Gruplara göre interstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyon alanları değerlerinin gösterimi.....	76
Şekil 30. Gruplara göre interstisyel alandaki konjesyon alanları değerlerinin gösterimi	78
Şekil 31. Gruplara göre nekroz alanları değerlerinin gösterimi	79
Şekil 32. Gruplara göre bowman boşluğunun genişlemesi değerlerinin gösterimi	81

ÖZET

Deneyisel Miyoglobünürik Akut Böbrek Yetmezliği Modelinde Kenevir Tohumu Yağının (Cannabis Sativa Seed Oil) Olası Etkileri

Tokmak D. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Doktora Programı Doktora Tezi, Aydın, 2025

Amaç: *Canabis sativa* ve çeşitli kısımlarının antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler gösterdiği geçmiş çalışmalarda bildirilmiştir. Bu çalışmada da (*Canabis sativa*) kenevir tohumu yağının, sıçanlarda Deneyisel Myoglobünürik Akut Böbrek Hasarı (MABH) modeli üzerine etkilerini incelemek amaçlandı.

Metod: Deney için 260-370 g ağırlığında 12 haftalık Wistar Albino erkek sıçan, randomize 6 grupta 10'ar adet olmak üzere 60 tane sıçan kullanıldı. Böbrek hasarı, çalışmanın yedinci gününde sham grubu hariç diğer gruplara %50'lik hipertonic gliserolün (8 ml/kg/gün), sıçanların her iki arka bacağına eşit olarak intramuskular enjeksiyonla oluşturuldu. Sham grubuna, intramuskular salin 8 ml/kg/gün uygulandı ve salin uygulamasından 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan distile su verildi. Deneklerin gliserol ve salin uygulamasından 24 saat önce besin ve su erişimi engellendi. Gliserol grubuna, gliserol uygulamasından 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan 3 ml/kg/gün miktar distile su verildi. G+KCS3 ve G+KCS6 grupları: Kısa süreli düşük doz ve yüksek doz tedavi gruplarında ratlara çalışmanın yedinci günü gliserol uygulandı. Gliserol uygulamasından 1, 24 ve 48 saat sonra oral gavaj ile 3ml /kg/gün- 6 ml/kg/gün dozunda kenevir tohumu yağı verildi. G+UCS3 ve G+UCS6 gruplarında 10 gün boyunca oral gavaj ile 3ml/kg/gün-6 ml/kg/gün dozunda kenevir tohumu yağı uygulandı. Çalışmanın yedinci gününde gliserol uygulamasından 1, 24, 48 saat sonra 3 ml/kg/gün- 6 ml/kg/gün kenevir tohumu yağı uygulamasına devam edildi. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanların serbest diyet ve su alımı sağlandı. Gliserol uygulandıktan 72 saat sonra kan ve doku örnekleri alınarak çalışmanın onuncu gününde hayvanlar kurban edildi. Kurban edilen ratlarda böbrek fonksiyon testleri kanda (BUN, Kreatinin), böbrek dokusunda MDA, MPO, CAT, SOD, GSH, TNF- α , IL-1 β , IL-6, HIF-1 α ve kaspaz-3 biyokimyasal parametreleri çalışıldı. Ayrıca böbrek dokusu histopatolojik değerlendirmede böbrek hasar derecesi değerlendirildi.

Bulgular: Biyokimyasal analizler sonucunda, tedavi gruplarında kan kreatinin, BUN, doku MDA, MPO, HIF-1 α , caspase-3, TNF- α , IL-6 ve IL-1 β düzeylerinin gliserol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azaldığı; GSH ve CAT düzeylerinin ise arttığı saptanmıştır (p<0,001). Histopatolojik incelemelerde de nekroz, konjesyon, mononükleer infiltrasyon ve bowman kapsül genişlemesinde tüm tedavi gruplarında belirgin iyileşmeler gözlenmiş olup sham grubuna en yakın doku örnekleri G+ UCS6 grubunda saptandı.

Sonuç: Kenevir tohumu yağının oral kullanımının, olasılıkla antioksidan, anti inflamatuvar, anti apoptotik özellikleri sebebiyle, sıçanlarda gliserolle indüklenen Akut böbrek hasarındaki biyokimyasal ve histopatolojik bulguları tersine çevirdiğini söyleyebiliriz. Çalışmamız bulguları ışığında; insanlarda da kenevir tohumu yağının oral kullanımının miyoglobinin akut böbrek hasarında biyokimyasal ve histopatolojik sonuçları olumlu yönde değiştirebileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Akut böbrek hasarı, kenevir tohumu yağı, rabdomiyoliz, inflamasyon, antioksidan, apoptoz

ABSTRACT

POSSIBLE EFFECTS OF HEMP (*Cannabis Sativa*) SEED OIL IN EXPERIMENTAL MODEL OF MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL FAILURE

Tokmak D. Adnan Menderes University, The Institute of Health Sciences, Department of Physiology (Medicine) Doctoral Thesis, Aydın, 2025

Objective: Previous studies have reported that *Cannabis sativa* and its various parts exhibit antioxidant and anti-inflammatory properties. This study aimed to investigate the effects of hemp seed oil (*Cannabis sativa*) on the experimental myoglobinuric acute kidney injury (MABH) model in rats.

Method: For the experiment, 60 male Wistar Albino rats weighing 260-370 g and aged 12 weeks were used, with 10 rats in each of 6 randomised groups. Kidney damage was induced on the seventh day of the study by administering 50% hypertonic glycerol (8 ml/kg/day) intramuscularly to both hind legs of the rats in all groups except the sham group. The sham group received intramuscular saline at 8 ml/kg/day, and distilled water was administered orally 1, 24, and 48 hours after saline administration. Food and water access was restricted 24 hours prior to glycerol and saline administration. The (glycerol) group received 3 ml/kg of distilled water orally 1, 24, and 48 hours after glycerol administration. Glycerol+KCS3 and Glycerol+KCS6 groups: In the short-term low-dose and high-dose treatment groups, glycerol was administered to the rats on the seventh day of the study. Oral gavage with hemp seed oil at a dose of 3 ml/kg/day to 6 ml/kg/day was administered 1, 24, and 48 hours after glycerol administration. In the Glycerol+UCS3 and Glycerol+UCS6 groups, hemp seed oil was administered orally via gavage at a dose of 3 ml/kg/day–6 ml/kg/day for 10 days. On the seventh day of the study, hemp seed oil administration at a dose of 3 ml/kg/day–6 ml/kg/day was continued 1, 24, and 48 hours after glycerol administration. After the first glycerol injection, the animals were allowed free access to food and water. Blood and tissue samples were collected 72 hours after glycerol administration, and the animals were sacrificed. In the sacrificed rats, renal function tests were performed on blood (BUN, creatinine) and renal tissue MDA, MPO, CAT, SOD, GSH, TNF- α , IL-1 β , IL-6, HIF-1 α , and caspase-3 biochemical parameters. In addition, the degree of renal damage was evaluated in the renal tissue histopathological evaluation.

Results: In this study, the effects of oral administration of *Cannabis sativa* (hemp) seed oil at different doses and durations were evaluated in a glycerol-induced myoglobinuric acute kidney injury (MABH) model. Biochemical analysis revealed that creatinine, BUN, MDA, MPO, HIF-1 α , caspase-3, TNF- α , IL-6, and IL-1 β levels were significantly reduced in the treatment groups compared to the glycerol group, while GSH and CAT levels were increased ($p<0.001$). Histopathological examinations also revealed significant improvements in necrosis, congestion, mononuclear infiltration, and Bowman's capsule expansion in all treatment groups, with tissue samples from the glycerol+UCS6 group being the closest to those from the sham group.

Conclusion: We can conclude that oral administration of hemp seed oil reverses the biochemical and histopathological findings of glycerol-induced acute kidney injury in rats, likely due to its antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic properties. Based on the findings of our study, we believe that oral administration of hemp seed oil may also positively alter the biochemical and histopathological outcomes in a myoglobinuric acute kidney injury model in humans

Keywords: Acute kidney injury, hemp seed oil, rhabdomyolysis, inflammation, antioxidant, apoptosis

1. GİRİŞ

Akut böbrek hasarı (ABH) glomerüler filtrasyon hızının saatler veya günler içerisinde ani azalmasına bağlı ortaya çıkan nitrojenli toksik atık madde birikimi, sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinde bozukluklar ile karakterize bir tablodur (Belloma ve diğerleri,2012). Sıklığı hastanede yatan hastalarda %5-20'ye, yoğun bakım ünitesinde takip edilenlerde ise %30-50'ye kadar yükselebilmektedir ve yüksek mortalite oranları ile ilişkilidir (Hoste ve diğerleri, 2015). Akut böbrek hasarının birçok sebebi olmakla birlikte en sık görülen sebepleri arasında sepsis, crush (ezilme), rabdomiyoliz, cerrahi operasyonlar, kardiyojenik şok, hipovolemi, ilaçlarla ilgili komplikasyonlar, hepatorenal sendrom, obstrüktif üropati sayılabilir (Murugan ve Kellum, 2011). Crush (ezilme) sendromu, travmaya bağlı rabdomiyoliz sonucunda ortaya çıkan, medikal ve cerrahi komplikasyona zemin hazırlayan ve travmanın doğrudan etkisinden sonra depremlerde ikinci sırada ölüme yol açan sistemik bir hastalıktır (Long ve diğerleri, 2023).

Rabdomiyoliz, travmaya bağlı ya da travma dışı nedenlerle (örneğin yoğun fiziksel egzersiz, bazı ilaçlar veya enfeksiyonlar) kas dokusunun hasara uğraması sonucu ortaya çıkan klinik bir tablodur. Rabdomiyolizin en önemli komplikasyonlarından biri akut böbrek hasarı (ABH) olup, olguların yaklaşık %10–40'ında bu durum gelişmektedir. ABH bulunmayan rabdomiyoliz hastalarında mortalite oranı %20 civarındayken, ABH gelişenlerde bu oran %60'a kadar çıkmaktadır (Reis ve diğerleri, 2019). Rabdomiyoliz, hücre hasarına bağlı olarak miyoglobinin böbreklerde toksik etkiler oluşturmasıyla miyoglobinin akut böbrek hasarına yol açar. Bu süreçte vazokonstriksiyon, hipovolemi, oksidatif stres ve tübül tıkanıklıkları akut tübüler nekroza neden olur. (Holt ve Moore, 2000; Apaydın, 2002; Boutaud ve Roberts, 2011; Cabral ve diğerleri, 2020; Baeza-Trinidad, 2022).

Rabdomiyolize bağlı miyoglobinin akut böbrek hasarını (MABH) araştırmak amacıyla en yaygın kullanılan deneysel hayvan modeli, sıçanların arka bacak kaslarına intramüsküler yolla %50 hipertonic gliserolün (8–10 ml/kg) enjekte edilmesidir. Bu model, insanlarda görülen rabdomiyoliz kaynaklı ABH'nin patofizyolojik mekanizmalarını yansıtması açısından önemli bir deneysel yaklaşımdır (Akimau ve diğerleri, 2005).

Serbest oksijen radikalleri (SOR), renal iskemi sonrası gelişen akut böbrek hasarının (ABH) patogeneğinde önemli rol oynar. SOR'lar lipid peroksidasyonunu başlatarak malondialdehit (MDA) gibi yan ürünlerin oluşmasına neden olur (Özcan ve diğerleri, 2015; Su ve diğerleri,

2019). Ayrıca miyeloperoksidaz (MPO) enzimi, inflamasyonu ve reperfüzyon hasarını gösteren önemli bir biyobelirteçtir (Rao ve diğerleri, 2010; Karataş ve diğerleri, 2018; Çanakçı ve diğerleri, 2022). Akut böbrek hasarının (ABH) patogeneğinde oksidatif stres ve inflamatuvar süreçlerin birlikte rol oynadığı, bu nedenle antioksidan savunma sistemleri (SOD, CAT, GSH) ile proinflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-6) düzeylerinin değerlendirilmesinin önemli olduğu bildirilmektedir (Apte ve Voronov, 2002; Fernández-Fúnez ve diğerleri, 2003; Grivennikov ve Karin, 2008; Dalkılıç ve diğerleri, 2012; Aslankoç ve diğerleri, 2019).

HIF-1, hipoksiye yanıt olarak aktive olan ve oksijen dengesini düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. HIF-1 α alt birimi oksijen düzeyine bağlı olarak kontrol edilir. Hipoksi ve inflamatuvar sitokinler HIF-1 ifadesini artırarak çeşitli hastalık süreçlerine katkı sağlar (Hu ve diğerleri, 2003; Rabie ve Marti, 2008; Chen ve Manley, 2009).

Apoptoz, inflamasyon olmadan gerçekleşen programlanmış hücre ölümü olup, kaspaz-3 hem bu süreçte hem de inflamatuvar piroptozda rol oynar (Wang ve diğerleri, 2017).

Kenevir tohumu (*Canabis sativa*) yağı çeşitli terpenleri ihtiva etmektedir. Yapısındaki bu terpenler yağa antienflamatuvar, antialerjik ve sitoprotektif özellikler kazandırmaktadır (Tambe ve diğerleri, 1996). Kenevir tohumu yağı tokoferoller olarak da bilinen E vitamini türevleri açısından da zengindir. Bu da yağın antioksidan kapasitesini artırmaktadır. Vitamin E lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu bir serbest radikal temizleyicisidir (Leizer ve diğerleri, 2000; Girgih ve diğerleri, 2014).

Mevcut literatür incelendiğinde, miyoglobinin akut böbrek hasarı (MABH) modelinde *Cannabis sativa* (kenevir) tohumu yağına ilişkin herhangi bir deneysel çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, kenevir tohumu yağının farklı doz ve uygulama sürelerinde MABH üzerindeki potansiyel antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Elde edilecek veriler ile rabdomiyolize bağlı böbrek iskemisi sonucu gelişen akut böbrek hasarının patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması ve bu doğrultuda kenevir tohumu yağı temelli yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine bilimsel katkı sağlanması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY), glomerüler filtrasyon hızında ani azalma ile toksik atık ürünlerinin kanda birikmesi sonucu ortaya çıkar. Günümüzde “akut böbrek hasarı” (ABH) terimi daha yaygın kullanılmaktadır. ABH’nin mortalitesi yoğun bakım ünitelerinde hâlen %50-80 arasında değişmektedir (Belloma ve diğerleri, 2012; Yavuz ve diğerleri, 2017; Dursun, 2019). Nüfusun yaşlanması ve kronik hastalıkların artması nedeniyle ABH vakaları giderek artmaktadır (Mercado ve diğerleri, 2019). Hastaların çoğunda böbrek fonksiyonu düzelebilir ancak bazı durumlarda kronik böbrek yetmezliği ve çoklu organ yetmezliği gelişebilir. Etkili korunma ve tedavi yöntemlerinin eksikliği, ABH alanında araştırmaların önemini artırmaktadır (Wu ve diğerleri, 2017).

Akut böbrek hasarına (ABH) bağlı mortalite ve çoklu organ yetmezliği riski, hastalığın şiddetiyle doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu nedenle, ABH’nin tanımlanması ve şiddetinin derecelendirilmesi klinik yönetim açısından büyük önem taşımaktadır. ABH’yi sınıflandırmak amacıyla sırasıyla RIFLE (2004), AKIN (2007) ve KDIGO (2012) kriterleri geliştirilmiştir. Bu sınıflandırmalar, serum kreatinin düzeyleri ve idrar çıkışı gibi parametrelere dayanmaktadır. Günümüzde en yaygın kullanılan sistem KDIGO sınıflamasıdır (Celebi ve Arikan, 2019; Roy ve Devarajan, 2020).

RIFLE sınıflandırması risk, hasarlanma, kayıptan oluşan 3 hasarlanma seviyesi ve 2 tane de hasarlanma sonrası böbreğin son durumunu gösteren sonuç kısaltmalarından oluşur.

Tablo 1. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: RIFLE Kriterleri (McDaniel ve Bentley, 2015'den uyarlanmıştır).

RIFLE	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Çıkış Miktarı
R (Risk)	Serum Kreatinin düzeyinde 1.5 kat artış veya GFH'de > %25 azalma	6 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
I (Injury: Yaralanma)	Serum Kreatinin düzeyinde 2 kat artış veya GFH'de > %50 azalma	12 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
F (Failure: Yetersizlik)	Serum Kreatinin düzeyinde 3 kat artış veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 4 mg/dl (en az 0.5 mg/dl akut artış) veya GFH'de > %75 azalma	24 saat süreyle idrar çıkışı < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat süreyle anüri
L (Loss: Kayıp)	4 haftadır kalıcı böbrek yetmezliği olması	
E (End-stage renal disease: Son dönem böbrek yetmezliği)	3 aydan daha fazladır böbrek yetmezliği olması	

AKIN sınıflaması, akut böbrek hasarını (ABH) serum kreatinin artışı ve idrar çıkışındaki azalmaya göre üç aşamada tanımlar. RIFLE sınıflamasının aksine kayıp ve son dönem böbrek hastalığı evreleri AKIN'da yer almaz. ABH, kreatinin değerinde 0,3 mg/dl veya %50'den fazla artış ya da 6 saat boyunca 0,5 ml/kg altında idrar çıkışı ile teşhis edilir. Renal replasman tedavisi uygulanan hastalar diğer belirteçlere bakılmaksızın Evre 3 olarak kabul edilir. Himmelfarb ve diğerleri, 2008; Celebi ve Arıkan, 2019; Roy ve Devarajan, 2020).

Tablo 2. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: AKIN (Acute Kidney Injury Network) Kriterleri (McDaniel ve Bentley, 2015'den uyarlanmıştır)

AKIN	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Çıkış Miktarı
AKIN 1	Serum Kreatinin düzeyinde 1,5-2 kat artış veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 0.3 mg/dl	6 saat süreyle idrar çıkışı < 0,5 ml/kg/saat
AKIN 2	Serum Kreatinin düzeyinde 2-3 kat artış	12 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat

AKIN 3	Serum Kreatinin düzeyinde 3 kat artış veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 4 mg/dl (akut artış ≥ 0.5 ml/dl) veya Renal replasman tedavisi başlanması	24 saat süreyle idrar çıkışı < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat süreyle anüri
--------	--	--

Tablo 3. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) Kriterleri

KIDIGO	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Çıkış Miktarı
KIDIGO 1	Bazal serum Kreatinin düzeyinde 1.5-1.9 kat artışı veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 0.3 mg/dl artışı	6 -12 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
KIDIGO 2	Bazal serum Kreatinin düzeyinde 2.0-2.9 kat artışı	12 saat veya daha uzun süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
KIDIGO 3	Bazal serum Kreatinin düzeyinde 3 kat artışı veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 4 mg/dl olması veya Renal Replasman Tedavi ihtiyacı (Serum kreatininden bağımsız) 18 yaşından küçük hastalarda, GFH'de azalma	24 saat veya daha uzun süreyle idrar çıkışı < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat veya daha uzun süreyle anüri

Yapılan bir araştırmada KDIGO'nun kendisinden önce kullanılan RIFLE ve AKI evreleme sistemlerinin eksikliklerinden doğduğu için daha geçerli olduğu ve yeni klinik bilimsel çalışmalarda da KIDIGO sınıflandırmasının daha çok tercih edildiği kabul edilmiştir. (Bayrakçı ve diğerleri, 2022).

2.2. Risk Faktörleri

Major cerrahiler (kalp cerrahisi, karın içi organ ameliyatları), yaşlılık, sepsis, yanık, hipovolemi/şok, nefrotoksik ilaçlar (sispilatin, gentamisin...vb) tetkik amaçlı kontrast ajanların uygulanması, zehirli bitki ve hayvanlar, siyah ırk, cinsiyet (kadın), önceden var olan sistemik hastalıklar; diyabet, kronik böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği, karaciğer yetmezliği vb. risk faktörlerinin bilinmesi önemlidir (Rahman ve diğerleri,2012; Kellum ve Lameire, 2013).

2.3. Epidemiyoloji

Hastanede yatan hastalar arasında özellikle akut hastalığa sahip ve büyük cerrahi operasyon geçirmiş hastalarda ABH'nin insidansı artış göstermektedir. Bu artış günümüzde ABH konusunda artan farkındalık, veri kayıtlarının daha düzenli olmasına, tanısında tutarlı kriterler ve ABH evreleme şemalarının daha gelişmiş olmasına bağlanabilir (Rewa ve Bagshaw, 2014). Toplumdaki yaşlı nüfus ve kronik hastalıklardaki artış ABH tanılmasında ki artışı da beraberinde getirmektedir (Mercado ve diğerleri, 2019). Her yıl 13 milyondan fazla kişi ABH'den etkilenmektedir ve bu vakaların %85'i gelişmekte olan ülkelerde meydana gelmektedir (Korla ve diğerleri, 2024).

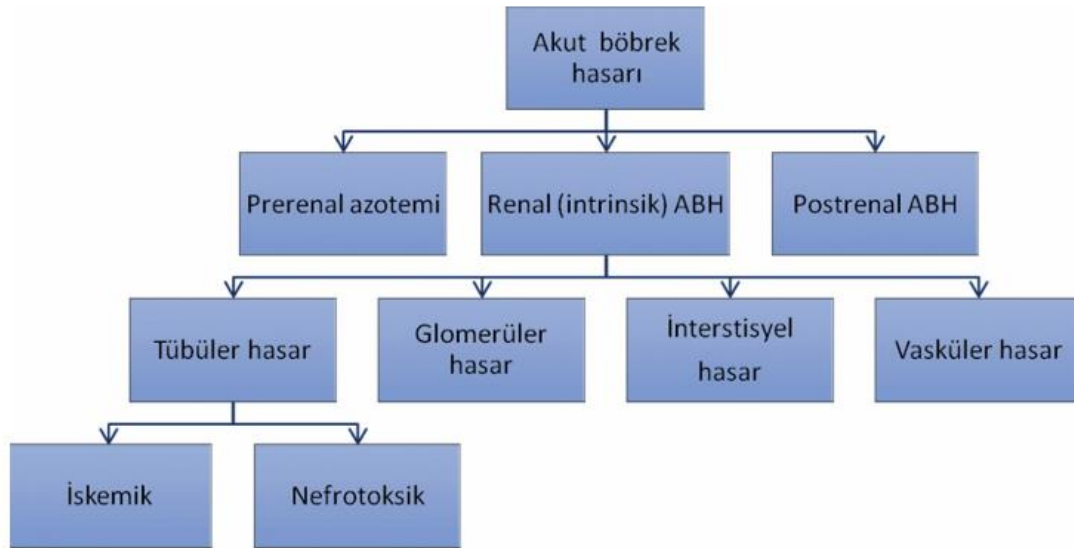
2.4. Etyoloji

ABH'nın nedenleri, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında büyük değişkenlik göstermektedir. ABH'ye, gelişmekte olan ülkelerin şehirleşmiş bölgelerinde hastane kaynaklı hastalıklar (sepsis, renal iskemik ve nefrotoksik ajanlar), kırsal kesimde ise daha sıklıkla toplum kaynaklı hastalıklar (sıtma, diyare, dehidratasyon, bulaşıcı hastalıklar, hayvan zehirleri sebep olmaktadır (Makris ve Spanou , 2016).

Akut böbrek hasarı etiyojisinde yer alan nedenler patofizyolojik mekanizmalar esas alınarak 3 ana kategoride sınıflandırılmaktadır: 1-Prerenal ABH (azotemi), 2-Renal (intrinsik) ABH, 3- Postrenal (obstrüktif) ABH. Aslında, bunlardan sadece intrinsik ABH'da gerçek parankimal böbrek hasarı bulunmaktadır, prerenal ve postrenal ABH'da genellikle glomerüler filtrasyon hızında azalmaya neden olan ekstra-renal sorunlar söz konusudur. Prerenal veya postrenal sorunların düzeltilemeyerek devam etmesi hücrel hasar oluşturarak intrinsik böbrek hastalığına neden olabilir (Clarkson ve diğerleri, 2007).

Tablo 4. ABH'nin Etiyolojisi (Mercado ve diğerleri, 2019'den uyarlanmıştır).

Prerenal ABH (Böbrek perfüzyonunun azalması)	Renal ABH (Böbreğin kendisinin hasarı)	Postrenal ABH (İdrar atılımında obstrüksiyon)
İntravasküler volüm kaybı • Sepsis • Kanama • Aşırı diürez • Kusma • Diyare Efektif kan hacminde azalma • Kalp yetmezliği • Karaciğer yetmezliği • Hepatorenal sendrom Nefrotik sendrom İlaça bağlı böbrek kanlanması bozulması • ACE inhibitörleri • NSAİ ilaçlar	Akut Tübüler Nekroz • İskemi • Toksinler ve İlaçlar • Radyolojik kontrast madde Glomerüler Hastalıklar • RPGN • Pulmoner-renal sendrom Vasküler Hastalıklar • HSP ateroemboli • TTP • HELLP • Postpartum ABY İnterstisyel Hastalıklar	Bening Prostat Hipertrofisi Prostat kanseri Pelvik kitle Nörojenik mesane Üretral tıkanıklık Bilateral üreter taşı



Şekil 1. Akut böbrek hasarının sınıflandırması (Dursun, 2021).

2.5. Prerenal Akut Böbrek Hasarı

Böbrek perfüzyonunu bozan durumlara ikincil gelişir. Doku hasarı yoktur, fonksiyonel bir bozukluktur. Hipoperfüzyonun giderilmesiyle klinik tablo hızla düzelir. Hipoperfüzyonun uzaması durumunda, iskemik doku hasarı gelişir ve tablo artık intrinsik akut böbrek hasarı (iskemik akut tübüler nekroz-hasar) olarak adlandırılır. Prerenal akut böbrek hasarı, toplumda gelişen akut böbrek hasarı olgularının %40-80'ini oluştururken, hastanede gelişen ABH'nin

yaklaşık %40'ından sorumludur (Haseley ve Jefferson, 2019). Kardiyak debinin %25'i böbrekler den geçmektedir, dolayısıyla sistemik dolaşımda oluşabilecek bir yetersizlik doğrudan böbrekleri etkileyebilir, ayrıca izole olarak intrarenal kan dolaşımını bozan durumlarda da renal perfüzyon bozulabilir (Basile ve Anderson, 2012). Böbreğin prerenal ABH sebeplerine normal yanıtı, intravasküler hacmi korumak/arttırmak, renal perfüzyonu normal seviyeye getirmek için idrarı maksimum düzeyde yoğunlaştırmak ve sodyum absorpsiyonunu artırmaktır. Genel olarak böbrek fonksiyonlarının hızlı bir şekilde düzelebilmesi için böbrek perfüzyonunu hızla düzeltmeyi amaçlayan tedaviler sayesinde gerçekleşir (Basile ve Anderson, 2012).

2.6. Post-renal ABH:

Tüm akut böbrek hasarının %5'ini oluşturan postrenal ABH, İdrar akımında ani olarak azalmaya neden olan, renal pelvisden, üretral meatusa kadar tüm üriner trase boyunca idrar akışını engelleyen nedenlere bağlı olarak gelişebilir (Fry ve Farrington, 2006). Üriner trasedeki tıkanıklık durumunda, idrar üretiminin sürmesi sonucunda, üriner lümenlerde hidrostatik basınç artar. Üriner lümenlerde hidrostatik basınç yükselmesiyle beraber Bowman aralığındaki basınç artar ve toplayıcı sistemler genişlemeye (hidronefroz) başlar. Bowman aralığındaki basıncının artmasıyla filtrasyon basıncı azalır ve bunun sonucunda da GFR düşmeye başlar. Basınç artışı filtrasyon basıncını aşarsa, glomerüler filtrasyon sıfırlanır. Başlangıçta tablo fonksiyoneldir ve idrar akışının sağlanmasıyla, renal fonksiyonlar hızla düzelir. Bununla beraber sürecin uzamasıyla kalıcı renal parenkimal hasarlanma gelişir ve bu durumda böbrek hasarı kronikleşir. Her iki böbrek sağlam olduğunda, ABH gelişebilmesi için, her iki böbrek idrar akışının engellenmesi gerekir. Tek böbreğin varlığında veya fonksiyonel olması durumunda, sağlam böbrekte tıkanıklık olması ABH gelişimi için yeterlidir. Postrenal ABH'nin en sık etiyolojisi mesane boynu obstrüksiyonudur (Goyal ve diğerleri, 2020)

2.7. Renal (İntrinsik) Akut Böbrek Hasarı

ABH vakalarının %25'ini oluşturan renal parankim hasarı sonucu gelişir. İntrinsik ABH'nin en sık nedeni akut tübüler nekrozdur (ATN). İntrinsik akut böbrek hasarı gelişiminde temel iki faktör iskemi ve toksin maruziyetidir. İskemi, tübüler hasara sıklıkla düşük perfüzyon durumunda iskemik akut tübüler nekroz ve öncesinde prerenal azotemi söz

konusudur. İskemik ABH’de, hem yetersiz GFH, hem de parankim hücrelerinde (glomerüller, tübüller, interstisyum ve vasküler yapılar) yetersiz perfüzyon vardır. Bu durum, genellikle, septik şok, dehidratasyon, gibi uzamış hipotansiyon ve hipoksemi hallerinde görülmektedir. Major cerrahi operasyonlarda da anestezi ajan kullanımı nedeniyle vazodilatasyon ile uzamış hipotansiyon görülebilir (Carmichael, 2003, Tanrıverdi, 2010; Basile ve Anderson, 2012, Dursun, 2019). Toksik nedenlere bağlı ATN endojen ve eksojen nefrotoksinlere ikincil gelişebilir (Dursun, 2019).

Akut böbrek hasarına glomerüler hasar kaynaklı vasküler yapının akut inflamasyonu (akut postinfeksiyöz glomerülonefritis) veya sistemik bir hastalık (lupus nefrit, IgA nefropatisi) neden olmaktadır (Rahman ve diğerleri, 2012).

Akut interstisyel nefrit (AİN), genellikle ilaçlara karşı gelişen alerjik reaksiyonun bir sonucu olmakla birlikte, otoimmün hastalıklar, infeksiyonlar ve infiltratif hastalıklardan kaynaklanabilmektedir (Horoz ve Özgür, 2004). AİN, hem renal tübülleri hem de interstitiumu etkileyebilir. Glomerüller ve damarlar, etkilenmedikleri için normal görünümündedir (McDaniel ve Bentley, 2015).

İntrarenal damarların hasarlanması ile oluşan ABH, böbrek perfüzyonun azalması sonucu GFH ‘nin düşmesine neden olur (Basile ve diğerleri, 2012). ABH’ye sebep olabilen böbrek damarsal bozuklukları arasında ana renal arterlerin stenozu ve abdominal aorta hastalığı, vaskülit, malign hipertansiyon, skleroderma, trombotik trombositopenik purpura/hemolitik üremik sendrom, (DIC) yaygın damar içi pıhtılaşma ve renal venöz tromboz bulunur (Awdishu ve Wu, 2017).

2.8. Crush Sendromu ve Rabdomiyoliz

Dünya genelinde her yıl milyonlarca insan doğal veya insan kaynaklı afetlerden etkilenmektedir. Yaklaşık 800 milyon kişi deprem riski taşıyan bölgelerde yaşamaktadır. Artan şehirleşme bu riski daha da artırmakta; İstanbul, Meksiko, Tahran ve Tokyo gibi büyük şehirler yüksek sismik risk altında bulunmaktadır (Bilham, 1988, McKenna, 2011; Insarag, 2011; Bartels ve VanRooyen, 2012; Sever ve diğerleri, 2012; Long ve diğerleri, 2023). Felaketin başlangıçtaki büyüklüğü, felaketten etkilenen nüfus yoğunluğu, günün saati, yapı standartları, topluluk ve bireysel hazırlık ve acil durum müdahalesi, felaketin kapsamını ve ciddiyetini belirler. (Bartels ve VanRooyen, 2012; McKenna, 2011). Şiddetli depremler büyük yaralanmalara ve ölümlere neden olabilir ve ölümlerin çoğunluğu depremden hemen sonra büyük travma ve sıkışmadan kaynaklanır ve (crush) ezilme yaralanması ve ezilme

sendromu gelişmesi riski vardır (Michaelson, 1992; Bilham, 1988; Bartels ve VanRooyen, 2012; Sever ve diğerleri, 2012). Ezilme yaralanması, vücuda dışarıdan gelen bir kuvvetten kaynaklanan doğrudan fiziksel travmayla meydana gelir (Michaelson 1992; Oda ve diğerleri, 1997; Sever ve diğerleri, 2012). Ezilme sendromu, disritmiler, rabdomiyoliz, akut böbrek hasarı (ABH) ve sepsis gibi komplikasyonlara yol açan kas ve uzak organ hasarının ciddi sistemik bir tezahürüdür (Care, 2019).

Türkiye'de Kahramanmaraş'ta 6 Şubat 2023'te, Richter ölçeğine göre 7,7 ve 7,6 şiddetinde iki büyük deprem, 9 saat arayla meydana gelen ve on bir ilin etkilendiği depremde 57,000'den fazla ölüm, 120,000'den fazla yaralanma meydana geldiği bildirilmektedir (Abbasi ve diğerleri, 2023; Hussain ve diğerleri, 2023; Akın ve Yılmaz, 2024). Önceki felaketlerden elde edilen veriler, depremlerde mahsur kalan mağdurların yaklaşık %80'inin ciddi yaralanmalar nedeniyle hızla öldüğünü, %10'unun ezilme yaralanmaları yaşadığını ve %10'unun hafif travma yaşadığını göstermektedir (Long, 2023). Doğal afetler (özellikle de depremler) hem dünyada, hem de ülkemizde oldukça sık olmasının yanısıra enkaz altında kalanlarda ortaya çıkan travmatik rabdomiyoliz ve bunun yol açtığı ezilme sendromu depremlerde (travmatik ani ölümden sonra) en sık ikinci ölüm sebebidir; uygun şekilde tedavi edilmez ise mortalite riski yüksektir. Crush sendromu (CS), crush yaralanmaları olan hastaların %40-70'inde görülür (Sever ve diğerleri, 2012; Gibney ve diğerleri, 2014).

CS'ye, hipovolemi, hemodinamik bozulma, hiperfosfatemi, metabolik asidoz, oligüri, miyoglobüri, elektrolit bozuklukları (özellikle hiperkalemi), hipovolemik şok, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği, enfeksiyonlar, kompartman sendromu ve kanama dahil olmak üzere tıbbi ve cerrahi komplikasyonlar eşlik edebilir (Gonzalez, 2005). CS'ye bağlı Akut Böbrek Hasarı (ABH), diğer etiyolojilere bağlı ABH'den daha karmaşıktır. CS'nin ana laboratuvar göstergesi hiperkalemidir. Normal serum seviyesi 3,5-5 mEq/L olan potasyum (K), rabdomiyolizden sonra 6 mEq/L'nin üzerine çıkar ve bunun neden olduğu aritmi ve kalp yetmezliği, CS'ye bağlı en yaygın ölüm nedenlerinden biridir (Sever ve diğerleri, 2001). Ezilme yaralanmalarında, kasların uzun süre sıkışması perfüzyon kaybına neden olur ve bu durum rabdomiyolize yol açar. Kas hücrelerinden salınan toksik maddeler, kurtarma sonrası reperfüzyonla sistemik dolaşıma girerek organ hasarına neden olabilir (Gonzalez, 2005). Mağdur kurtarıldıktan hemen sonra başlayan reperfüzyon, kas hücresi yıkımından sonra salınan ve diğer organlar için toksik etkileri olan içeriklerin sistemik dolaşıma girmesine yol açar. Bu aşamadan sonra ezilme (crush) hasarı crush sendromuna CS'ye dönüşür (Better ve diğerleri, 1990). CS'li hastaların çoğu ABH'e sahiptir, ancak salınan toksik moleküllerin etkisinin çoklu organ hasarına yol açabileceği ve bunun da mortaliteyi artırdığı

düşünülmektedir (Slater ve Mullins, 1998). Genel olarak, (Kreatin kinaz) CK'nın üst sınırın beş katı veya daha fazla artması, miyoglobinin idrar rengi (kahverengi, kola rengi) ve kasla ilgili semptomların (ağrı, güçsüzlük vb.) varlığı RM'yi gösterir (Gupta ve diğerleri, 2021).

Deprem sonrası yapılan çeşitli çalışmalarda rabdomiyoliz ve ezilme sendromu (CS) insidansının değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Marmara Depremi'nde ezilme sendromlu çocukların %35'inde ABH gelişmiştir (Atef ve diğerleri, 1994). Çin ve Japonya'daki büyük depremlerde CS oranları %2-6 arasında değişirken, ABH gelişme oranı ise yüksek bulunmuştur. Türkiye'de 2023 Kahramanmaraş depreminde ise ezilme yaralanması olan hastaların %3'ünde ABH gelişmiş ve %1,6'sı diyaliz tedavisi almıştır. Türkiye'nin deprem riski yüksek bir ülke olması nedeniyle, rabdomiyoliz kaynaklı ABH'nin erken tanısı ve tedavisi hayati önemdedir (Zhi-Yong, 1987; Sever ve diğerleri, 2001 Hussain ve diğerleri, 2023).

Rabdomiyoliz (RML), kas hücrelerinin mekanik strese maruz kalmasıyla hücre zarı hasarına, hipoksi ve ATP tükenmesine ve oksidatif serbest radikal üretimi gibi hücreyi yıkıma götüren süreçleri başlatır. (Chavez ve diğerleri, 2016; Samuel ve diğerleri, 2021).

Bu durum, miyofibrillerin kalıcı kasılmasına ve hücre ölümüne neden olan bir inflamatuvar kaskada yol açar. Yaralı kaslarda birkaç gün içinde 10-12 litreye kadar sıvıyı tecrit ederek kompartıman sendromu gelişebilir (Zager, 1996; Gonzale, 2005). Yaklaşık 100 g kas dokusunun yıkımı RML'yi indükleyebilir (Hendgen ve diğerleri, 2010; Sever ve diğerleri, 2023). Hücre içi metabolitler (potasyum, fosfatlar ve ürat) ve hücre içi proteinler (miyoglobin, kreatin kinaz (CK), aldolaz, laktat dehidrogenaz, aspartat aminotransferaz ve nükleik asitler) hücre dışı boşluğa ve dolaşıma salınır. Plazmaya aşırı miktarda miyoglobin salınması, bağlayıcı proteinlerin (esas olarak haptoglobin) kapasitesini aşar. Miyoglobin daha sonra glomerülden süzülerek tübüler hasara neden olur. Rabdomiyolizdeki ABH'nin patofizyolojisinin vazokonstriksiyon, hipovolemi, direkt miyoglobin toksisitesi ve intraluminal kast oluşumu dahil olmak üzere çok faktörlü olması muhtemeldir (Grupta ve diğerleri, 2021). Miyoglobin, tübüler hücrelerde lokal oksidatif stresin artırılması yoluyla direkt sitotoksik etki gösterebilir. (Hendgen ve diğerleri, 2010; Petejova ve Martinek, 2014). Ürik asidin yüksek üretim ve idrarla atılma oranları, ürik asit kastları tarafından tübüler tıkanıklığa daha fazla katkıda bulunur. Bu kastların çökmesi asidik idrarda artar. İntratübüler miyoglobinin bozunmasından salınan serbest demir, serbest radikal üretimini katalize eder ve iskemik hasarı daha da artırır (Zager, 1996; Holt ve Moore, 2000; Boutaud

ve Roberts, 2011). Yapılan bir çalışma, RML sırasında nekrotik kas hücrelerinden salınan hem aktiveli trombositlerin ABH'yi desteklediğini göstermiştir (Okubo ve diğerleri, 2018). Alkali koşullar, reaktif feril-miyoglobin kompleksini stabilize ederek bu etkiyi önlemektedir (Vanholder, 2000).

Yaygın intravasküler koagülasyon (DIC) ve renal arteriollerde konstriksiyon da meydana gelebilir (Bosch ve diğerleri, 2009; Elsayed, ve Reilly, 2010). Geçici prerenal faz, erken tedavi edilmezse, neredeyse her zaman akut tübüler nekrozdan kaynaklanan kalıcı ABH'ye ilerler (Elsaaedy ve diğerleri, 2023). RML'nin klinik sunumunda geniş bir çeşitlilik vardır. Semptomların 'klasik' üçlüsü kas ağrısı (%23 hasta), güçsüzlük (%12 hasta) ve koyu renkli idrar (çay renginde, hastaların %10'u) içerir (Cervellin ve diğerleri, 2010; Stahl ve ark , 2020).

2.9. Miyoglobinin Akut Böbrek Hasarı (MABH)

Miyoglobin; omurgalıların kas dokusunda bulunan, hemoglobin gibi oksijenin vücutta taşınmasında görev alan ve demir ile oksijen bağlayıcı özelliği olan önemli proteinlerden biridir. Miyoglobinin oksijen bağlama yeteneği hemoglobine göre daha yüksektir. Bu özelliği sayesinde miyositlerin enerji elde etmesine yardımcı olur (Guerrero ve diğerleri, 2018). Miyoglobin, kan dolaşımına intravasküler hemoliz veya travmatik ya da nontravmatik rabdomiyoliz gibi patolojik durumlarda kitlesel olarak salındığında miyoglobinin gelişebilir. Miyoglobin 0.5-1.5 mg/dl seviyesine gelene kadar idrarda görülmezken 100 gr kasın yıkılması ile serum seviyesi 1.5 mg/dl'yi aşar ve miyoglobinin gelişebilir ve bu durum (MABH) miyoglobinin akut böbrek hasarına yol açabilir (Wang ve diğerleri, 2020). MABH'de mortalite oranının (vakaların % 15-40'ı) yüksek bir orana sahip olması nedeniyle hastalığı doğru zamanlama ile teşhis edip hızlı bir şekilde tedavi etmek önemlidir (Goubella ve diğerleri, 2017).

Miyoglobinin indüklediği akut böbrek hasarının patofizyolojisi birbiriyle içi içe geçmiş 3 mekanizma önem kazanmaktadır. 1- Renal vazokonstriksiyon ve iskemi 2- Distal kıvrımlı tübüllerde miyoglobin kast formasyonu ve tübüler obstrüksiyon 3- Miyoglobinin proksimal kıvrımlı tübüllerin epitel hücreleri üzerinde direkt olarak sitotoksik etkisidir.

Renal vazokonstriksiyon ve iskemi: Kas dokusunun hasarı sonucu, büyük miktarda sıvı interstisyel alana birikir ve hipovolemiye sebep olan bir “üçüncü boşluk” oluşturur. Azalan böbrek kan akımı nedeniyle sempatik sinir sistemini ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi uyarılarak vazokonstriktör moleküllerin (endotelin I, vazopressin) üretimini artırır, prostaglandinler gibi vazodilatörlerin üretimini engeller. Kas hasarı, vazokonstriksiyonu

artıran endotoksinlerin ve sitokinlerin (TNF alfa, IL 1 Beta, IL6..vb) sistemik dolaşıma salınmasına neden olur. Hasarlı kas hücreleri tarafından salınan miyogloblin, güçlü bir nitrik oksid (NO) yakalayıcısı olarak endojen vazodilatör etkili nitrik oksid miktarını azaltarak renal vazokonstriksiyonu daha da arttırır. Böbrek tübüler hücrelerine oksijen iletiminin azalması, böbrek vazokonstriksiyonunu şiddetlendirerek, böbrek iskemisine ve daha sonra ATP üretiminin düşmesine neden olur (Chatzizisisve diğerleri, 2008).

Miyoglobin kast oluşumu: Kas hasarının derecesi ne kadar büyükse serum miyoglobin düzeyi o kadar fazla olur. Bu durum böbrek glomerüllerinde filtrelenen miyoglobin miktarını arttırır. Ancak renal tübüle çok miktarda myoglobin girdiği zaman Tamm-Horsfall proteini ile etkileşir ve çöker. Asidik idrar bu olayı daha da kolaylaştırır. Özellikle distal tübülde tübüler obstrüksiyon oluşur (Sever, 2002; Chatzizisisve diğerleri, 2008).

Miyogloblinin direkt sitotoksik etkisi: Kas ve böbrek epitelyal hücrelerde hasarlanma ile ortaya çıkan reaktif oksijen ürünleri myoglobinde bulunan ferroz oksiti (Fe +2) ferrik oksite (Fe+3)'serbest demire dönüştürür. Bunun ardından miyoglobin, redoks döngüsü ile Fe+4 miyoglobin formuna dönüştürülür. Bu döngüler ile oluşan radikaller membran yağ asitlerinin lipid peroksidasyonuna sebep olur ve proteinlerin ve deoksiribonükleik asitin (DNA) değişikliklerine aracılık eden malondialdehit (MDA) sentezini indükler. Yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu güçlü vazokonstriktör olan F2-izoprostanların oluşumuna sebep olarak akut tübüler nekroz oluşumunu sağlar (Petejova ve Martinek, 2014).

2.9.1. Deneysel MABH Modelleri

Akut böbrek yetmezliğinin farklı hayvan modellerinin geliştirilmesi, özellikle klinik koşulları yakından simüle edenler, böbrek yetmezliğinin başlangıcının altında yatan patofizyolojinin anlaşılmasına büyük katkıda bulunmuştur. Böbrek yetmezliğinin etiyojisi çok yönlü olduğundan, böbrek yetmezliğinin klinik koşullarını taklit etmek için çok sayıda hayvan modeli geliştirilmiştir. Gliserol kaynaklı böbrek yetmezliği rabdomiyolizi yakından taklit eder; iskemi reperfüzyon kaynaklı ABH hemodinamik değişiklikleri taklit eder; gentamisin, sisplatin, NSAID gibi ilaç kaynaklı ABH, ilgili ilaçların klinik uygulaması nedeniyle oluşan böbrek yetmezliğini taklit eder; uranyum, potasyum dikromat kaynaklı ABH mesleki tehlikeyi taklit eder; sepsis kaynaklı ABH, enfeksiyon kaynaklı böbrek yetmezliğini ve radyokontrast kaynaklı ABH'yi, kardiyak kateterizasyon esnasında radyokontrast madde kullanımı sırasında hastalarda gelişen akut böbrek yetmezliğini taklit eder (Singh ve diğerleri, 2012). ABH çalışmalarında hiçbir modelin uluslararası geçerliliği gösterilememiş ve hiçbir

modelin ciddi ABH'li olgulardaki tabloyu tam olarak benzerlik göstermediği bildirilmiştir (Bellomo ve diğerleri, 2004).

2.9.2. Gliserol ile İndüklenen ABH

Gliserol ile indüklenen ABH miyoglobinüri, tübüler nekroz ve artmış renal vazokonstriksiyon ile karakterizedir. Gliserole bağlı böbrek yetmezliğinde rol oynayan patojenik mekanizmalar arasında iskemik hasar, miyoglobinin neden olduğu tübüler nefrotoksisite ve rabdomiyoliz sonrası yeniden salınan sitokinlerin renal etkileri yer almaktadır. Rabdomiyolize neden olduğu bilinen çok sayıda hastalık arasında intrinsik kas disfonksiyonu (travma, yanıklar, intrinsik kas hastalığı ve aşırı fiziksel efor dahil), metabolik bozukluklar, hipoksi, ilaçlar, toksinler, enfeksiyonlar, aşırı sıcaklık ve idiyopatik hastalıklar yer almaktadır (Curry ve diğerleri, 1989; Wolfert ve Oken, 1989). MABH'nin oluşum mekanizmasını incelemek için kullanılan model, sıçanda gliserolün kas içi enjeksiyonu ile elde edilir. Gliserole bağlı akut böbrek yetmezliği olan sıçanlarda renal kortekste hidrojen peroksit üretimini arttırır. Böbrek yetmezliği oluşturma için standart bir yöntemi %50 gliserol, v/v (8 ml/kg, im) intramusküler uygulamasıdır. Gerekli miktarda gliserol, her iki arka bacağa eşit olarak dağıtılan derin bir im enjeksiyon olarak uygulanır (Thiel ve diğerleri, 1967). Tek doz 8 ml/kg gliserolün kas içine uygulanması, oluşum mekanizması ve böbreğin birçok bölümünde hasar oluşturma nedeniyle, insanlardaki rabdomiyoliz kaynaklı böbrek yetmezliğini klinik olarak taklit eden en uygun hayvan modelidir (Ikeda ve diğerleri, 2006; Singh ve diğerleri, 2012).

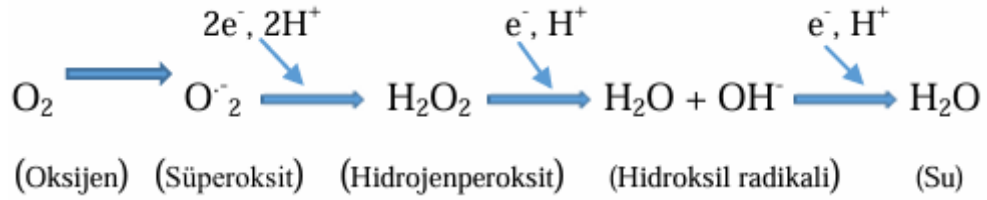
2.10. Serbest Radikaller

Oksijen yaşamın devamı için vazgeçilmez bir elementtir. Oksijen, enerji üretimi için kullanıldığında, hem reaktif oksijen türlerinin hem de reaktif nitrojen türlerinin oluşumuna sebep olmaktadır ve serbest radikaller vücudun normal oksijen kullanımı sırasında mitokondri tarafından sürekli üretilmektedir. Enerji üretimi sonucu oluşan bu serbest radikaller lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin yapısında değişiklik meydana getirebilir (Shinde ve ark., 2012). Serbest radikaller son yörüngesinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulundurdıklarından dolayı kararsız yapıdadır ve diğer maddelerle reaksiyona girerek kararlı duruma geçme eğilimindedirler (Karabulut ve Gülay, 2016). Organizmada normal fizyolojik işleyiş esnasında endojen ya da eksojen kaynaktan oluşabilen serbest radikaller tüm hücre

elemanlarıyla etkileşime girerek moleküllerin yapısını değiştirmek suretiyle radikal olmayan molekülleri de radikal hale getirebilirler (Yöntem, 2018). Normal fizyolojik koşullarda, hücrelerde sürekli oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile onlarla etkileşime geçen antioksidanlar arasında bir denge vardır. Bu dengenin ROS lehine bozulması yani hücrede süperoksit radikallerinin birikmesi ya da endojen savunma sistemlerinin yetersiz kalması oksidatif stres ve doku hasarına neden olur (Kısaoglu ve diğerleri, 2013).

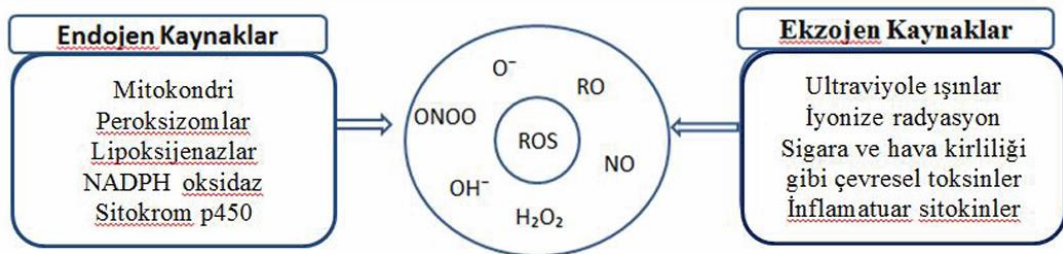
2.10.1. Reaktif Oksijen Türleri; Oluşum Mekanizması ve Fonksiyonu

Serbest radikaller, oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu oluşan kısa ömürlü ve güçlü oksidan özellikte oksijen metabolitleridir.



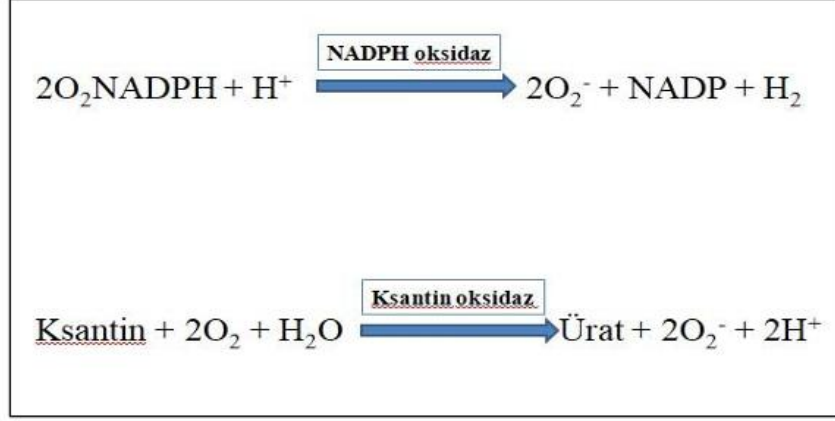
Şekil 2. Oksijenin, süperoksit ve hidroksil radikale dönüşümü (Tokmak, 2017)

Serbest oksijen radikalleri (ROS) başka bir radikalle veya radikal olmayan bir ajanla birleşir. Böylece organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkiye neden olur. Ekzojen ve endojen serbest radikallerin oluşumu engellenemez (Poljšak ve diğerleri, 2019). Hem metabolik süreçler (hücre solunum) hem de çevresel oksidanların (ilaç toksisitesi, sigara dumanı, ultraviyole radyasyon, hava kirliliği, yoğun fiziksel aktivite ve alkol gibi) etkisi ile sürekli olarak üretilir (Poljšak ve diğerleri, 2013; Sen ve diğerleri, 2010).



Şekil 3. Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) Kaynaklar (Aslankoç ve diğerleri, 2019'dan uyarlanmıştır).

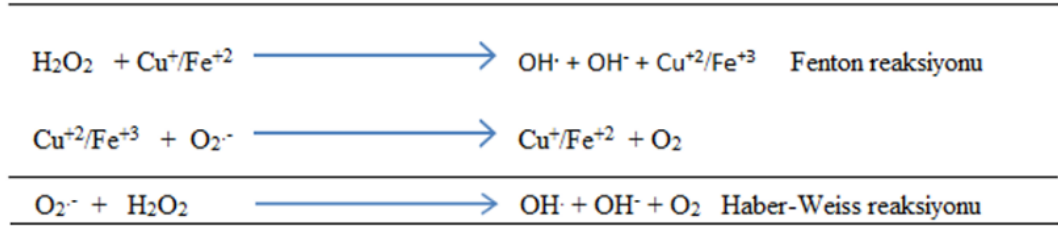
Süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), mitokondride oksijenin bir elektron almasıyla oluşan, doğrudan zararlı olmayan ancak hidrojen peroksit üretimi ve metal iyonlarını indirgeme yoluyla dolaylı olarak hücre hasarına neden olabilen bir serbest radikaldir (Cadenas ve Sies, 1998; (Kovacic ve ark., 2005; Valko ve ark., 2004; Çakır, 2012; Yöntem, 2018).



Şekil 4. Süperoksit Kaynağı Olan NADPH Oksidaz ile Ksantin Oksidaz Enzimlerinin Katalizlediği Tepkimeler.

Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına rağmen biyolojik zarları geçebilmesi, ROS üretiminde aracı rolü üstlenmesi ve hücre içi sinyal iletiminde görev alması nedeniyle önemli bir oksidandır. Vücutta antioksidan enzimlerce (katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler) etkisiz hâle getirilir (Kılınç, Kılınç, 2002 Flora, 2007).

Hidroksil radikali, biyomoleküller (amino asitler, nükleik asitler, organik asitler, fosfolipitler) ile kolayca tepkimeye girebildiği için biyolojik sistemlere diğer ROS’lardan daha fazla zarar verebilir. Şekil 5’de de gösterildiği gibi hidrojen peroksit, Fe^{+2} ve Cu^+ veya diğer geçiş elementleri (Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenerek (hidroksil) $OH^{\bullet}$ ’ye dönüştürülür. Bu reaksiyona “fenton reaksiyonu” denir. Süperoksit radikali fenton reaksiyonu ile bağlantı kurarak oluşan metal iyonlarının yeniden kullanılmasında önemli bir rol oynar. Bu iki reaksiyona “Haber-Weiss reaksiyonu” adı verilir. Geçiş metalleri böylelikle hidroksil $OH^{\bullet}$ oluşmasında önemli bir rol oynarlar (Betteridge, 2000; Halliwell, 1987; Halliwell, 1999; Lloyd ve ark., 1997; Memişoğullar, 2005).



Şekil 5. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları (Karabulut ve Gülay, 2016).

Singlet oksijen normal oksijenden çok daha hızlı olup ortaklanmamış elektronu bulunmayan oksijen molekülüdür. Hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek, lipid peroksidlerin oluşumuna neden olur. Aynı zamanda singlet oksijen miyeloperaksidaz enzimi ile hipokloröz asit oluşumunda da rol almaktadır (Caner ve diğerleri, 1997; Yöntem, 2018).

Endotel kaynaklı bir vazodilatör olan nitrik oksit $\text{NO}^\cdot$ güçlü bir serbest radikal temizleyicisidir. Hücre yapıları üzerinde koruyucu ve hem de patolojik şartlar altında toksik etkiler gösterebilir (Delibaş ve Özcanakaya, 1995; Tabakoğlu ve Durgut, 2013; Yöntem, 2018). Süperoksit radikalının varlığında, oldukça toksik bir bileşik olan peroksinitritin oluşumuna sebep olmaktadır. Peroksinitrit iskemi-reperfüzyon, sepsis, inflamasyon, ateroskleroz gibi bir çok patofizyolojik olayın patogeneğinde rol oynar. Bununla birlikte nitrik oksidin fizyolojik etkilerini ve güçlü antioksidan etkilerini değiştirerek NO 'nun biyoyararlanımını da azaltır (Tecder ve Tufan, 2001).

2.10.2. Serbest Radikallere Bağlı Oluşan Hasar

Düşük yoğunluklarda olduklarında SOR yararlı etkilerinden söz etmek mümkündür. Fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlara karşı savunma, sitotoksik lenfositler ve makrofajlar tarafından kanser hücrelerini öldürme, sitokrom p450 tarafından ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, mitokondride ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük konsantrasyonda mitojenik yanıtlara neden olma sayılabilir (Karabulut ve Gülay, 2016). Hemoglobin ve miyogloblin gibi hem içeren proteinlerle Hidrojen peroksit hem gurubundaki demir ile reaksiyona girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki ferril demir (Fe^{IV}), ve periferril demir (Fe^{V}) meydana gelmesine neden olur. Bu formdaki reaktif demir çok güçlü oksitleyici özelliği olması sebebiyle hücre zarlarında lipid peroksidasyonu zincir tepkimelerini indükleyebilir. Potansiyel oksitleyici özelliği nedeniyle organizmada oluşan Hidrojen peroksit'in zamanında

ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Serbest radikaller aşırı üretildiğinde membran lipidlerinin peroksidasyonu ile açığa çıkan aldehitlerden biri olan malondialdehit (MDA) lipid peroksidasyonu göstergesi olarak kullanılmaktadır (Valko ve diğerleri, 2007; Petejova ve Martinek, 2014; Sen and Chakraborty, 2011; Yöntem, 2018). MDA, araşidonik asidin ve daha büyük çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) enzimatik veya enzimatik olmayan yolla ayrışması sonucu oluşan son üründür. MDA'nın proteinler veya DNA gibi çoklu biyomoleküller ile reaksiyona girme kabiliyeti yüksektir. Bu nedenle yapılan çalışmalarda aşırı MDA üretimi oksidatif stresin bir göstergesi olarak hem de MDA seviyesindeki artış serbest radikal üretiminin artmasına neden olarak antioksidan aktiviteyi azaltır. Bu durum antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki dengenin bozulmasına neden olarak Alzheimer, kanser, kardiovasküler hastalıklar, diyabet, karaciğer hastalıkları ve Parkinson gibi farklı patolojik durumlarla ilişkilendirilmiştir (Del Rio ve diğerleri, 2005; Blair, 2008; Sanyal ve diğerleri, 2006; Ayala ve diğerleri, 2014). Serbest radikallerin antimikrobiyal aktivitedeki etkinliği ise nötrofil ve monositler lizozomlarında bir hem enzimi olan miyeloperoksidaz (MPO) içerirler. MPO güçlü bir oksidan kaynağı olmasının yanı sıra hipoklorik asit (HOCl) üretimini katalizler. Yüksek antibakteriyel etkili hipoklorik asit; Hidrojen peroksid'nin, (H_2O_2) miyeloperoksidaz enzimi aracılığıyla reaksiyona girmesiyle oluşur (Çavdar ve diğerleri, 1997). İnflamasyon durumunda ve reperfüzyon hasarının göstergesi olarak, dokudaki birikmiş polimorf nükleer lökositler (PNL) düzeyini tayin etmede yol gösterici bir enzimdir (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Dokularda oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki dengenin korunması patolojik süreçlerin başlamasını engellemedeki önemli yollardan birisidir.

2.10.3. Antioksidan Savunma Sistemi

Hücrede lipid, protein ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyebilen veya geciktirebilen maddelere antioksidan, bu mekanizmalara ise antioksidan savunma sistemleri olarak tanımlanır. Antioksidanlar serbest radikallere elektron transferi yaparak hücresel düzeydeki hasarı engellemektedir. Antioksidanların dört farklı mekanizması vardır. (1) Temizleme etkisi; serbest oksijen radikallerini etkileyerek onların tutulması ya da oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirmesidir. Antioksidan enzimler ve mikromoleküller bu yolla etki eder. (2) Baskılama etkisi; Oksidanlara bir hidrojen aktararak onları etkisiz hale getirme ya da etkilerinin veya reaksiyon hızlarının azaltılması. Vitaminler ve flavonoidler ise etkilerini

bu yolla gösterirler. (3) Onarma etkisi; serbest radikallerin lipiti protein ve DNA gibi yapılarda oluşturdıkları biyolojik hasarın onarılması. (4) Zincir kırıcı etkisi; serbest oksijen radikallerini bağlayarak, zincirlerini kırıp işlevlerinin engellenmesidir (Halliwell ve Gutteridge,1990).

Antioksidanların bir kısmını vücut dışarıdan diyetle alırken (enzimatik olmayan) bir kısmını kendisi hücrese düzeyde (enzimatik olarak) üretir. Vücudun serbest radikallere karşı ürettiği birinci basamak antioksidanlar (enzimatik); katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidazdır (GPx). Sağlık açısından önemli enzimatik olmayan antioksidanlar bulunmaktadır. Bunlar; A, E ve C vitaminleri, sebze, meyve, baharat, tahıllarda yaygın olarak bulunan fenolik maddeler, resveratrol ile kuersetin ve kateşin gibi flavonoidlerdir. Normal fizyolojik koşullarda bu antioksidanların hücre içi seviyeleri ve aktiviteleri arasında denge vardır (Pham ve diğerleri, 2008).

Süperoksit dismutaz (SOD), ROS ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli enzimatik antioksidan savunma sistemidir. SOD bir süperoksit radikalini O₂ molekülüne yükseltgeyip, diğer bir süperoksit radikalini ise daha az reaktif bir molekül olan hidrojen perokside (H₂O₂) indirgenmesini katalize eder. (Ighodaro ve Akinloye, 2018; Aslankoç ve diğerleri, 2019). SOD'un katalizlediği tepkime sonunda oluşan hidrojen peroksid birikimi katalaz (CAT) tarafından engellenmektedir (Süleyman ve diğerleri, 2018).



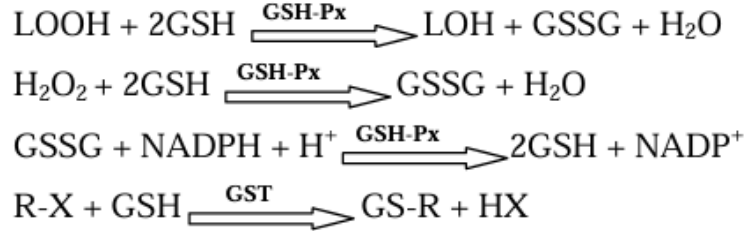
Şekil 6. Süperoksit dismutasyon reaksiyonu (Karabulut ve Gülay, 2016).

Katalaz (CAT) enzimi temel olarak peroksizomlarda bulunur. Mitokondriden sitozole geçen hidrojen peroksid'in (H₂O₂) detoksifikasyonu peroksizomlar tarafından sentezlenen CAT enzimi tarafından gerçekleştirilir. Saniyeler içerisinde H₂O₂'yi moleküler oksijen ve suya katalizasyonu ile hidroksil radikali oluşumunu önleyen oldukça güçlü bir antioksidan enzimdir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranlarda en yüksek oranda, destek dokularda ise en düşük seviyede bulunur. Bununla birlikte endoplazmik retikulum ve sitozolde de aktivite göstermektedir (Aebi, 1984; Süleyman ve diğerleri, 2018). Katalaz enziminin aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksit miktarının artması ile birlikte doğru orantılı olarak artmaktadır.



Şekil 7. Katalaz (CAT) enzimi temel olarak peroksizomlarda bulunur (Karabulut ve Gülay, 2016).

Glutatyon peroksidaz GPx, mitokondride veya bazen de stoplazmada bulunan ve hidrojen peroksidi (H_2O_2) selenyumunda etkisiyle suya parçalayarak lipid peroksidasyon sürecini inhibisyonuyla ROS hasarına karşı koruyucu etki gösteren önemli bir antioksidan enzimdir (Ighodaro ve Akinloye, 2018). Bu tepkime sırasında glutatyon (GSH) kullanılmaktadır. Lipid peroksitleri veya hidrojen peroksit, okside glutatyon (GSSG) ve suya (H_2O) dönüştürülmektedir. GSSG ise glutayon redüktaz (GSH-Rx) enzimi ile tekrar indirgenmiş glutatyona dönüştürülmektedir. Glutatyon -S transferaz (GST) ise sülfidril içeriği sayesinde toksik maddeleri bağlayarak hidrofilik forma kavuşmalarını sağlamak suretiyle atılımlarını arttırmaktadır (Masella ve ark., 2007). Oksidatif stres düzeyi, GSH/GSSG oranı ile ölçülebilir (Kasapçopur ve Birdane, 2014).



Şekil 8. Glutatyon peroksidaz, redüktaz ve -S transferaz (Orak, 2021).

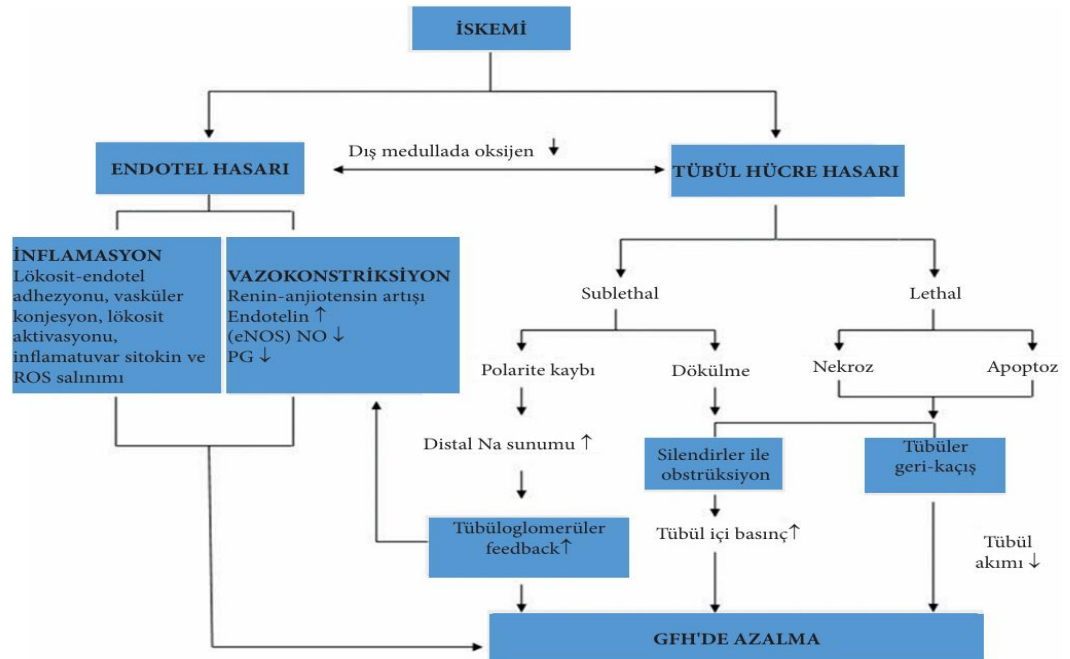
Her üç enzimin de kofaktörü olan glutatyon (GSH), antioksidan savunma mekanizmasının önemli hücre içi enzimatik olmayan antioksidanıdır. Glutamat, sistein ve glisin aminoasitleri kullanılarak sentezlenerek peroksidasyon ve redüksiyon tepkimelerinde elektron verici olarak kullanılmaktadır (Ross, 1988).

GSH'nin, lipid peroksitler, hidrojen peroksit, askorbik asit ve serbest radikalleri indirgeyerek, eritrositlerle lökositlerin korunmasında, organların transplantasyonlarında koruma ve sitotoksik ilaç hasarlarının önlenmesindeki görevi çok önemlidir (Kasapçopur ve Birdane, 2014).

2.11.İskemik Akut Böbrek Hasarında Fizyopatolojik Süreçlerde Rol Alan Mekanizmalar

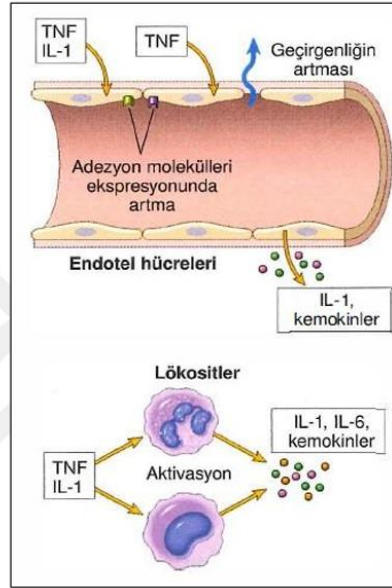
2.11.1. Endotel Hasarı İnflamasyon ve immünolojik faktörler:

İskemik böbrekte mikrosirkülasyonun etkilenmesiyle nitrik oksit, ROS ve oksijen üretimi arasındaki hassas denge bozularak hipoksi ve oksidatif strese neden olur. Endotelial nitrik oksit (eNOS) üretiminin düşmesi vazodilatör cevabın azalması ve belirgin intra-renal vazokonstriksiyon ile sonuçlanır. Mikrovasküler endotel hücre hasarı sonucu kapiller geçirgenlik artışıyla interstisyel alana sıvı geçişi ve ödem meydana gelir. Aktive olan endotel hücre yüzeyinden ekprese edilen adhezyon molekülleri (ör. ICAM-1) ile proinflamatuvar sitokin (TNF alfa ve IL-1, IL-6 gibi) salınımı ve inflamatuvar hücrelerin (nötrofil, monositler) ve trombositlerin alana toplanması ile gerçekleşir. Mikrovasküler alanda konjesyon sonucu lökosit-endotel etkileşiminin artması, inflamatuvar hücrelerin eklenmesi ve mikrotrombüs oluşumu, mikrovasküler sirkülasyonu ve tübül yapılarına oksijen sunumunu daha da düşürerek hücre harabiyeti şiddetlendirir (Basile ve diğerleri, 2012).



eNOS: Endotelial nitrik oksit sentetaz, NO: Nitrik oksit, PG: Prostaglandin, ROS: (reactive oxygen species) Reaktif oksijen ürünleri

Şekil 9. İskemik akut böbrek hasarının fizyopatolojisinde rol oynayan temel mekanizmalar (Dursun ve diğerleri, 2021).



Şekil 10. TNF Alfa ve IL1, IL6, Başta Olmak Üzere Mediyatörlerin Akut İnflamasyondaki Rolü (Molitoris, 2015).

İskemik böbrek hasarında inflamasyon ve lökosit infiltrasyonu, endotelial ve tübüler hücre hasarının temel nedenlerindendir. Doğal bağışıklık sistemi TLR-2 ve TLR-4 reseptörleriyle aktive olurken, kompleman sistemi (özellikle C5a, C3a, C5b-9) inflamasyonu artırır. Dendritik hücreler hem sitokin üretimiyle hem de T ve B hücrelerini aktive ederek bağışıklık yanıtına katkı sağlar. Erken dönemde lökositler adhezyon molekülleri yoluyla dokuya geçer ve proinflamatuvar sitokinler (TNF, IL-6, IL-8, TGF- β vb.) salınır. Nötrofillerin ROS ve proteaz salarak hasarı artırdığı; nötrofil inhibisyonunun ise hasarı azalttığı gösterilmiştir (Basile ve diğerleri, 2012; Arınsoy ve diğerleri, 2017).

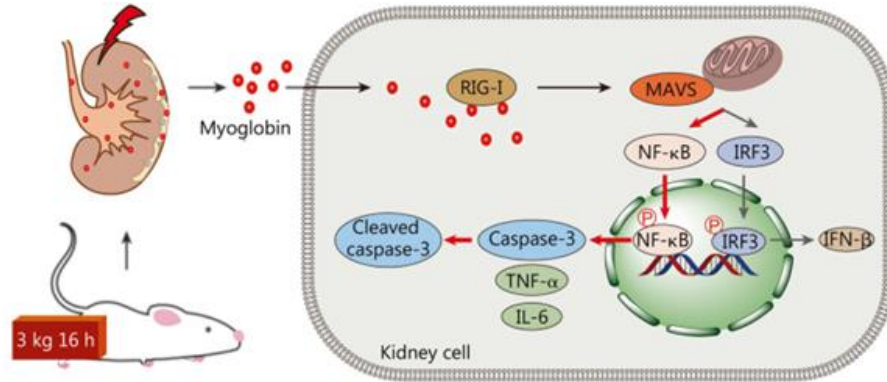
2.11.2. Hücre ölümü (apoptoz ve nekroz)

İskemik hasar önemli derecede olduğunda “apoptoz veya nekroz” şeklinde lethal hücre hasarı gelişmektedir (Edelstein, Schrier, 2005; Sharfuddin ve Molitoris, 2011). Temel olarak az sayıda tübüler hücrede lethal düzeyde hücre ölümü meydana gelmektedir ve nekrozdaki ziyade apoptoz şeklinde görülmektedir. Apoptoz ATP-bağımlı, planlı bir hücre ölümüdür, nükleer ve sitoplazmik materyalin yoğunlaştırılmış hale gelerek apoptotik cisimcikler haline dönüşmesi ile karakterizedir ve belirgin bir inflamatuvar yanıt oluşturmaz. Membrana bağlı apoptotik cisimcikler makrofaj veya komşu epitelyal hücreler tarafından hızla fagosite edilir. Apoptoz kompleks bir mekanizmadır. İntrasellüler sistein proteazların bir ailesi olan kaspazlar inflamasyon ve apoptotik hücre ölümünde kritik rol oynarlar (Dursun ve diğerleri,

2006). Nekroz ise hücre şişmesi, membran bütünlüğünün bozulması ve şiddetli inflamasyonla karakterizedir (Bonventre ve Yang, 2011).

Apoptoz sürecinde, kaspazlar iki ana yolla aktive olur: ekstrinsik ölüm reseptörü yolu ve intrinsik mitokondriyal yol. Her iki yol da kaspaz-3'ü etkinleştirerek hücre ölümünü başlatır; bu yüzden kaspaz-3 apoptozda kritik bir rol oynar. Mitokondri hasarı, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin artışı kaspaz 1 ve 3'ün aktivasyonunu tetikler. Kaspaz inhibitörleri böbrek hasarını azaltabilir. Kanser tedavisinde kemoterapötik ilaçlar apoptoz yoluyla etki gösterirken, kaspaz aktivitesinin engellenmesi apoptozun gerçekleşmesini zorlaştırabilir (Özel ve Birdane, 2014; Choudhary ve diğerleri 2015; Mohamed ve diğerleri, 2017; Kayacan ve diğerleri, 2018, Nagata 2018; Jan, 2019).

Yapılan bir çalışmada crush yaralanmasıyla oluşturulan akut böbrek hasarı (ABH) deneysel modelinde miyoglobinin yeni bir DAMP (Damage associated molecular pattern), sensörü (miyoglobini tanıyan) olan retinoik asitle indüklenebilir gen-I (RIG-1), NF- κ B/ kaspaz 3 sinyalini aktive edebildiği bildirilmiştir. Myoglobin kaynaklı RIG-1/NF- κ B/ kaspaz 3 eksenli sinyal yolu aktivasyonu crush yaralanmasıyla veya rabdomiyoliz nefrotoksitesinin gelişmesine katkıda bulunur. Miyoglobinin apoptozla ilişkili proteinler NF- κ B ve kaspaz 3 seviyelerini yükselttiğini göstermiştir (Wang ve diğerleri, 2021).



Şekil 11. CS-ABH da yeni RIG-I sinyal yolunun şematik çizimi (Wang ve diğerleri, 2021).

HIF-1, insan genomundaki genlerin %2'sinden fazlasını doğrudan veya dolaylı olarak düzenleyen oksijen duyarlı ana bir transkripsiyon faktörüdür. Hücre hayatta kalması, enerji metabolizması, tümör yayılımı gibi pek çok süreçte rol oynar. Hipoksi, HIF-1 ekspresyonunun başlıca düzenleyicisidir, ancak aşırı aktivasyonu başka mekanizmalarla da

tetiklenebilir. Kanserlerde (kolon, meme, akciğer vb.) HIF-1 alfa yüksek düzeyde bulunur ve tedavi stratejilerinde biyobelirteç olarak kullanılabilir (Bruick ve Knight, 2001; Chen ve diğerleri, 2001; Conway ve diğerleri, 2001).

HIF-1 alfa, oksijen dengesinin sağlanmasında önemli bir rol oynayan ve eritropoez, demir ile glukoz metabolizması gibi süreçleri düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Ayrıca hücre çoğalması ve apoptozisi kontrol eder. Böbrek hasarında yalnızca hipoksiye adaptasyonu değil, aynı zamanda inflamasyon, epitel-mezenkimal geçiş ve hücre dışı matriks birikimi gibi profibrotik süreçlerle de ilişkili olduğu gösterilmiştir (Agarwal ve Nick, 2000, Warnecke ve ark 2004, Schietke ve diğerleri, 2010; Moore ve Bellomo 2011; Scholz ve diğerleri, 2013; Sandoel ve Hengartner, 2014; Liu ve diğerleri, 2019). HIF-1 α , böbrekte hipoksiyle artan bir faktördür ve apoptozla birlikte inflamatuvar mediatörlerin (IL-1 β , TNF- α) salınımını artırarak inflamasyon ve fibrozise neden olur. Böbrek parankimindeki düşük oksijen gerilimi diğer organlara göre daha düşüktür., damar yapılarının paralel dizilimine bağlı şant mekanizmasıyla açıklanabilir (Zhang ve Edwards, 2002). Bu dizilim, oksijenin şant yoluyla arterlerden venlere geçmesine izin verir ve böbreğe giden kan akışının bozulması durumunda böbreğin medullar bölgesinin hipoksiye yatkın olmasına neden olur. Anemi, kronik böbrek yetmezliğinde sık görülür ve böbrekte hipoksiye yol açar. Bu durum eritropoetin (EPO) eksikliği ve demir yetersizliğiyle ilişkilidir. Böbrek, oksijen sensörü olarak EPO üretimini düzenler. Şiddetli hipoksizde EPO üretimi HIF-1 α aracılığıyla 1000 kata kadar artırır (Wang ve diğerleri, 1995). HIF-1 α inhibitörleri, yalnızca EPO üretimini artırmakla kalmaz, aynı zamanda demir metabolizmasını da düzenleyerek anemiyi iyileştirir. EPO eksikliği, kronik böbrek yetmezliğinde aneminin ana nedenidir ve bu durum böbrek hasarını hızlandırır. Ayrıca, HIF-1 α 'nın aktive ettiği bazı genler hipertansiyona bağlı damar ve böbrek hasarlarında rol oynar (Ratcliffe ve diğerleri, 1998; Atmaca ve Oğuz, 2019). Renin anjiyotensin sisteminin blokajı peritübüler kılcal damarlara giden kan akışını korur. Böbrek hastalıklarında anjiyotensin II'nin artışı nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADPH) oksidasyonunu uyararak renal oksidatif stresi artırır. Bu, tübüler hücrelerde oksijenin etkili kullanımını engeller. Artan oksidatif stres ürünleri nitrik oksit (NO) azalmasına yol açar. Azaltılmış NO'nun mitokondriyal solunumu uyararak enerji tüketimini iki kat artırdığını ve doku hipoksisine yol açtığı görülmüştür. (Adler ve Huang, 2002; Welch ve diğerleri, 2005). Hipoksiye ek olarak, HIF-1 α büyüme faktörleri, asetilkolin ve anjiyotensin II gibi diğer faktörler tarafından da aktive edilebilir (Zheng ve diğerleri, 2021)

2.12. Kenevir

Ülkemizde esrar olarak da bilinen ‘kenevir’ ‘kendir’ veya ‘esrarotu’ yaygın olarak İngilizce’de ‘cannabis’ ya da ‘hemp’ olarak da bilinen; Cannabinaceae familyasına ait tek yıllık, otsu, dioik, çiçekli bir bitkidir (Yıldırım ve Çalışkan, 2020). Cannabis türlerinin genel adı olmakla birlikte bu cinsin en bilinen türü Cannabis sativadır. C. indica ve C. Ruderalis cinsin diğer türlerdir. C. sativa en yaygın olarak kültürü yapılan, yağ ve lif üretiminde esas olarak kullanılan türüdür. (McPartland, 2018). Kenevirin 3500 yıl önce Anadolu’da, 6000 yıl öncesinde ise Çin’de tarımı yapılmaktaydı ve tohumları gıda olarak kullanılmaktaydı (Gizlenci ve diğerleri, 2019). Tarımı narkotik ve tıbbi özelliklerinden daha çok liflerinden tekstil ve kağıt ürünleri elde etmek amacıyla yapılmıştır. Bitkinin psikoaktif özellikte olduğu da çok eski zamanlardan bilinmektedir. Dünyanın en eski farmakopesi olarak kabul edilen Çin İmparatoru Shen-Nung tarafın dan bastırılan pen-ts’ao da, kenevirin psikoaktif özelliklerinden bahsedilmiş, tıbbi olarak romatizma ağrılarına, sıtmaya ve gastrointestinal sistem rahatsızlıklarının tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (Zuardi, 2006; Mehmedic ve diğerleri, 2010; Gizlenci ve diğerleri, 2019). Günümüzde kenevir tohumları, Çin tıbbında halen laksatif etkilerinden dolayı kullanılmaktadır, bazı genotipleri tohumlarının yüksek yağ verimi, %90’a varan çoklu doymamış esansiyel yağ asidi içeriği sebebiyle yetiştirilmektedir (Zuardi, 2006; Chen ve diğerleri, 2010).

Kenevirin içinde 537 molekül tanımlanmış olup, kannabinoidler olarak da tanımlanan, bazıları farmositik ve psikoaktif etkili moleküllerin sayısı 109 tanedir (Mehmedic ve diğerleri, 2010). Psikoaktif olarak kullanımının diğer kullanım amaçlarından ön plana çıkması, faydalı etkilerinin göz ardı edilmesine neden olmuştur. 1930’lu yıllarda önce (ABD) Amerika Birleşik Devletleri’nde, daha sonra başta Almanya olmak üzere Avrupa’nın pek çok ülkesinde kenevir ekimi, psikoaktif içerik delta-9-tetrahidrokannabinol (Δ -9-THC) yüzünden yasaklanmıştır. II. Dünya savaşında Amerikan ordusunda çadır ihtiyacı ortaya çıkınca, ABD’de askeri malzemelerinin üretiminde kullanmak üzere yasak kaldırılmış, kenevir ekimine yeniden başlanmıştır (Bouloc ve diğerleri, 2013). Fakat bu çelişkili uygulamalar, endüstriyel amaçlı (fiber tip) yetiştirilecek kenevir türlerini, belirlemek için bir yöntem geliştirmeyi gerektirmiştir. Bu amaçla ilk olarak 1968’de kenevir genotiplerini tanımlamak için bir formül geliştirmiştir (Grlice, 1968). Psikoaktif özellikli Δ 9-tetrahidrokannabinol (THC) ve THC’nin bozulma ürünü kannabinol (CBN) toplamının psikoaktif özelliği olmayan kannabidiol’e (CBD) bölünmesi ile elde edilen değer 1 den büyükse bu kenevir, uyuşturucu özellikli olup

endüstriyel tip kenevir değildir. Değer 1 den küçükse endüstriyel tip (fiber tip) olarak belirlenmiştir. Kenevir tipi= (THC+CBN)/CBD

Avrupa Birliği ülkeleri de dahil olmak üzere pek çok ülke de uyuşturucu özelliği olan ve olmayan türleri belirlemede yeni bir sınıflandırma kullanılmıştır (Turner ve diğerleri, 1980). Turner üç çeşit kimyasal içeriğe göre bu sınıflandırmayı gerçekleştirmiştir. 1) Drog tip (esrar): Bu yüksek miktarda THC > %1 içermesine karşın, CBD içermez bu tip narkotik olarak da sınıflandırılabilir. Meksika, Afganistan, Hindistan, Jamaika gibi sıcak iklimlerde yetişir.

2) Orta düzey de drog tip: Bu türünde THC > %0.5 ve CBD > %0.5 miktarlarının ikisi de yüksektir. Orta doğuda yaygındır (Lübnan, Fas). 3) Fiber tip (endüstriyel kenevir, lif ve yağ üretimi) : Düşük THC < %0.25 fakat yüksek CBD > % 0.5 - 2.5 miktarı vardır. Ilıman iklimlerde yetişir (Göger, 2021). 1996 yılından bu yana, Avrupa birliği ülkelerinde THC miktarı % 0.2 den düşük olan Fiber tiplerin endüstriyel amaçlı ekimine izin verilmektedir (Kriese ve diğerleri, 2004). 1980 yılında ülkemizde 14 bin ton kenevir lifi ve 5 bin ton kenevir tohumu üretilirken 2014 yılında bu sayı 1 ton kenevir lifi ve 1 ton kenevir tohumu seviyelerine kadar inmiştir. 2016 yılında yapılan düzenlemeler ile kenevir ekimi teşvik edilmiş ve üretimi tekrar artmaya başlamıştır (Göger, 2021). 19 ilde, ekimine izin verilmiştir. Bu illerin çoğu Karadeniz Bölgesi'nde yer almaktadır. Bunun nedeni, daha çok lif amaçlı bir üretim tarzının düşünülmesidir. Çok eski bir kültüre sahip olan kenevirin çok yönlü kullanılabilmesi nedeniyle; bitki, üzerinde bilimsel çalışmaların yapılmasını gerekliliğini ortaya koymuştur. Endüstriyel kenevirde psiko-aktif (uyuşturucu) madde oranı, eser miktardadır. Kenevirin yasal kullanım alanlarının artırılabilmesi için; kanun, tebliğ ve yönetmeliklerin güncellenmesine ihtiyaç vardır (Aytaç, 2019).



Şekil 12. 29 Eylül 2016 Tarih ve 29842 Sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan 2016 ‘da düzenlenen yönetmeliğe göre kenevirin üretim izni haritası (Aytaç, 2019).

2.12.1. Kenevirin Genel Kullanım Alanları

Kenevir, tüm bölümlerinden faydalanabilen ve çok farklı alanlarda ekonomik değere sahip, hemen hemen tüm kullanım alanlarında üstünlükleri söz konusu olan değerli ve ender bir bitkidir (Gönen, 2009).

- 1. İnşaat Sektörü:** Çatı ve duvar malzemesi yapımında lif ve mineral karışımının ağırlık, dayanıklılık ve kalite kriterlerinde beton kullanımına oranla daha avantajlı olduğu belirlenmiştir. Üstelik ortam sıcaklığının izolasyonu ve nem tutma oranı açısından en sağlıklı düzeyde olduğu gözlenmiştir. Tüm bu yapıların geri dönüşüme elverişli olması ve çevre kirliliğine sebep olmaması keneviri üstün kılan diğer özellikleridir. Avusturalya ve Fransa başı çekmektedir. (Gönen, 2009; Aytaç ve diğerleri, 2017).
- 2. Tekstil ve Kağıt:** Lignoselülozik lifleri en kaliteli lifler arasındadır ve aynı zamanda antibakteriyel özelliğe sahiptir (Hao ve diğerleri, 2014; Khan ve diğerleri, 2015). Kenevir antibakteriyel özelliği sayesinde cerrahi malzeme ve tekstil ürünleri üretimine oldukça elverişlidir (Cassano ve diğerleri, 2013; Gu, 2016). Çağımızda kâğıt sektörü ağaçların kullanımına bağımlı haldedir. Yapılan çalışmalarda belli bir alandaki kenevir topluluğundan aynı orandaki orman alanından dört kat fazla selüloz elde edilebildiği bildirilmiştir.
- 3. Biyopolimer sektörü:** Günümüzden yaklaşık 70-80 yıl kadar önce kenevir lif ve saplarından biyopolimer üretilmiş ve araba kaportasında kullanılmıştır. Petrolden elde edilen polimerlerin daha ucuz olmasından dolayı biyopolimerler daha geri planda kaldıysa da petrol türevi polimerlerin ve plastiklerin çevre kirliliğine neden olmasıyla atık olarak doğadan temizlenme sürelerinin çok uzun olması sebebiyle son yıllarda biyopolimerler yeniden önem kazanmıştır.
- 4. İlaç sektörü:** Günümüzde kenevir ekim alanlarının artmasında en önemli orana sahip sektördür. Özellikle İsrail, Kanada ve Çin gibi ülkeler kenevirden ilaç üretimi araştırmalarına öncelik vermektedirler.

Yaklaşık 3000 yıl önce yazılan Asur tabletlerinden ve Eski Yunan ve Roma dönemlerinde kenevirin yaygın bir şekilde ilaç olarak kullanıldığı özellikle ağrı kesmek ve duygu durumunu iyileştirmek amacıyla kullanıldığından bahsedilmiştir (Epstein, 2010). Kenevir aynı zamanda

de iyi bilinen ve ilaç olarak kullanılan bir bitki olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu döneme ait veriler incelendiğinde kenevirin. Romalı bir hekim olan Galen, medikal keneviri reçete eden hekimlerdendir ve Romalı aristokratların akşam yemeğini kenevir içeren bir tatlıyla sonlandırdıklarını notlarına ilave etmiştir (Butrica, 2002). İbn-i Sina El-Kanun Fi't-Tıb adlı eserinde, yüksek ateşi düşürmek amacıyla kaynatılmış kenevir köküyle yapılan kompresin kullanıldığı bilgisi yer almaktadır (İbn Sina, 1143). Medikal amaçlarla kenevir kullanımının önce Arabistan, sonrasında da tüm Ortadoğu'ya yayılması dokuzuncu yüzyıl olduğu bilinmektedir (Ulugöl, 2018).

1542'de yazılan bitkisel tedavileri içeren Alman bir botanist ve hekim olan Leonhart Fuchs kitabında suda kaynatılarak problemli bölgeye sarılan kenevir kökünün gut hastalığına iyi geldiğini belirtmiştir (Ryz ve diğerleri, 2017). Portekizli hekimler Garcia da Orta ve Cristobal Acosta kenevirin öforik, sedatif, iştah açıcı, halüsinojenik ve afrodizyak etkilerinden bahsetmişlerdir (Lee, 2012). Amerikan Farmakopesinde 1850-1942 yılları arasında yer alan Kenevir bitkisi kullanımı bu dönemlerde doruk noktaya ulaşmışken, 1930'lardan itibaren ise düşüşe geçmiş ve tıbbi kullanımı azalmış cannabis ismi yerine çok tehlikeli olduğuna dair bir algı yaratan marihuana adı kullanılmaya başlanmıştır (Yıldırım ve Çalışkan, 2020). Kenevir ile ilgili bilimsel çalışmalara bu olumsuz gelişmelere rağmen devam edilmiştir. Kenevirde öforik etkiden sorumlu olan içeriği tetrahidrokannabinol'ün (tetrahydrocannabinol-THC) kimyasal yapısı bulunmuştur (Gaoni ve Mechoulam, 1964). 1988 ve 1993 yıllarında sırasıyla CB1 reseptörü ve CB2 reseptörü keşfedilmiş, sonrasında anandamid, 2-araşidonil gliserol, vb endokannabinoidler ile bunları sentezleyen ve degrade eden enzimler (FAAH ve MGL) keşfedilmiştir (Dewane ve diğerleri, 1988; Munro ve diğerleri, 1993). Bu keşifler ve gelişmeler sonucu kenevirin kullanımına yönelik motivasyon artışına neden olmuştur. Sonunda 1996 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde kenevir kullanılmasını serbest bırakacak eyalet yasası çıkarılmıştır. Günümüzde ABD'de 29 farklı eyalette kenevir kullanımı kanunlara uygundur. Birçok Avrupa ülkesinde de medikal kenevirin kullanımı ile ilgili kanunlar çıkarılmıştır (Yıldırım ve Çalışkan, 2020).

2.12.2. Kenevirin Fitokimyasal İçeriği ve Etkileri

Kenevir sekonder metabolit açısından oldukça zengin bir bitkidir. Kenevirin spesifik bir çok etkilerinin kannabinoid türü bileşiklerin sorumlu olması sebebiyle araştırmalar da özellikle bu bileşikler üzerinden yürümektedir. Fitokannabinoidler bitkilerde bulunan ve vücuttaki CB1

(kannabinoit reseptörü 1) ile CB2 (kannabinoit reseptörü 2) reseptörlerine bağlanıp değişik farmakolojik etkiler ortaya çıkaran, ikincil metabolit grubudur (Yıldırım ve Çalışkan, 2020).

Kimyasal grup	Bileşik sayısı
Δ^9 - tetrahidrokannabinol (THC)	18
Δ^8 - tetrahidrokannabinol	2
Kannabigerol (CBG)	17
Kannabikromen (CBC)	8
Kannabidiol (CBD)	8
Kannabinodiol	2
Kannabielsoin	5
Kannabisiklol	3
Kannabinol	10
Kannabitriol	9
Diğerleri	22
Toplam	104

Şekil 13. Kenevirdeki fitokannabinoitlerin sınıflandırılması (Yıldırım ve Çalışkan, 2020).

2.12.3. Fitokannabinoitler

Cannabigerol- (CBG) CBG açısından yoğun ekstreleriyle yapılan çalışmalarında, iştah artırıcı etkisi görülmüştür. Bununla birlikte sedatif, analjezik ve spazmolitik etkileri de saptanmıştır (Izzo ve diğerleri, 2009; Brierley ve diğerleri, 2017; Smeriglio ve diğerleri, 2018).

Cannabichromene-(CBC) CB1 reseptörleri üzerinde etki göstermediği bilinmektedir (Russo ve diğerleri, 2008; De Petrocellis ve diğerleri, 2008). CBC'nin antienflamatuvar özellikleri yapısında barındırdığı belirtilmektedir (Romano ve diğerleri, 2013).

Kannabidiol (Cannabidiol-CBD): Kannabidiol'ün kimyasal yapısı Tetrahydrocannabinol'el (Δ^9 -THC) benzemekle birlikte, onun gibi güçlü CB1 reseptörlerine bağlanma özelliği yoktur. Araştırmalar CBD'nin; antikonvülsan, antispazmodik, anksiyolitik, antiemetik, antiromatizmal ve nöroprotektif özelliklere sahip olduğunu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Pertwee, 2008; Laun ve diğerleri, 2019).

Tetrahidrokannabinol (Tetrahydrocannabinol-THC): Bu gruba dahil olan Δ^8 -THC ve cis- Δ^9 -THC gibi farklı türevleri de olmakla birlikte trans- Δ^9 -THC kenevirdeki psikoaktif

etkiden sorumlu olan asıl bileşiktir. $\Delta 9$ -THC hem psikoaktif etkiyi ortaya çıkaran CB1 ve hem de immünolojik ve antienflamatuvar etkileri ortaya çıkaran CB2 reseptörlerine bağlanabilme özelliğine sahiptir (Pertwee, 2008). Kanser kemoterapisine eşlik eden bulantı ve kusmaların tedavisinde kullanılan Dronabinol ve Nabilon, $\Delta 9$ -THC'nin sentetik türevlerini içermektedir (Jakubovski ve Müller-Vahl, 2017; Abi-Jaoude ve diğerleri, 2017).

B) Terpenoitler

Fitokannabinoitler haricinde kenevirin çiçeklerinde ve yapraklarında bol miktarda terpen türevi bileşikler sentezlenmektedir ve salgılanan reçinenin %10'u da terpenoitlerden oluşmaktadır (Booth, ve diğerleri, 2017). Kenevirde 200'den çok terpen türevi bileşik olduğu varsayılmaktadır terpenler bitkiye kokusunu kazandıran bileşiklerdir. Limonen, mirsen ve pinen en yaygın bulunan ve yüksek uçuculuğa sahip olan terpenlerdir. Tıpkı fitokannabinoitler gibi terpenoitlerin de bitkiyi böceklerden ve otçullardan koruma işlevleri bulunmaktadır ve bu işlevini bitkideki fitokannabinoitlerle sinerjistik etki göstererek yaparlar (Farag ve Kayser, 2017).

D-Limonen: Limon vb. narenciye türlerinin içeriğinde yer alan kuvvetli antioksidan özelliğiyle bilinmektedir (Bai ve diğerleri, 2016). Yapılan deneysel çalışmalarda d-limonen'in hipokampüste ve prefrontal kortekste serotonin ve dopamin vasıtasıyla anksiyolitik etki gösterdiği bulunmuştur (Yun, 2014). Ayrıca gastro-özafagal reflüde tedavi edici özelliği olduğu bildirilmiştir (Patrick, 2011).

β -Mirsen: β -mirsen kenevirde yaygın olarak bulunan ve sinir sisteminde çok sayıda etkilere sahip bir terpendir. Yapılan deneysel çalışmalarda mirsen'in analjezik, sakinleştirici, kas gevşetici, antienflamatuvar özelliğe sahip olduğu tespit edilmiştir (Russo, 2011; Lima ve diğerleri, 2017).

α -Pinen: Kozalaklı bitkilerde ve başka pek çok bitkide bulunabilen bisiklik bir monoterpen olan pinen, böcek kovucu etkileri sayesinde bitkiyi koruyucu bir işlevi vardır. Yapılan araştırmalarda pek çok modelde pinen; bronkodilatör, antienflamatuvar ve antibakteriyel etkiler göstermiştir. Aynı zamanda asetilkolinesteraz enzimini inhibe edebilmektedir (Kim ve diğerleri, 2015; Owokotomo ve diğerleri, 2015).

D-Linalol: Monoterpen alkol olan linalol, anksiyolitik ve sedatif etkilere sahiptir. Bununla birlikte lokal anestezi özelliğe de sahiptir. Yapılan deneysel çalışmalarda yüksek dozlarda, analjezik, antiglutamaterjik ve antikonvülsan etkileri olduğu gözlenmiştir (Souto-Maior ve diğerleri, 2017).

β -Karyofilen: Spesifik olarak CB2 reseptörlerine bağlanarak etkisini gösteren *Karyofilen* antienflamatuvar ve antimalaryal özelliklere sahiptir. Antienflamatuvar özelliğinden dolayı geçmişte İngiltere’de duodenal ülserlerin tedavisinde kullanılmıştır (Fidyt ve diğerleri, 2016). **Karyofilen oksit:** Antifungal ve insektisit özelliklere sahip bununla birlikte yapılan in vitro deneylerde kan sulandırıcı aktivite de göstermiştir. Kenevirin karakteristik kokusundan sorumlu esas bileşendir (Yang ve diğerleri, 2000).

2.12.4. Kenevir Tohumu Yağı

Cannabis sativa’nın tohumundan elde edilen tohum yağı, terapötik ve nutrasötik biyoaktivitesi ile bilinmektedir. Kenevir tohumu yağının % 80’ni PUFA (çoklu doymamış yağ asitleri) oluşturur ve en önemlileri, insan vücudu tarafından doğal olarak üretilmeyen ve esansiyel yağ asitleri olarak da tanımlanan, linoleik asit (LA) ve α linolenik asit (ALA) dir. Üstelik LA/ALA oranı 3:1’dir ve bu ideal omega6/omega3 oranına karşılık gelmektedir (Deferne ve Pate, 1996; Callaway ve diğerleri, 1996). Omega3 yağ asitlerinin kanser, enflamasyon, pıhtılaşma eğiliminden ve ateroskleroza koruyucu vb. sayısız yararları vardır. Bu yağ asitlerinin yanı sıra kenevir tohumu yağı bileşiminde γ -linolenik asit de içermektedir (Erasmus, 1993). Doğada γ -linolenik asit çok nadir olarak bulunur en büyük kaynağı *Onethera biennis* tohum yağı (Çuha çiçeği tohum yağı, Evening Primrose Oil) ve *Borago officinalis* (Hodan, sıgırdili) tohum yağıdır (Kriese ve diğerleri, 2004). γ -linoleik asit insan vücudunda delta-6-desatürez (D6D) enzimi ile hormon benzeri etkileri olan eikozanoitlere dönüşür. Eikozanoitler, vazodilatör, anti-enflamatuvar ve pıhtı önleyici etkilidirler ve romatoid artrit, atopik dermatitli hastalar üzerinde pozitif sonuçlar gösterirler (Radojac ve diğerleri, 2014; Frassinetti ve diğerleri, 2018). Bu konuda yapılan bir klinik çalışma da ; Multipl sklerozlu (MS) 100 hastaya 6 ay boyunca günlük 18-21 gr kenevir tohumu yağı ve çuha çiçeği yağı birlikte verilirken, kontrol grubuna 18-21 gr zeytinyağı verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde hastalığın gidişatında ve karaciğer enzimlerinde, kontrol grubuna kıyasla kayda değer pozitif sonuçlar gözlenmiştir. Araştırma sonunda, Kenevir tohum yağı ve çuha çiçeği tohum yağı kombinasyonunun, MS’li hastalarda tedaviye yardımcı olarak kullanılabileceği önerilmiştir (Rezapour-Firouzi ve diğerleri, 2013; 2015).

Stearidonik asit, vücutta diğer omega3 yağ asitlerinde olduğu gibi eikozapentaenoik asite (EPA) dönüşür. Eikosapentaenoik asit yönünden zengin bir diyetin serum lipid konsantrasyonunu azalttığını gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Sokoła ve diğerleri, 2018). EPA ya dönüşüm α -linolenik asit üzerinden de gerçekleşebilir fakat yapılan çalışmalar

vücutta, stearidonik asitten EPA ya dönüşümün çok daha verimli ve fazla miktarda olduğu bildirilmektedir (Matthäus ve Brühl, 2008).

LA ve ALA esansiyel yağ asitleri (EFA) olarak tanımlanırken, γ -linolenik asit ve stearidonik asit esansiyel yağ asidi olarak tanımlanmazlar çünkü insan vücudunda bu yağ asitlerinin sentezi yapılabilir. LA ve ALA vücutta D6 desatürez (D6D) enzimi sırasıyla γ -linolenik ve stearidonik asite dönüştürülür ancak bu dönüşüm oldukça yavaş gerçekleşir. Dönüşümden sorumlu D6D'nin aktivitesi, ilerleyen yaş, diyabetes mellitus, viral enfeksiyonlar, aşırı alkol kullanma, artmış kolesterol seviyeleri, hipertansiyon, radyasyon, stres, çinko, ve magnezyum, yetersizliği, vitaminler: C, B7, B6, B3, eksikliği ve yaşlanma, stres veya hastalıklar yüzünden γ -linolenik asidin vücuttaki sentezi bozulabilir. Bu durumda γ -linolenik asidin beslenme yoluyla doğrudan temin edilmesi faydalı olabilir (Matthäus ve Brühl, 2008; Rezapour-Firouzi ve diğerleri, 2015). Diyet ile alınan omega-6/omega-3 yağ asitlerinin oranının insan sağlığı üzerine etkileri ile ilgili yapılmış çalışmalarda bu oranın 4:1 olması halinde kalp damar hastalıklarından ölüm oranının %70 azaldığı, omega-6/omega-3 oranlaması 2.5 olduğunda kolon kanseri rektal hücre artışının düştüğü, 5:1 olduğunda ise astım üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Simopoulos, 2008; Hartsel ve diğerleri, 2016). Günümüzde ise, bu oranın 3:1 olarak dengelenmesinin insan sağlığı açısından yararlı olduğu belirtilmektedir (Göger, 2021). Kenevir tohumu yağında bu oran 3:1dir. Kenevir tohum yağında doymamış yağ asitlerinden başka palmitik ve stearik asit gibi doymuş yağ asitlerini de yapısında barındırmaktadır. Bu asitlerin oranı yaklaşık %9 civarındadır (Siano ve diğerleri, 2018).

Doymamış yağ asiti içeriğinin dışında tıpkı kenevirin kendisi gibi yağı da çeşitli terpenleri barındırmaktadır. İçeriğindeki bu terpenler yağda antienflamatuar, antialerjik ve sitoprotektif etkinlik göstermesini sağlamaktadır (Tambe, 1996). Bunun dışında kenevir tohumu yağı; β -sitosterol olarak bilinen antihiperlipidemik, antiviral, antifungal ve antienflamatuar özelliklere sahip bir fitosterol de yapısında bulundurmaktadır (Malini ve Vanithakumari, 1990).

Kenevir tohumu yağı bileşiminde tokoferoller olarak da bilinen E vitamini türevleri açısından da zengindir. Tokoferoller sayesinde kenevir tohumu yağının antioksidan özelliğini artırmaktadır. Aynı zamanda oksidasyona duyarlı olan kenevir tohumu yağının kendi içinde zamanla okside olmasını önleyen maddelerin arasında en önemli grubu tokoferoller oluşturur. Yağın içinde oksidasyonu engelleyen bir diğer molekül grubu eser düzeyde bulunan fenolik bileşiklerdir. Bu maddelerin başlıcaları: Naringenin, ve epikateşindir (Smeriglio ve diğerleri, 2016). Farmakolojik etkileri olan bir diğer bileşeni ise asetilsalisilik asite yapısal olarak oldukça benzeyen metil salisilatır (Leizer ve diğerleri, 2000). Metil salisilatın

antienflamatuvar, analjezik ve antipiretik işlevleri olduğu bilinmektedir. Kenevir tohumu yağı, elde edilmesi sırasında bitkinin trikomlarından salgılanan ve başlıca Δ^9 -THC ile CBD içeren reçine ile de karışması nedeniyle eser miktarda da olsa Δ^9 -THC ve Δ^9 -THC'den daha yüksek miktarlarda CBD içeriğinde bulundurulabilir. Fakat şu ana kadar kenevir tohumu yağı tüketimi ile ilgili gelişen bir komplikasyon bildirilmemiştir. Bilhassa yağın CBD içeriği nedeniyle farmakolojik etkilerinden dolayı sağlık açısından olumlu etkileri olacağına ilişkin görüşler de bulunmaktadır (Leizer ve diğerleri, 2000). Tüm bu veriler ışığında kenevir tohumu yağının hem besleyici özelliği hem de sekonder metabolitlerle sağlığa olumlu katkıları olabileceğini söylemek mümkündür. Aşağıda kenevir tohumu yağının içerdiği bileşik grupları ve bu gruplara ait bileşiklerin miktarları tablo halinde sunulmuştur (Şekil 8).

Bileşenler	Raporlanan	Sonuçlar [68]
Yağ asitleri		
Linoleik asit	50-70 % a/a	52-62 % a/a
α -Linolenik asit	15-25 % a/a	12-23 % a/a
Oleik asit	10-16 % a/a	8-13 % a/a
Palmitik asit	6-9 % a/a	5-7 % a/a
Stearik asit	2-3 % a/a	1-2 % a/a
γ -Linolenik asit	1-6 % a/a	3-4 % a/a
Eikosanoik asit	0.79-0.81 % a/a	0.39-0.79 % a/a
Eikosenoik asit	0.39-0.41 % a/a	0.51 % a/a
Eikosadienoik asit	0.00-0.09 % a/a	0.00 % a/a
Diğer Bileşenler		
Kannabidiol	-	10 mg/kg
Δ^9 -Tetrahidrokannabinol	50 mg/kg	-
Mirsen	-	160 mg/L
β -Karyofillen	-	740 mg/L
β -Sitosterol	-	100-148 g/L
α -Tokoferol	7-80 ppm	Değişken
γ -Tokoferol	710-870 ppm	468 mg/L
Metil salisilat	-	Değişken

Şekil 14. Kenevir Tohum Yağının Makro Kompozisyonu

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Kararı

Bu deneysel çalışmada, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (ADÜ-HADYЕК) 64583101/2022/001 sayılı ve 10/03/2022 tarihli kararı ile onaylandı. (EK-1)

3.2. Deney Hayvanları

Çalışmada, Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen, %40-60 bağıl nem oranı ve $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ optimal sıcaklıkta, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde tutulan, ağırlıkları 260-370 gr arasında değişen 12 haftalık 60 adet Wistar türü erkek sıçan kullanıldı. Hayvanların beslenmesinde standart sıçan yemi ve musluk suyu sağlandı.

3.3. Deney Tasarımı

3.3.1. MABH Prosedürü

Deneysel MABH modelinin oluşturulması için; %50 hipertonic gliserol'ün belirtilen doz (8 ml/kg) ve uygulama yönteminin literatürde farklı çalışmalarda olumlu sonuçların alındığı saptanmıştır (Singh ve diğerleri, 2012; Konda ve diğerleri, 2016; Yavuz ve diğerleri, 2018).

Ratlar rastgele örnekleme yöntemiyle 60 sıçan 10'ar adet olacak şekilde 6 gruba ayrıldıktan sonra deneysel MABH modelinde denekler gliserol uygulamasından son 24 saat önce besin ve su alımından yoksun bırakıldı. %50'lik hipertonic gliserol (salin içinde %50 v/v) uygulaması her denek için 8 ml/kg/gün toplam hacim olarak, hafif eter anestezisi altında, her iki arka bacağa eşit ve bölünmüş dozlarda yavaşça intramuskular olarak uygulandı. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı. Sham grubuna 8 ml/kg toplam hacim olarak, hafif eter anestezisi altında, her iki arka bacağa eşit ve bölünmüş dozlarda serum fizyolojik yavaşça intramuskular olarak uygulandı. Deney süresince tüm hayvanlar kendi gruplarına ait işlemlere tabi tutulduktan sonra, gliserol uygulamasından 72 saat sonra ketamin ve ksilazin anestezisi altında, batin ön duvarları insüzyonla açılarak

diyaframdan kalbe ulaşıldı, ponksiyonla kan örnekleri alındı. Daha sonra nefrektomi yapılarak doku örnekleri alındı ve hayvanlar sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri +4  C’de 3000 devirde 5 dk santrifüj edildikten sonra, serumlar alınarak ependorf tüplere konuldu ve biyokimya çalışmalarında kullanılmak üzere -80 dereceye konuldu. Çıkarılan böbrekler ise serum fizyolojik ile yıkandı ve sağ böbreğin bir yarısı histopatolojik inceleme için %10’luk formalin solüsyonuna konuldu, sağ böbreğin diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarısı serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdı ile kurutulup alüminyum folyo içinde paketlenildi. Biyokimya çalışmalarında kullanılmak üzere -80 dereceye konuldu. Histolojik ve biyokimyasal çalışmalar aynı taraf böbrek ile yapıldı.



Resim 1. Deney prosedüründe kullanılan hayvanlar (MABY oluşturulan hayvanlarda genel durum bozukluğuna işaret eden (a) yüz bölgesindeki renk değişiklikleri, (b) ishal.



Resim 2. Deney prosedüründe kullanılan hayvanlar (MABY oluşturulan hayvanlarda genel durum bozukluğuna işaret eden (c) hematüri görülmektedir.



Resim 3. Kenevir Tohumu Yağı İntragastrik Gavaj Uygulaması

3.3.2. Deney Grupları

Bu tez çalışmasında, böbrek dokusunda meydana gelen hasar ile buna bağlı yapısal bozulma ve iyileşme süreçlerinin değerlendirilmesi amaçlandığından, deney hayvanları farklı işlem gruplarına ayrılmıştır. Ağırlıkları 260-370 gram arasında değişen, toplamda 60 Wistar Albino cinsi sıçan, Sham (kontrol) (n=10), Gliserol grubu (n= 10), gliserol uygulamasından önce ve sonra on gün boyunca uzun süreli olarak yüksek doz 6 ml/kg/gün *Canabis sativa* (kenevir) tohumu yağı uygulanan G+UCS6 grubu (n=10), gliserol uygulamasından önce ve sonra on gün boyunca uzun süreli olarak düşük doz 3 ml/kg/gün *Canabis sativa* (kenevir) tohumu yağı uygulanan G+UCS3 grubu (n=10), gliserol uygulamasından sonra üç gün boyunca kısa süreli olarak yüksek doz 6 ml/kg/gün *Canabis sativa* (kenevir) tohumu yağı uygulanan G+KCS6 grubu (n=10) ve gliserol uygulamasından sonra üç gün boyunca kısa süreli olarak düşük doz 3 ml/kg/gün *Canabis sativa* (kenevir) tohumu yağı uygulanan G+KCS3 grubu (n=10) şeklinde 6 deney grubuna ayrıldı.

3.3.2.1. Sham grubu (n=10)

Sham kontrol grubu, deney ve tedavi gruplarının karşılaştırılmasında temel referans noktası olarak kullanıldı. Bu gruba dahil edilen sıçanlar, diğer gruplarda olduğu gibi rastgele seçildi; deney hayvanları laboratuvarından temin edilen sıçanlar, randomize bir şekilde gruplara atandı ve deney öncesi sağlık değerlendirmeleri sonucunda bu gruptaki hayvanlarda herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Sham grubunun bakım ve çevresel koşulları, tüm gruplar arasında tutarlılık sağlanacak şekilde düzenlendi. Hayvanlar, standart sıçan yemi ile ad libitum beslendi; içme suları günlük olarak taze ve katkısız şekilde temin edildi. Barındırma ortamı, sabit sıcaklık ve nemde tutuldu; 12 saatlik ışık-karanlık döngüsüne uygun şekilde aydınlatıldı. Stres faktörlerinin ortadan kaldırılması amacıyla, aynı odada başka çalışmalardan hayvanlar bulundurulmadı ve deney dışı insan teması sınırlandırıldı.

Çalışmanın yedinci gününde bu gruptaki sıçanlar MABH oluşturulmadan, eter anestezisi altında yalnızca serum fizyolojik 8 ml/kg her iki arka bacağa eşit hacimde intramuskular olarak uygulandı. Serum fizyolojik enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı. Sham grubu hayvanlara farmakolojik bir müdahalede bulunulmadı İşlemden sonra 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan distile su verildi. Çalışmanın 10. gününde sakrifiye

işlemi ketamine 50 mg/kg ve xylazine 10 mg/kg anestezisi protokolü ile yapılarak deney sonlandırıldı.

3.3.2.2. Gliserol grubu (n=10)

Deney grubundaki sıçanlar, diğer gruplarda olduğu gibi rastgele örneklem olacak şekilde seçildi; gruplandırma randomize olarak yapıldı. Deney öncesinde, bu hayvanlarda herhangi bir patolojik bulgu ya da anormalite tespit edilmedi. Gliserol grubundaki sıçanların barınma koşulları, beslenmeleri, ışık/karanlık döngüleri ve çevresel düzenlemeleri diğer gruplarla aynı şekilde sağlandı. Stres oluşturabilecek tüm dış faktörler ortadan kaldırıldı ve işlem dışı insan teması sınırlandırıldı.

Çalışmanın yedinci gününde eter anestezisi altında deneysel MABH modelinde sıçanlarda böbrek hasarı oluşturma standart yöntemi olan %50 gliserol (salin içinde v/v) 8 ml/kg her iki arka bacağa eşit olacak şekilde dağıtılan derin bir intramuskular enjeksiyonla uygulandı. Sıçanlar gliserol uygulamasından önce 24 saat boyunca yiyecek ve sudan mahrum bırakıldı. Gliserol uygulandıktan 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan distile su verildi. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı.

Deney boyunca hayvanların beslenmeleri ve vücut ağırlıkları izlendi. Bu gruba deney süresince herhangi bir tedavi edici veya koruyucu ajan uygulanmadı. Gliserol uygulamasından 72 saat sonra (çalışmanın 10. Gün) ise sakrifiye işlemi, derin anestezi altında aynı anestezi protokolü ile gerçekleştirildi.

3.3.2.3. G + KCS3 grubu (n=10)

Kısa süreli ve düşük doz tedavi uygulanan G+ KCS3 grubundaki sıçanlar, diğer gruplar gibi rastgele ve kıyasız şekilde seçildi, randomize olarak gruplandırıldı. Deney öncesi sağlık kontrollerinde patolojik bulguya rastlanmadı. Beslenme, barınma ve çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu; standart yemle ad libitum beslenme ve sabit ortam koşulları sağlandı. Deney protokolü diğer gruplarla eşgüdümlü şekilde uygulandı.

Çalışmanın yedinci gününde Deneysel MABH modelinde, sıçanlarda böbrek hasarı oluşturmak amacıyla %50 gliserol (salin içinde v/v) 8 ml/kg her iki arka bacağa eşit olacak şekilde dağıtılan derin bir intramuskular enjeksiyonla uygulandı. Sıçanlar gliserol uygulamasından önce 24 saat boyunca yiyecek ve sudan mahrum bırakıldı. Gliserol

uygulandıktan 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan intragastrik gavajla her gün tek doz aynı zaman diliminde 3 ml/kg/gün kenevir tohumu yağı 3 gün verildi. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı. Sakrifikasyon sürecine kadar sıçanların ağırlıkları, beslenmeleri takip edildi. Gliserol uygulamasından 72 saat sonra çalışmanın onuncu gününde kullanılan anestezi dozu diğer gruplardaki gibi (75 mg/kg Ketamin ile 8 mg/kg Ksilazin) uygulanarak sakrifikasyon gerçekleştirildi.

3.3.2.4. G+KCS6 grubu (n=10)

Kısa süreli ve yüksek doz tedavi uygulanan G+ KCS6 grubundaki sıçanlar, diğer gruplar gibi rastgele ve kıyassız şekilde seçildi, randomize olarak gruplandırıldı. Deney öncesi sağlık kontrollerinde patolojik bulguya rastlanmadı. Beslenme, barınma ve çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu; standart yemle ad libitum beslenme ve sabit ortam koşulları sağlandı. Deney protokolü diğer gruplarla eşgüdümlü şekilde uygulandı.

Çalışmanın yedinci gününde deneysel MABH oluşturmak amacıyla sıçanlarda %50 gliserol (salin içinde v/v) 8 ml/kg her iki arka bacağa eşit miktarda olacak şekilde derin bir intramuskular enjeksiyonla zerk edildi. Sıçanlar gliserol uygulamasından önce 24 saat boyunca yiyecek ve sudan mahrum bırakıldı. Gliserol uygulandıktan 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan intragastrik gavajla her gün tek doz aynı zaman diliminde 6 ml/kg/gün kenevir tohumu yağı 3 gün verildi. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı. Sakrifikasyon sürecine kadar sıçanların ağırlıkları, beslenmeleri takip edildi. Gliserol uygulamasından 72 saat sonra çalışmanın onuncu gününde kullanılan anestezi dozu diğer gruplardaki gibi (75 mg/kg Ketamin ile 8 mg/kg Ksilazin) uygulanarak sakrifikasyon gerçekleştirildi.

3.3.2.5. G+UCS3 grubu (n=10)

Uzun süreli ve düşük doz tedavi uygulanan G+UCS3 grubundaki sıçanlar, diğer gruplar gibi rastgele ve kıyassız şekilde seçildi, randomize olarak gruplandırıldı. Deney öncesi sağlık kontrollerinde patolojik bulguya rastlanmadı. Beslenme, barınma ve çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutuldu; standart yemle ad libitum beslenme ve sabit ortam koşulları sağlandı. Deney protokolü diğer gruplarla eşgüdümlü şekilde uygulandı.

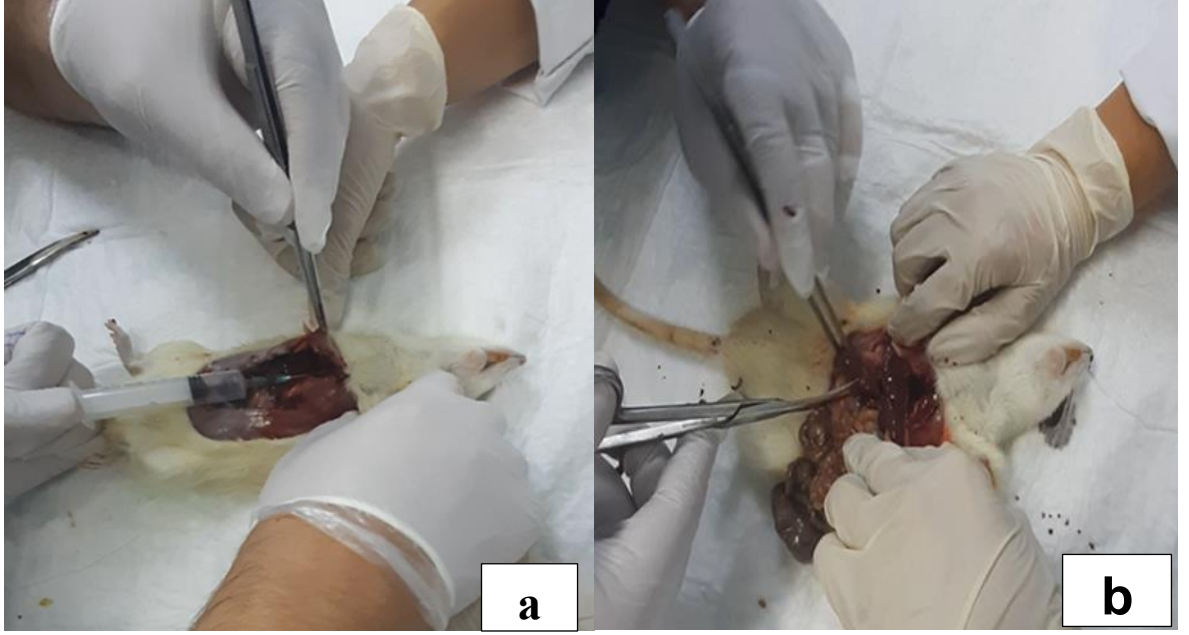
Bu gruptaki sıçanlara, sakrifiye edilmelerinden 10 gün önce kenevir tohumu yağı uygulanmaya başlandı. 10 gün süreyle hergün aynı zaman diliminde 3ml/kg/gün dozunda

kenevir tohumu yağı intragastrik olarak verildi. Çalışmanın yedinci gününde deneysel MABH oluşturmak amacıyla sıçanlarda %50 gliserol (salin içinde v/v) 8 ml/kg her iki arka bacağa eşit miktarda olacak şekilde derin bir intramuskular enjeksiyonla zerk edildi. Sıçanlar gliserol uygulamasından önce 24 saat boyunca yiyecek ve sudan mahrum bırakıldı. Gliserol uygulandıktan 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan intragastrik gavajla her gün tek doz aynı zaman diliminde 3ml/kg/gün kenevir tohumu yağı 3 gün daha uygulanmaya devam edildi. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı. Sakrifikasyon sürecine kadar sıçanların ağırlıkları, beslenmeleri takip edildi. Gliserol uygulamasından 72 saat sonra çalışmanın onuncu gününde kullanılan anestezi dozu diğer gruplardaki gibi (75 mg/kg Ketamin ile 8 mg/kg Ksilazin) uygulanarak sakrifikasyon gerçekleştirildi.

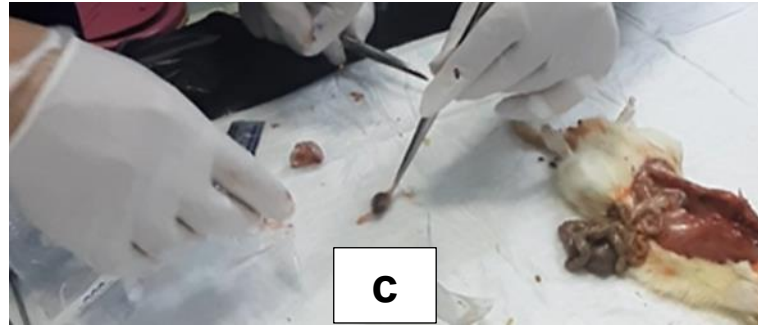
3.3.2.6. G+UCS6 grubu (n=10)

Uzun süreli ve yüksek doz tedavi uygulanan G+ UCS6 grubundaki sıçanlar, diğer gruplar gibi rastgele ve kıyasız şekilde seçilmiş, randomize olarak gruplandırıldı. Deney öncesi sağlık kontrollerinde patolojik bulguya rastlanmamıştır. Beslenme, barınma ve çevresel koşullar diğer gruplarla aynı tutulmuş; standart yemle ad libitum beslenme ve sabit ortam koşulları sağlanmıştır. Deney protokolü diğer gruplarla eşgüdümlü şekilde uygulanmıştır.

Bu gruptaki sıçanlara, sakrifiye edilmelerinden 10 gün önce kenevir tohumu yağı uygulanmaya başlandı. 10 gün süreyle hergün aynı zaman diliminde 6ml/kg/gün dozunda kenevir tohumu yağı intragastrik olarak verildi. Çalışmanın yedinci gününde deneysel MABH oluşturmak amacıyla sıçanlarda %50 gliserol (salin içinde v/v) 8 ml/kg her iki arka bacağa eşit olacak şekilde derin bir intramuskular enjeksiyonla zerk edildi. Sıçanlar gliserol uygulamasından önce 24 saat boyunca yiyecek ve sudan mahrum bırakıldı. Gliserol uygulandıktan 1, 24 ve 48 saat sonra oral yoldan intragastrik gavajla her gün tek doz aynı zaman diliminde 6ml/kg/gün kenevir tohumu yağı 3 gün daha uygulanmaya devam edildi. İlk gliserol enjeksiyonundan sonra hayvanlara serbest diyet ve su alımı sağlandı. Sakrifikasyon sürecine kadar sıçanların ağırlıkları, beslenmeleri takip edildi. Gliserol uygulamasından 72 saat sonra çalışmanın onuncu gününde kullanılan anestezi dozu diğer gruplardaki gibi (75 mg/kg Ketamin ile 8 mg/kg Ksilazin) uygulanarak sakrifikasyon gerçekleştirildi.



Resim 4. a ve b. Ponksiyonla kan örneklerinin alınması (a) Nefrektomi (b)

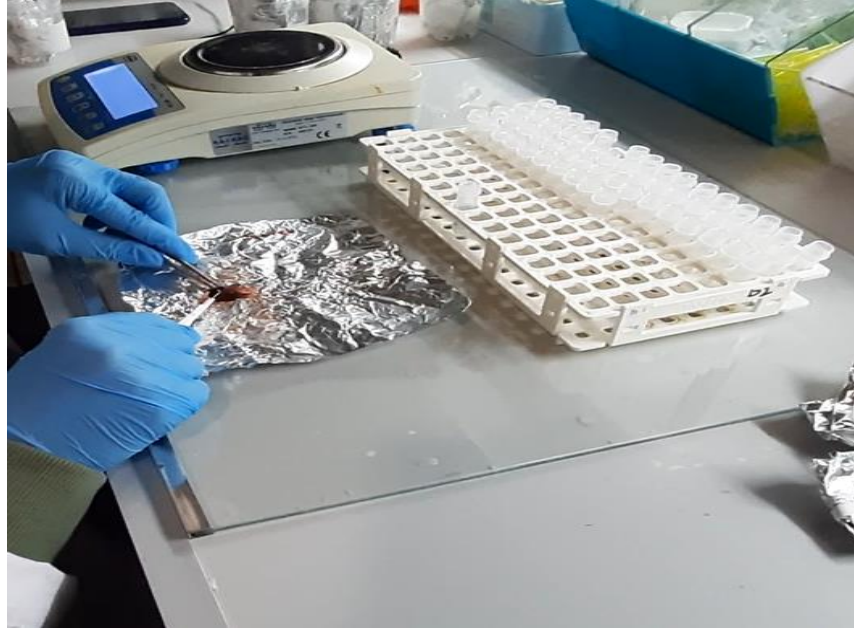


Resim 5. c. Nefrektomi ve örneklerin (c) alınması sırasındaki görünüm

3.3.6. Biyokimyasal Analiz

3.3.6.1. Dokuların Homojenizasyonu:

Böbrek dokuları kesilerek tartıldı. Bistüri ile kesilen dokular tüplere konuldu. 50mM pH 7.0 da + 4 °C Fosfat tamponu (PBS) ile (w/v = 1/10) sulandırılarak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 1500 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar biyokimyasal analiz için kullanıldı.



Resim 6. Rat Böbreğinin Porsiyonlanması

3.3.6.2. Serum Üre Düzeyi Ölçümü

SunRed Rat Üre Elisa Kit (China) Katolog no:201-11-1733 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır.

Standart solüsyonlar kitte belirtilen prosedüre göre seyreltilti. 20 mmol/L Standard No:5 120 µl original Standard+120 µl Standard diluents; 10 mmol/L Standard No:4 120 µl Standard No:5+120 µl Standard diluents; 5 mmol/L Standard No:3 120 µl Standard No:4+120 µl Standard diluent; 2.5mmol/L Standard No:2 120 µl Standard No:3+120 µl Standard diluent, 1,25 mmol/L Standard No:1 120 µl Standard No:2+120 µl Standard diluent. Standart kuyular: standart 50 µl, Streptavidin-HRP 50 µl eklendi. Standart hali hazırda kombine biyotin antikoruna sahipti, bu nedenle antikor eklenmedi. Test kuyularına 40 µl numune eklendi ve ardından her iki üre antikoru eklendi (10 µl üre antikoru ve Streptavidin-HRP 50 µl). Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıldı ve hafifçe sallayarak 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 µl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.

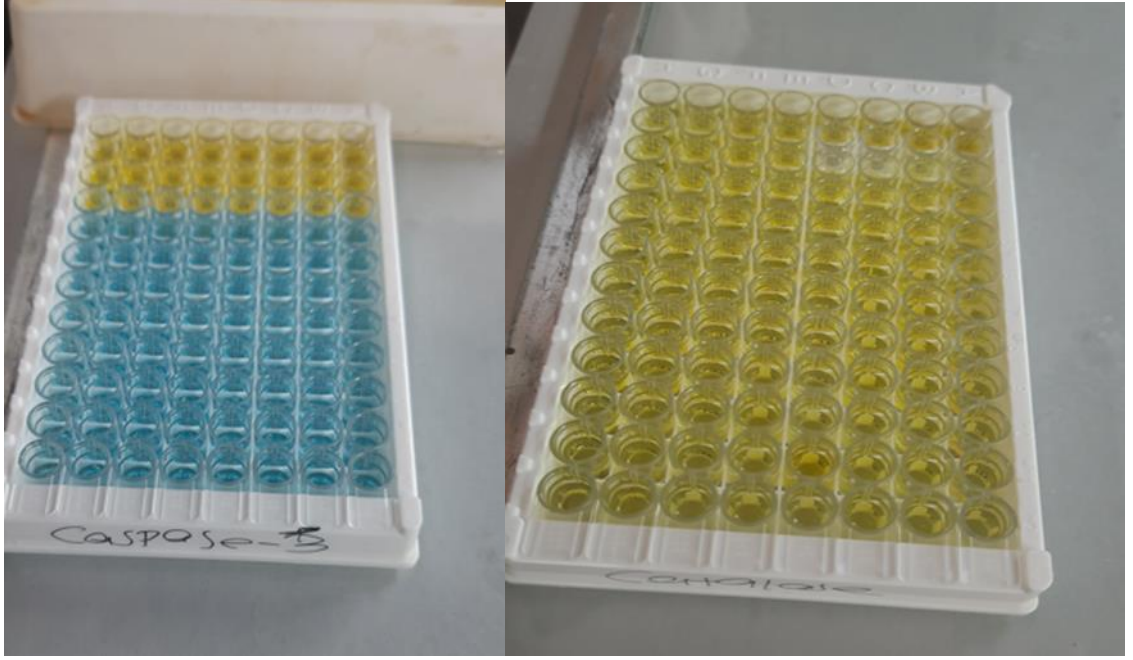
3.3.6.3. Serum Kreatinin Düzeyi Ölçümü

SunRed Rat Kreatinin Elisa Kit (China) Katolog no:201-11-0308 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar 400 $\mu\text{mol/L}$ 'den başlayarak sırasıyla seyreltildi. 400 $\mu\text{mol/L}$ Standard No:5 120 μl original Standard+120 μl Standard diluents; 200 $\mu\text{mol/L}$ Standard No:4 120 μl Standard No:5+120 μl Standard diluents; 100 $\mu\text{mol/L}$ Standard No:3 120 μl Standard No:4+120 μl Standard diluent; 50 $\mu\text{mol/L}$ Standard No:2 120 μl Standard No:3+120 μl Standard diluent, 25 $\mu\text{mol/L}$ Standard No:1 120 μl Standard No:2+120 μl Standard diluent şeklinde standartlar hazırlandı. A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50 μl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40 μl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10 μl kreatinin antikoru eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50 μl Streptavidin HRP konuldu. Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıp 1 saat inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 μl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 μl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 μl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.6.4. Doku Caspase-3 Düzeyinin Ölçümü

SunRed Rat Kreatinin Elisa Kit (China) Katolog no: SRB-T-81638 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar 6,4 ng/ml'den başlayarak sırasıyla seyreltildi. 6,4ng/ml No:5 120 μl original Standard+120 μl Standard diluents; 3,2 ng/ml Standard No:4 120 μl Standard No:5+120 μl Standard diluents; 1,6 ng/ml Standard No:3 120 μl Standard No:4+120 μl Standard diluent; 0,8 ng/ml Standard No:2 120 μl Standard No:3+120 μl Standard diluent, 0,4 ng/ml Standard No:1 120 μl Standard No:2+120 μl Standard diluent şeklinde standartlar hazırlandı. A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50 μl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40 μl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10 μl caspase-3 antikoru eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50 μl Streptavidin HRP konuldu. Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıp 1 saat

inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 µl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.



Resim 7. Microplate Üzerinde Renk Değişimi. TBS ile HRP etkileşimi mavi rengin sarıya dönüşümüne aracılık eder. Sarı rengin absorbansı Caspase-3 oranı ile doğru orantılıdır.

3.3.6.5. Doku HIF-1 Alfa Düzeyinin Ölçümü

SunRed Rat Kreatinin Elisa Kit (China) Katolog no: 201-11-1371 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar 2400 ng/ml'den başlayarak sırasıyla seyreltildi. 2400 ng/L No:5 120 µl original Standard+120 µl Standard diluents; 1200 ng/L Standard No:4 120 µl Standard No:5+120 µl Standard diluents; 600 ng/L Standard No:3 120 µl Standard No:4+120 µl Standard diluent; 300 ng/L Standard No:2 120 µl Standard No:3+120 µl Standard diluent, 150 ng/L Standard No:1 120 µl Standard No:2+120 µl Standard diluent şeklinde standartlar hazırlandı. A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50µl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl HIF1- A antikoru eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm

kuyucuklara 50µl Streptavidin HRP konuldu. Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıp 1 saat inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 µl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.6.6. Doku TNF-alfa Düzeyinin Ölçülmesi

SunRed Rat TNF Alfa Elisa Kit (China) Katolog no: 201-11-0765 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar 640 ng/L'den başlayarak sırasıyla seyreltildi. 640 ng/L No:5 120 µl original Standard+120 µl Standard diluents; 320 ng/L Standard No:4 120 µl Standard No:5+120 µl Standard diluents; 160 ng/L Standard No:3 120 µl Standard No:4+120 µl Standard diluent; 80 ng/L Standard No:2 120 µl Standard No:3+120 µl Standard diluent, 40 ng/L Standard No:1 120 µl Standard No:2+120 µl Standard diluent şeklinde standartlar hazırlandı. A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50µl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl TNF- A antikoru eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin HRP konuldu. Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıp 1 saat inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 µl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.6.7. Doku İnterlökin-1β Düzeyinin Ölçülmesi

SunRed Rat İnterlökin-1β Elisa Kit (China) Katolog no: 201-11-0765 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar 4800 pg/L'den başlayarak sırasıyla seyreltildi.

4800 pg/L No:5 120 µl original Standard+120 µl Standard diluents; 2400 pg/L Standard No:4 120 µl Standard No:5+120 µl Standard diluents; 1200 pg/L Standard No:3 120 µl Standard No:4+120 µl Standard diluent; 600 pg/L Standard No:2 120 µl Standard No:3+120 µl Standard diluent, 300 pg/L Standard No:1 120 µl Standard No:2+120 µl Standard diluent şeklinde standartlar hazırlandı. A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50µl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl İnterlökin-1β antikoru eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin HRP konuldu. Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıp 1 saat inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 µl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.6.8 Doku İnterlökin-6 Düzeyinin Ölçülmesi

SunRed Rat İnterlökin-6 Elisa Kit (China) Katolog no: 201-11-0765 kullanıldı. Yapılan analizlerde kullanılan kitler, standart sandviç enzime bağlı immün-sorbent ölçüm teknolojisine dayanmaktadır. Standartlar 4800 pg/L'den başlayarak sırasıyla seyreltildi.

320 pg/L No:5 120 µl original Standard+120 µl Standard diluents; 160 pg/L Standard No:4 120 µl Standard No:5+120 µl Standard diluents; 80 pg/L Standard No:3 120 µl Standard No:4+120 µl Standard diluent; 40 pg/L Standard No:2 120 µl Standard No:3+120 µl Standard diluent, 20 pg/L Standard No:1 120 µl Standard No:2+120 µl Standard diluent şeklinde standartlar hazırlandı. A kuyucuğu (blank) boş bırakıldı. B, C, D, E, F kuyucuklarına 50µl standartlar eklendi. Daha sonra sıradaki kuyucuktan itibaren 40µl numuneler konuldu. Sadece numunelerin üzerine 10µl İnterlökin-6 antikoru eklendi. A kuyucuğu hariç diğer tüm kuyucuklara 50µl Streptavidin HRP konuldu. Ardından sızdırmazlık elemanını kapatıp 1 saat inkübe edildi. Distile su ile 30 kat seyreltilmiş yıkama konsantresi ile yıkandı. Sıvı boşaltıldı ve sallayarak kalan su uzaklaştırıldı. Her birine A 50 µl kromojen solüsyonu, ardından kromojen solüsyonu B 50 µl eklendi, yavaşça karıştırıldı ve 37 °C'de ışıktan uzakta 10 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak için her kuyuya 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve mavi renk hemen sarıya dönüştü. Nihai ölçüm için, 15 dakika sonra optik dansitesi 450 nm dalga boyunun altında, optik okuyucuda ölçülerek gerçekleştirildi.

3.3.6.9. Doku Malondialdehit Düzeyi Ölçümü

Oksidatif stresin değerlendirilmesi için lipid peroksidasyonu önemli yer tutmaktadır. Lipid peroksidasyonu sırasında malondialdehit (MDA) ve 4 hidroksinonenal (4-HNE) oluşmaktadır. Örnek dokudaki MDA, yüksek sıcaklık ve asit ortamda tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek, kolorimetrik olarak 532 nm dalga boyunda ölçülebilen MDA-TBA bileşiğini oluşturmaktadır. MDA seviyesinin kolorimetrik olarak saptama limiti 1 nmol / kuyucuk (well) olarak belirtilmiştir. Kit ile birlikte sağlanan TBA, 7,5 ml glasiyal asetik asit ile karıştırılarak çözelti hazırlanıp distile su eklenerek çözeltinin toplam hacmi 25 ml'ye çıkarılmıştır. 0,1 M MDA standardından 10 µl, 407 µl distile su ile seyreltilmiş; ardından bu standarttan 20 µl alınarak 980 µl distile su ile karıştırılmıştır. 2 nM MDA standardından kalibrasyon için 0, 2, 4, 6, 8, 10 µl alınarak ve her biri distile su ile 200 µl'ye tamamlanmıştır. Böylece MDA standartları 0, 4, 8, 12, 16 ve 20 nmol oluşturulmuştur. 20 µl doku süpernatantı kapaklı cam tüplere konulduktan sonra üzerine 600 µl TBA çözeltisi eklenmiştir. 1 saat süresince 95°C'de inkübe edildikten sonra, buzlu suda soğutulmuştur. Her bir cam tüpteki içerikten 200 µl alınarak mikropate üzerindeki kuyucuklara yerleştirilmiştir. Mikropate plak okuyucuda 532 dalga boyunda okunmuştur.

3.3.6.10. Doku Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Katalaz (CAT) kiti (Catalase Activity Colorimetric /Fluorometric Assay Kit, BioVision, K773-100) kullanılmıştır. Kit deneyin uygulanacağı güne kadar + 4°C de saklandı. Katalaz bütün organizmalarda bulunan çok önemli bir antioksidan enzimdir. En önemli görevi hücrelerde oluşan hidrojen peroksiti oksijen ve suya dönüştürmektir. Tüketilen hidrojen peroksiti ile katalaz arasındaki doğru orantı, katalazın canlı hücrelerde hidrojen peroksiti tüketmesiyle bağlantılıdır. Sapma limiti 1 µU/well'dir. Deney sırasıyla; tüm kuyucuklara (kör ve standart hariç) 78 µl doku süpernatantı konulup, 12 µl 1mM hidrojen peroksit örnek kuyucuklara eklendi. 30 dakika boyunca 25°C de inkübe edildi ve 10 µl stop solüsyon eklenerek, tüm kuyucuklara 50 µl reaksiyon karışımı eklenerek 10 dakika 25°C de bekletilip mikropate okuyucuda 570 nm'de absorbans ölçüldü.

3.3.6.11. Doku Glutasyon Düzeyi Ölçümü

Ölçüm için kullanılan GSH-Px kiti (Glutathione Peroxidase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision, K762-100) deney gününe kadar -20°C’ de muhafaza edildi. Plaktaki tüm kuyucuklara 50 µl doku süpernatantı konuldu. 33 µl analiz tamponu, 3 µl 40 mM NADPH çözeltisi (0,5 ml dH₂O liyofilize NADPH ile karıştırılarak elde edilir.), 2 µl GR çözeltisi, 2 µl GSH çözeltisi hazırlanarak her bir test örneğine 40 µl reaksiyon karışımı da kuyucuklara eklendi. Süpernatanttaki mevcut okside glutasyonu (GSSG) tüketmek için 15 dakika inkübe edildi. En son olarak 10 µl H₂O₂ eklendi. ELİSA plak okuyucuda 405-415 nm dalga boyunda okuma yapıldı.

3.3.6.12. Doku Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

Doku SOD aktivitesi ölçümü için kolorimetrik analiz kiti (Cat. No. #K264, BioVision) kullanıldı. Antioksidan enzimlerin en önemlilerinden biri olan superoksit dismutaz (SOD) superoksit anyonunun hidrojen peroksit ve moleküler oksijene ayrışmasını katalize etmektedir. SOD analiz prosedüründe, süperoksit anyonuyla indirgenerek suda çözünür bir formazan boyası üreten WST-1 kullanılmaktadır. Süperoksit anyonuyla indirgeme oranı, ksantin oksidaz (XO) aktivitesi ile doğru orantılıdır ve SOD ile inhibe edildiğinden, SOD'un inhibisyon aktivitesi, WST-1 üzerinden kolorimetrik yöntemle belirlenebilmektedir. SOD aktivitesi, 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropate okuyucu kullanılarak kolorimetrik yöntemle belirlendi.

3.3.6. 13. Doku Miyeloperoksidaz Düzeyi Ölçümü

‘Bio Vision (K744-100)’ marka ‘myelopeoxidase colorimetric activity assay kit’ deney güne kadar -20 °C de saklanmıştır. Miyeloperoksidaz (MPO) nötrofiller tarafından sentezlenen bir peroksidazdır. Nötrofilin azurofilik granüllerinde depolanan bir lizozomal proteindir. MPO, klorid anyonundan ve hidrojen peroksidazdan hidroklorik asit (HClO) üretimini katalize eder. MPO ayrıca, oksitleyici ajan olarak hidrojen peroksit kullanarak bir tirozil radikale tirozin oksitlemektedir. BioVision’ın MPO Test Kitinde, H₂O₂ ve Cl’den üretilen HClO, taurin ile reaksiyonu neticesinde taurin kloramin oluşur ki bu da sonradan TNB ile 412 nm’de reaksiyona girip TNB probe ile rengi elimine eder. Sapma limiti 0,05 nmol/well’dir. Deney sırasıyla; 5-10 µl doku süpernatı pozitif kontrol kuyucuklarına, 1-50 µl tüm kuyucuklara

aktarıp MPO tampon ile hacim 50 µl'ye tamamlanmış, her kuyucuğa 50 µl kit içeriğinden elde edilen reaksiyon karışımından konulup karıştırıldı, 30-120 dakika 25°C de inkübe edilip 2 µl stop solüsyonu tüm kuyucuklara eklendi ve 10 dakika boyunca tekrar inkübe edilerek 5 µl TNB ilave edilip 412 nm'de okuması yapıldı.

3.4. Histopatolojik Analiz

Böbrek dokusu örnekleri, %10'luk nötral formalin solüsyonunda +4 °C'de 24 saat boyunca fikse edildikten sonra, standart histolojik prosedüre tabi tutuldu. Dokular, doku takip cihazında bir gece boyunca %10'luk formalin ile fikse edildikten sonra, sırasıyla %80, %90 ve %100 etanol serileri ile dehidrate edildi, ardından ksilol ve parafin ile takip işlemi tamamlandı.

Doku içerisindeki su, etanol serileri aracılığıyla uzaklaştırılarak (dehidratasyon) son aşamada sıvı parafin içinde bekletildi ve doku boşluklarının parafin ile dolması sağlandı. Takip işlemi sonrası örnekler etiketlenerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardaki dokulardan, Leica RM 2135 mikrotomu kullanılarak rastgele seçilmiş 5 µm kalınlığında kesitler alındı.

Kesitler, hematoksin-eosin boyama protokolüne uygun şekilde sırasıyla 4 dakika ksilol, 4'er dakika %100, %95, %80 ve %70'lik etanol serilerinden geçirildi. Sonrasında 4 dakika distile su, 2 dakika hematoksin, 1 dakika akar su, 1 dakika eozin ve tekrar 4'er dakikalık %70, %80, %95 ve %100'lük etanol serilerinden geçerek, son aşamada 4 dakika ksilol ile tamamlandı ve entellan ile kapatıldı. Görüntüleme işlemi, Olympus BX51 mikroskoba monte edilmiş Olympus DP20 dijital kamera ile gerçekleştirildi. Her denekten, böbreğin longitudinal orta bölgesine inildikten sonra rastgele kesitler alındı. Kesitlerden, x200 ve 400 büyütme ile korteks alanında görüntüler elde edilerek histopatolojik parametrelere göre analiz yapıldı. Işık mikroskopunda incelemeye hazır hale getirildi. İncelenen parametrelerin her biri, değişikliklerin hasar derecesine bağlı olarak, 0 ila 3 arasında bir ölçekte derecelendirildi (Abdel-Wahhab ve diğerleri, 1999).

0 (Sıfır skor): Histolojik yapısal değişikliğin olmamasını,

+ (1 pozitif skor): Hafif derecede histolojik (yapısal) değişikliği

++ (2 pozitif skor): Orta derecede histolojik (yapısal) değişikliği

+++ (3 pozitif skor): Ciddi derecede histolojik (yapısal) değişikliği ifade etmektedir.

3.5. İstatistiksel Analiz

Veriler R programı ile analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk Testi ile incelendi. Üç ve üzeri gruplarda normal dağılmayan verilerin incelenmesinde Kruskal Wallis H testi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Dunn testi ile yapıldı. Üç ve üzeri gruplara göre normal dağılıma uyan değişkenlerin karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı ve çoklu karşılaştırmalar Tukey Testi ile yapıldı. Nicel verilerin gösteriminde ortalama $\pm$ standart hata ve ortanca (minimum- maksimum) kullanıldı. Önem düzeyi $p < 0,05$ olarak alındı.

3.6. Kullanılan Cihazlar

- ✓ Santrifüj (Hettich Zentrifügen Mikro 200R, San Bio Medikal, İngiltere)
- ✓ Santrifüj (Hettich Zentrifügen Rotina 420, Almanya)
- ✓ Vorteks (Labnet International Inc. Edison NJ, ABD)
- ✓ Hassas terazi (SARTORIUS AG BP 610, Almanya)
- ✓ Derin Dondurucu (-80) (SANYO MDF U5186S, Japonya)
- ✓ Ultra saf su cihazı (SS 200 Şimşek Lab. Ankara)
- ✓ Mikroplate okuyucu (ELx 800, BioTek Instruments Inc, ABD)
- ✓ Otomatik Plate Yıkayıcı (Plate Washer DAS)
- ✓ İnkübasyon Cihazı (Microtec.Type Ak 120, Infors Ag, İsviçre)
- ✓ Homojenizasyon cihazı (Ultra – Turrax T8 IKA- Werke SİGMA, Almanya)
- ✓ pH metre (HANNA H1221)
- ✓ Hassas Terazi (Sartorius CP 3245)
- ✓ Kaynamış su banyosu (Memmert)
- ✓ Otomatik pipetler (Ependorf)
- ✓ Olympus BX20 Mikroskop
- ✓ Etüv (Nüve, EN055)
- ✓ Mikrotom (Leica RM 2135)
- ✓ Buzdolabı (İndesit)
- ✓ 20. Mikrosantrifüj (Hettich)
- ✓ Manyetik karıştırıcı (IKA)

3.7. Kullanılan Sarf Malzemeler

- ✓ NaCl (sodyum klorür) (Merck, 6400, Almanya)
- ✓ Glycerol (%85 Ph,Eur,BP. İSOLAB)
- ✓ Kenevir Tohumu Yağı (Awe cemre, Türkiye)
- ✓ Etanol absolute (Sigma, 32221)
- ✓ Ketamine 50 mg/kg (Ketalar; Parke Davis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye)
- ✓ xylazine 10 mg/kg (Rompun; Bayer AG, Leverkusen, Almanya)
- ✓ Fosfat tamponu (PBS)
- ✓ MPO Kiti (Myeloperoxidase Activity Colorimetric Assay Kit, BioVision, Catalog #K744-100, ABD)
- ✓ MDA Kiti (Lipid Peroxidation Colorimetric/Fluorometric Assay Kit, BioVision, Catolog #K739-100, ABD)
- ✓ GSH Kiti (GSH Assay Kit, Cat. No. #K 762 100, BioVision, Milpitas, CA, ABD)
- ✓ SOD Kiti (Süperoxide Dismutase Activity Assay Kit, BioVision, Catalog #K264 100, ABD)
- ✓ CAT Kiti (Catalase activity Colorimetric/Fluorometric Assay Kit, BioVision, Catolog #K773-10, ABD)
- ✓ Rat TNF- α ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no: 201-11-0765)
- ✓ Rat IL-1Beta ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no: 2011-11-0120)
- ✓ Rat HIF 1 A ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no: 201-11-1371)
- ✓ Rat Caspase 3 ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no: SRB-T-81638)
- ✓ Rat IL-6 ELİSA Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no: 201-11-0136)
- ✓ Rat Creatinin Elisa Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no: 201-11-0308)
- ✓ Rat Urea Elisa Kit (SunRed Biotechnology Company China lot no:201-11-1733)
- ✓ Hematoksilen (Haematoxyclin Mayer's, Bio-optica, Catolog # 05-06002/L, İtalya)
- ✓ Eozin (Eosin Aqueous, Bio-optica, Catolog # 05-10002/L, İtalya)
- ✓ Entellan (Entellan new rapid mounting medium for microscopy, Merck, Catolog # M107961.0500)
- ✓ Formaldehit (Formaldehyde Solution Min. 37% Stabilized With About 10% Methanol, Merck, Catolog # 1.040.022.500)

- ✓ Ksilen (Ksilen (İzomerleri Karışımı) Extra pure, Tekkim, Catolog # TK.090270.01000)
- ✓ Parafin (Parafin Boncuk 56-58 C, Tekkim, Catolog # TK.200661.05004)
- ✓ Sıçan yemi (Bil-Yem Gıda San. Ve Tic. Ltd Şti. Standart rat yemi)

3.8. Kenevir Tohumu Yağı

% 99 oranında temizlenmiş kenevir tohumlarından, organik üretim süreçleri ve soğuk presleme yöntemiyle elde edilmiştir. Organik Ürün Sertifika Numarası TR-OT-27.0864.19.0 Awe cemre (İstanbul, Türkiye) Awe Laboratories Kenevir Tohumu Yağı, %18 oranında Omega-3 ve %55 oranında Omega-6 içerir.



Resim 8. Kenevir tohumu yağı (Awecemre, İstanbul, Türkiye)

4. BULGULAR

4.1. Ağırlık Ölçümleri

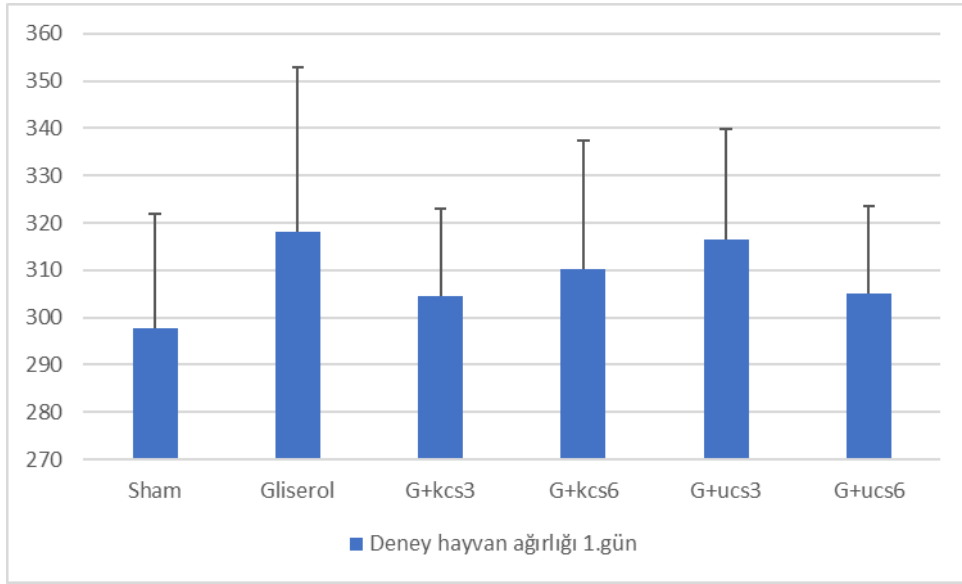
Çalışmamızda yem ve su kısıtlamasına gidilmemiş, ad libitum yem ve su verilmiştir. Yeme içmeyi engelleyici veya teşvik edici müdahalelerden kaçınılmıştır. Deneyin ilk günü ve MABH oluşturulmadan önce ve oluşturulduktan sonra 24 saat arayla 15.00-17.00 arasında deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi. Sakrifikasyon işleminden önce sıçanlar baygın halde iken son ölçümler alınmıştır. Elde edilen sonuçlar ilk gün ve son gün ölçümleri arasındaki farklar gruplar arasında karşılaştırıldı.

Tablo 5. Gruplar arası ağırlık ölçüm değerleri

	Kontrol	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6	p
Deney hayvan ağırlığı 1.gün	297,8 ±24,027	318,1 ±34,691	304,4 ±18,704	310,3 ±27,15	316,6 ±23,225	305 ± 18,643	0,534 ^y
Deney hayvan ağırlığı 10.gün	314,7 ±24,336	311,7 ± 33,243	294,7 ± 18,703	303,6 ± 28,698	312,6 ± 26,103	301,7 ± 19,488	0,474 ^y

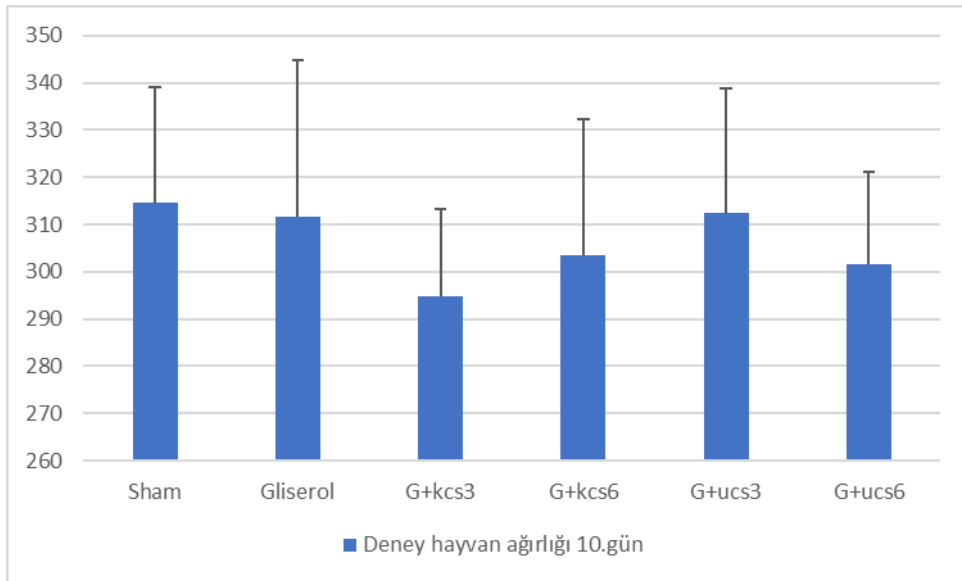
^x Kruskall Wallis H Testi; ^y Tek Yönlü Varyans Analizi; ^{a-d} aynı harfe sahip gruplar arasında bir fark yoktur. Ortalama ± standart sapma, Ortanca (minimum-maksimum) p<0,05 anlamlı kabul edildi.

Tablo 5 ve Şekil 15’de ki grafikte gösterildiği gibi gruplara göre ortalama deney hayvan ağırlığı 1.gün değerleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edildi (p=0,534). Sham grubunda ortalama değer 297,8 gr iken, Gliserol grubunda 318,1 gr, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 304,4 gr, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 310,3 gr, Uzun süreli düşük doz tedavisi (G+UCS3) grubunda 316,6 gr ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 305 gr olarak kaydedildi.



Şekil 15. Deney hayvan ağırlığı 1.gün değerleri

Tablo 5 ve Şekil 16’da ki grafikte gösterildiği gibi gruplara göre ortalama deney hayvan ağırlığı 10.gün değerleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edildi ($p=0,474$). Sham grubunda ortalama değer 314,7 gr iken, Gliserol grubunda 311,7 gr, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 294,7 gr, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 303,6, Uzun süreli düşük doz tedavisi (G+UCS3) grubunda 312,6 gr ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 301,7 gr olarak kaydedildi.



Şekil 16. Deney hayvan ağırlığı 10.gün değerleri

4.2.Biyokimyasal Bulgular

Çalışmamızda; %50 hipertonic gliserol ile gerçekleştirilen deneysel miyoglobinürik böbrek hasarı modelinde kenevir tohumu yağının farklı doz ve sürelerde uygulanmasının etkileri histolojik, biyokimyasal ve fizyolojik olarak değerlendirildi. Biyokimyasal analiz sonuçları tablolar ve grafikler halinde gösterildi. Aşağıda sunulan tablo 6’da tüm biyokimya sonuçları toplu halde görülmektedir.

Tablo 6. Biyokimyasal Parametreler. Tüm sonuçlar ortalama ($\pm$ SD) olarak sunuldu. (Sham grubu c : $p \leq 0,001$; d: $p \leq 0,005$; Gliserol grubu a: $p \leq 0,001$; b: $p \leq 0,005$; G+KCS3 grubu e: $p \leq 0,001$; G+KCS6 grubu f: $p \leq 0,001$).

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6	P değeri
MDA nmol/g	(226,253) ^a $\pm 12,372$	(271,05) ^c $\pm 10,479$	(251,74) ^{ac} $\pm 11,179$	(243,157) ^{ac} $\pm 8,462$	(237,025) ^{ac} $\pm 12,464$	(229,335) ^{ae} $\pm 18,173$	$\leq$ 0,001^x
GSH nmol/mg	(20,062) ^a $\pm 4,367$	(8,293) ^c $\pm 1,832$	(11,365) ^{ac} $\pm 1,671$	(12,366) ^{ac} $\pm 1,279$	(15,902) ^a $\pm 2,731$	(18,424) ^a $\pm 3,834$	$\leq$ 0,001^x
MPO U/g	(16,261) ^a $\pm 5,834$	(25,046) ^d $\pm 3,459$	(20,661) $\pm 5,321$	(20,8) $\pm 4,607$	(18,312) $\pm 4,453$	(17,212) ^b $\pm 4,674$	$\leq$ 0,005
CAT mU/ml	(50,822) ^a $\pm 12,809$	(28,96) ^c $\pm 10,033$	(40,83) $\pm 13,245$	(41,17) $\pm 11,124$	(45,734) ^a $\pm 11,254$	(48,919) ^a $\pm 10,377$	$\leq$ 0,001
SOD U/mg	32,992 $\pm 5,342$	25,855 $\pm 4,576$	31,317 $\pm 4,566$	30,406 $\pm 4,227$	31,121 $\pm 6,837$	32,112 $\pm 5,049$	0,054
HIF1 A ng/L	(744,327) ^a $\pm 111,943$	(1500,566) ^c $\pm 106,385$	(1334,649) ^c $\pm 73,069$	(1148,097) ^{ac} $\pm 69,39$	(1134,642) ^{ac} $\pm 111,792$	(946,499) ^a $\pm 153,018$	$\leq$ 0,001
Caspase-3 ng/ml	(1,953) ^a $\pm 0,325$	(4,998) ^c $\pm 0,443$	(3,548) ^c $\pm 0,373$	(3,356) ^c $\pm 0,328$	(2,39) ^a $\pm 0,206$	(2,092) ^{ae} $\pm 0,303$	$\leq$ 0,001
TNF Alfa ng/L	(158,184) ^a $\pm 12,887$	(259,901) ^c $\pm 56,127$	(224,211) ^c $\pm 15,951$	(209,177) ^c $\pm 6,583$	(199,267) ^a $\pm 5,983$	(171,602) ^{ae} $\pm 21,7$	$\leq$ 0,001
IL-1 β pg/L	(929,039) ^{ae} $\pm 52,802$	(1402,042) ^c $\pm 81,895$	(1214,653) ^{ac} $\pm 34,198$	(1134,842) ^{ac} $\pm 21,869$	(1081,649) ^{ae} $\pm 27,927$	(1028,248) ^{ae} $\pm 40,255$	$\leq$ 0,001
IL-6 pg/ml	(78,506) ^a $\pm 13,423$	(199,19) ^c $\pm 18,534$	(129,153) ^c $\pm 10,003$	(133,901) ^c $\pm 23,904$	(108,208) ^a $\pm 3,457$	(97,014) ^{ae} $\pm 11,27$	$\leq$ 0,001
BUN mmol/L	(1,475) ^a $\pm 0,194$	(3,16) ^c $\pm 0,323$	(2,019) ^c $\pm 0,196$	(1,792) ^a $\pm 0,38$	(1,843) ^a $\pm 0,168$	(1,727) ^a $\pm 0,184$	$\leq$ 0,001
Kreatinin umol/L	(155,28) ^a $\pm 20,918$	(333,178) ^c $\pm 31,596$	(257,64) ^c $\pm 12,049$	(220,797) ^c $\pm 3,795$	(213,388) ^a $\pm 7,845$	(192,263) ^{ae} $\pm 8,396$	$\leq$ 0,001

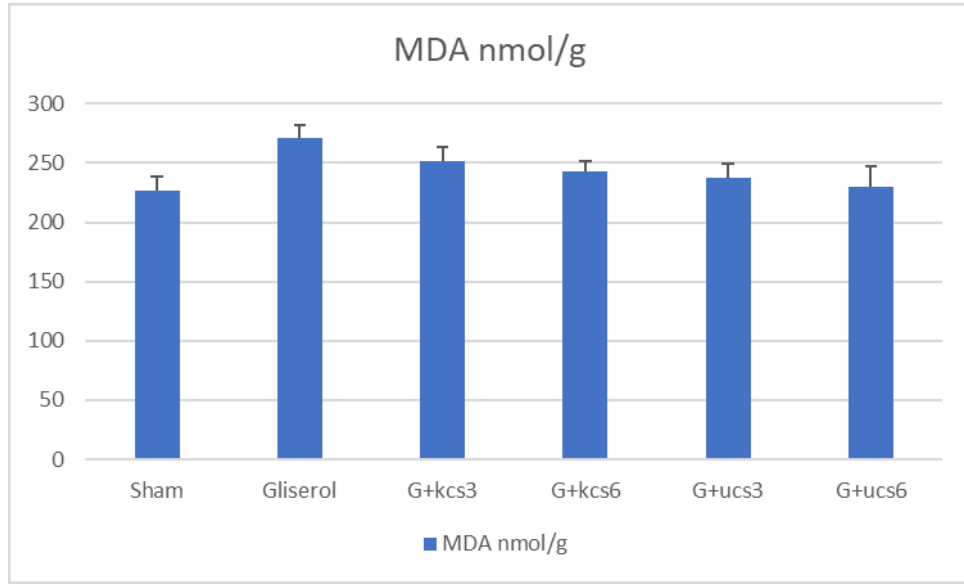
2.1.Doku Malondialdehit Düzeyi

Gruplara göre ortalama MDA nmol/g değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Sham grubunda ortalama değer (OD) 226,253 ($\pm 12,372$) nmol/g iken,

Gliserol grubunda (OD) 271,05 ($\pm 10,479$) nmol/g, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda (OD) 251,7474 ($\pm 11,179$) nmol/g; Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda (OD) 243,157 ($\pm 8,462$) nmol/g, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda OD 237,025 ($\pm 12,464$) nmol/g ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda (OD) 229,335 ($\pm 18,173$) nmol/g olarak elde edildi. Gruplar arası Sham ile Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Gliserol ile Tüm tedavi grupları (G+KCS3, G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup Gliserol grubunda lipid peroksidasyonu MDA seviyesi anlamlı olarak artış gösterdi ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında; Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları ile Uzun süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+KCS6 ve G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz tedavi grubu ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Uzun süreli yüksek doz kenevir tohumu yağı uygulaması, diğer tedavi gruplarına kıyasla MDA seviyesini önemli ölçüde azalmasına neden oldu. Tüm grupların böbrek dokusu MDA düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 7 ve şekil 17) sunuldu.

Tablo 7. Tüm grupların MDA düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (nmol/g)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$
Gliserol	$p<0,001$		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$
G+KCS3	$p<0,001$	$p<0,001$		$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,001$
G+KCS6	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
G+UCS3	$p>0,05$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$		$p>0,05$
G+UCS6	$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	



Şekil 17. Gruplara göre MDA düzeylerinin dağılımı

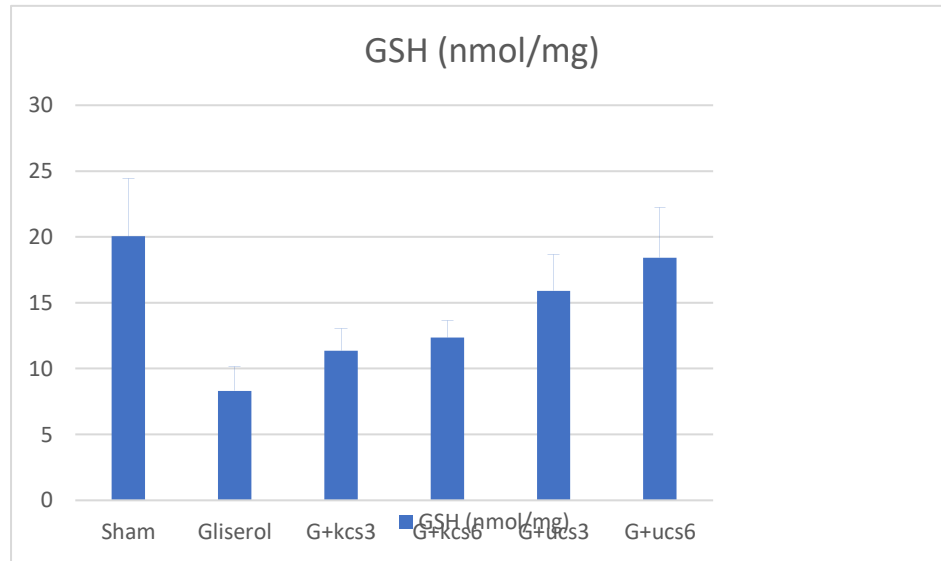
4.2.2.Doku Glutasyon Düzeyi

Gruplara göre ortalama GSH (nmol/mg) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortalama değer $20,062 (\pm 4,367)$ iken, Gliserol grubunda $8,293 (\pm 1,832)$, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda $11,365 (\pm 1,671)$, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda $12,366 (\pm 1,279)$, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda $15,902 (\pm 2,731)$ ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda $18,424 (\pm 3,834)$ olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. Gliserol ile tüm tedavi grupları arasında (G+KCS3, G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları arasında (G+KCS3 ile G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS3 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz tedavi grubu ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Sonuçlar kenevir tohumu yağı uygulamasının

antioksidan gücü artırdığını gösterdi. Tüm grupların doku glutatyon düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 8 ve şekil 18) gösterildi.

Tablo 8. Tüm grupların doku GSH düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (nmol/mg)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p<0,001		p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p<0,001	p>0,05		p<0,001	p<0,001
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	



Şekil 18. Gruplara göre glutatyon (GSH) düzeylerinin dağılımı

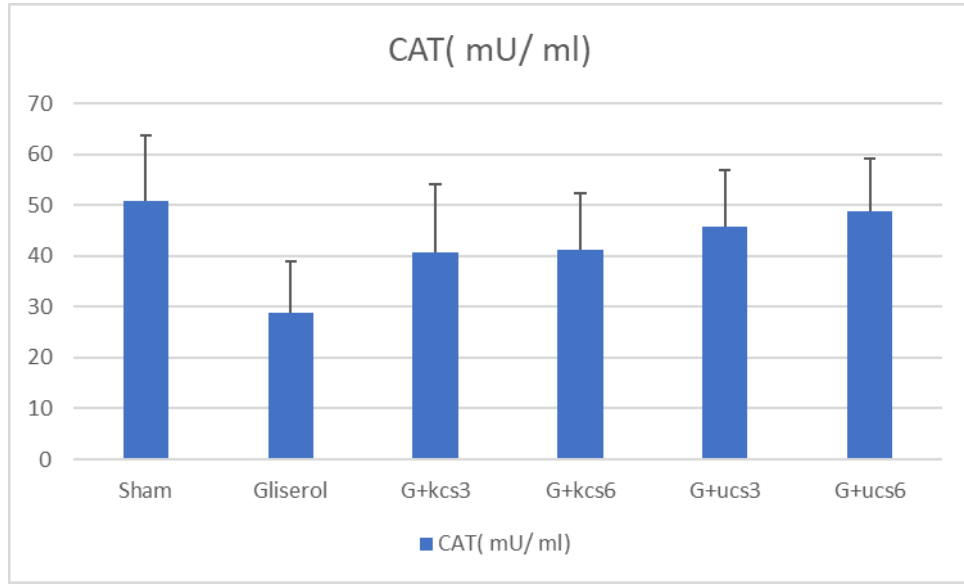
4.2.3.Doku CAT Düzeyi

Gruplara göre ortalama CAT (mU/ ml) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi (p=0,001). Sham grubunda ortalama değer 50,822 (±12,809) iken, Gliserol

grubunda 28,96 ($\pm 10,033$) mU/ml, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 40,83 ($\pm 13,244$) mU/ml, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 41,17 ($\pm 11,124$) mU/ml, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 45,734 ($\pm 11,254$) mU/ml ve Uzun süreli yüksek doz tedavi G+UCS6 grubunda 48,919 ($\pm 10,376$) mU/ml olarak elde edildi. Sham ile Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS3, G+KCS6 ile G+UCS3, G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p=0,001$). Gliserol ile Kısa süreli tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli tedavi grupları arasında (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p=0,001$). Kısa süreli ve Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları kendi aralarında (G+KCS3 ile G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Bu sonuçlar özellikle uzun süreli tedavinin böbrek hasarının katalaz üzerine olan etkilerinin giderilmesinde öneme sahip olduğunu gösterdi. Tüm grupların doku CAT düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 9 ve şekil 19) gösterildi.

Tablo 9. Tüm grupların CAT düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (mU/ml) gösterildi.

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p=0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p=0,001		p>0,05	p>0,05	p=0,001	p=0,001
G+KCS3	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+KCS6	p>0,05	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p=0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p=0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05	



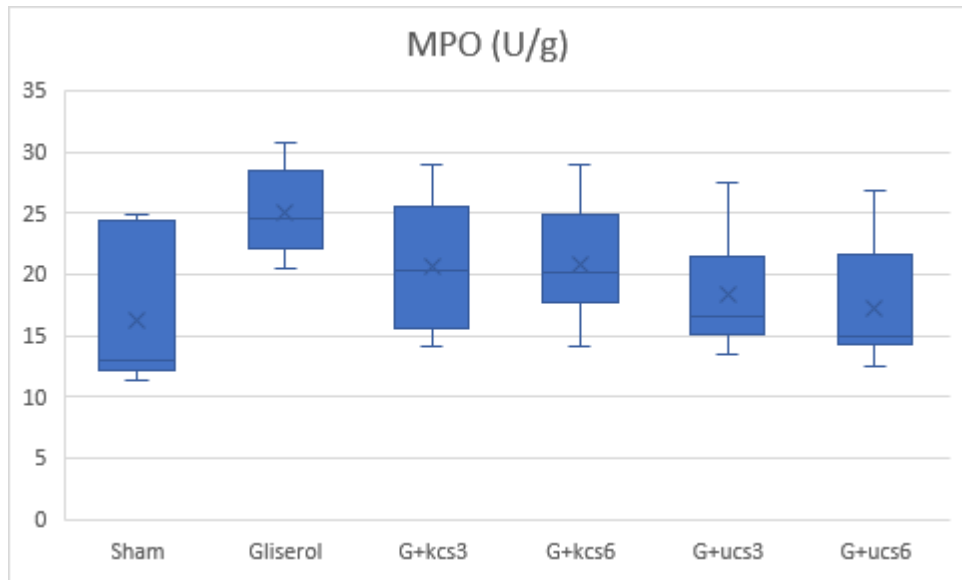
Şekil 19. Gruplara göre CAT aktivitesi düzeylerinin dağılımı (mU/ml)

4.2.4.Doku Miyeloperoksidaz Enzim Düzeyi

Gruplara göre ortalama MPO (U/g) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p \leq 0,005$). Grafikte gösterildiği gibi, MPO aktivitesi en yüksek sadece gliserol uygulaması olan Gliserol grubunda ortalama değer $25,046 (\pm 3,459)$ U/g belirlendi. Sham grubunda ortalama değer $16,261 (\pm 5,834)$ U/g iken, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda $20,661 (\pm 5,321)$ U/g, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda $20,8 (\pm 4,607)$ U/g, Uzun süreli düşük doz tedavi grubunda (G+UCS3) grubunda $18,312 (\pm 4,453)$ U/g ve Uzun süreli yüksek doz tedavi grubunda (G+UCS6) grubunda $17,212 (\pm 4,674)$ U/g olarak elde edilmiştir. Sham ile tüm tedavi grupları (G+KCS3, G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p \leq 0,005$). Gliserol ile G+KCS3, G+KCS6 ve G+UCS3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p \leq 0,005$). Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS3 ile G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Sonuçlar, kenevir tohumu yağı uygulamasının doza ve süreye bağlı olarak MPO aktivitesini azalttığını gösterdi. Tüm grupların doku MPO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 10 ve şekil 20) sunuldu.

Tablo 10. Tüm grupların doku MPO düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (U/g)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p ≤0,005	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p ≤0,005		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p ≤0,005
G+KCS3	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+KCS6	p>0,05	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p ≤0,005	p>0,05	p>0,05	p>0,05	



Şekil 20. Gruplara göre MPO aktivitesi düzeylerinin dağılımı (U/g)

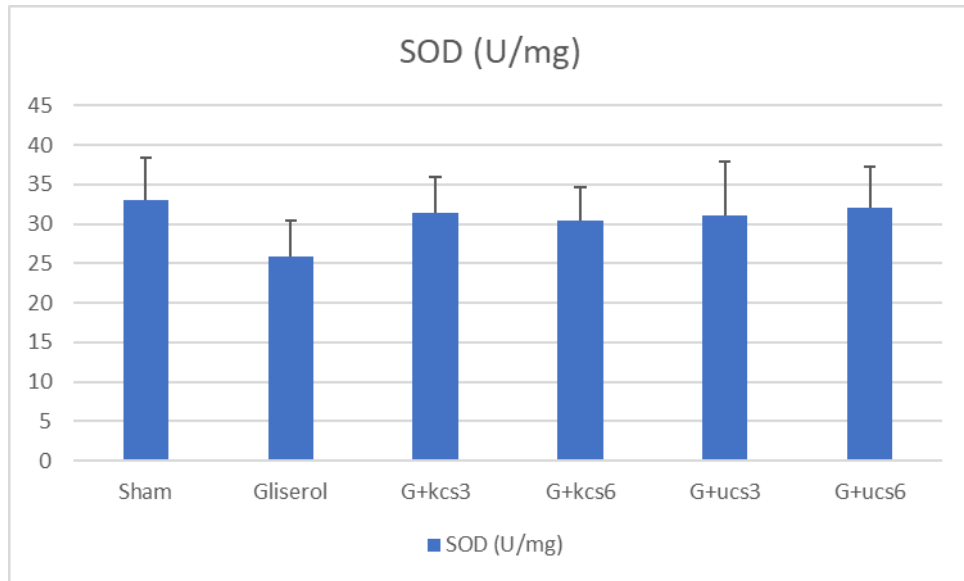
4.2.5.Doku Süperoksit Dismutaz Enzim Düzeyi

Gruplara göre ortalama SOD (U/mg) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edildi (p=0,054). Sham grubunda ortalama değer 32,992 (± 5,342) U/mg iken, Gliserol grubunda 25,855 (± 4,576)0 U/mg, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 31,317 (± 4,566) U/mg, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 30,406 (± 4,227) U/mg, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 31,121(± 6,837) U/mg ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 32,112 (± 5,049) U/mg olarak elde edildi. Tüm

grupların doku SOD düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 11 ve şekil 21) sunuldu.

Tablo 11. Tüm grupların doku SOD düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (U/mg)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+KCS3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+KCS6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05



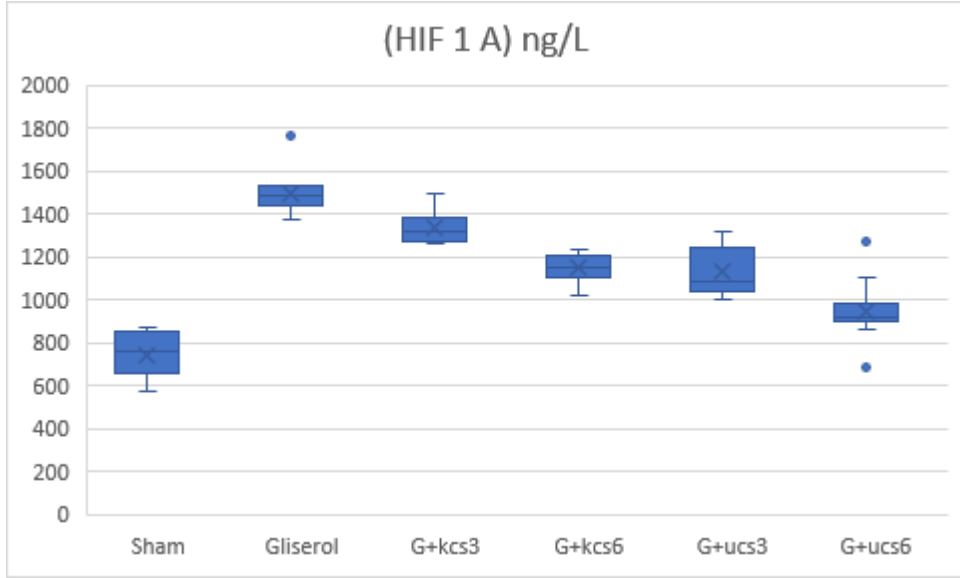
Şekil 21. Gruplara göre SOD aktivitesi düzeylerinin dağılımı

4.26. Doku HIF 1A Düzeyi

Gruplara göre ortanca (HIF1A) ng/L değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortalama değer 744,327 ($\pm 111,943$) ng/L iken, Gliserol grubunda 1500,566 ($\pm 106,385$) ng/L, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 1334,649 ($\pm 73,069$) ng/L, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 1148,097 ($\pm 69,39$) ng/L, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 1134,642 ($\pm 111,792$) ng/L ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 946,499 ($\pm 153,018$) ng/L olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol ve diğer tedavi grupları (G+KCS3, G+KCS6 ve G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile diğer tedavi grupları (G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında kıyaslandığında sadece Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Sonuçlar, kenevir tohumu yağı uygulamasının doza ve süreye bağlı olarak HIF 1A düzeyini arttırdığını gösterdi. Tüm grupların doku HIF1 A düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 12 ve şekil 22) gösterildi.

Tablo 12. Tüm grupların HIF1 A aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (ng/L)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$
Gliserol	$p<0,001$		$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$
G+KCS3	$p<0,001$	$p>0,05$		$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,001$
G+KCS6	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
G+UCS3	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$
G+UCS6	$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	



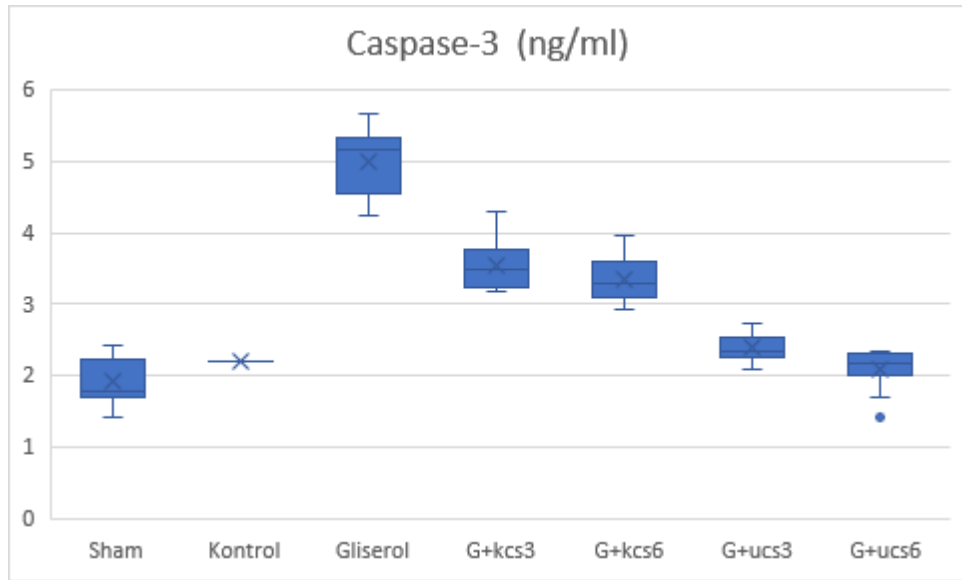
Şekil 22. Gruplara göre (HIF1A) aktivitesi düzeylerinin dağılımı (ng/L)

4.2.7. Doku Caspase -3 Düzeyi

Gruplara göre ortalama Caspase-3 (ng/ml) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortalama değer $1,953 (\pm 0,325)$ ng/ml iken, Gliserol grubunda $4,998 (\pm 0,443)$ ng/ml, G+KCS3 grubunda $3,548 (\pm 0,373)$ ng/ml, G+KCS6 grubunda $3,356 (\pm 0,328)$ ng/ml, G+UCS3 grubunda $2,39 (\pm 0,206)$ ng/ml ve G+UCS6 grubunda $2,092 (\pm 0,303)$ ng/ml olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli tedavi grupları G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken ng/ml Sham ile Gliserol, Kısa süreli tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz tedavi grubu ile Uzun süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS6 ile G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa ve Uzun süreli yüksek doz tedavi grupları (G+KCS6 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Kenevir tohumu yağı uygulamasının Caspase-3 düzeyini azalttığını gösterdi. Tüm grupların doku Caspase-3 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 13 ve şekil 23) sunuldu.

Tablo 13. Tüm grupların doku Caspase 3 aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (ng/ml)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p<0,001
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	



Şekil 23. Gruplara göre Caspase-3 aktivitesi düzeylerinin dağılımı (ng/ml)

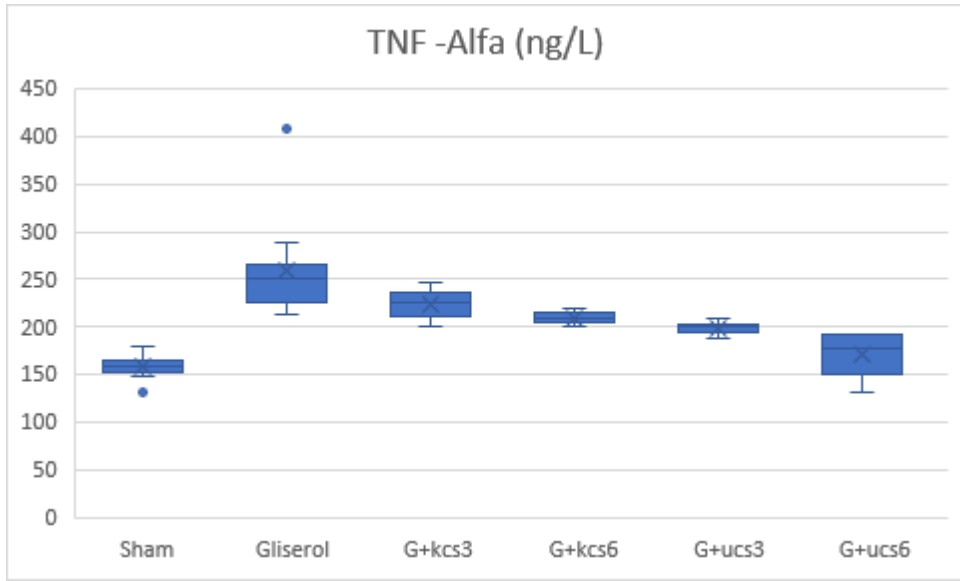
4.2.8. Doku Tümör Nekroz Faktör Alfa Düzeyi

Gruplara göre ortalama TNF-Alfa (ng/L) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi (p<0,001). Kontrol grubunda ortalama değer 158,184 (± 12,887) ng/L iken, Gliserol grubunda 259,901 (±56,127) ng/L, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 224,211(±15,951) ng/L, Kısa süreli, yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 209,177 (± 6,583) ng/L, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 199,267 (± 5,983) ng/L ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 171,602 (± 21,7) ng/L olarak elde edildi.

Sham ile Uzun süreli tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında kıyaslandığında Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Kısa ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6 ile G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ile G+UCS6) kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Tüm grupların doku TNF α düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 14 ve şekil 24) sunuldu.

Tablo 14. Tüm grupların doku TNF Alfa aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (ng/ml)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$
Gliserol	$p<0,001$		$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$
G+KCS3	$p<0,001$	$p>0,05$		$p<0,001$	$p>0,05$	$p<0,001$
G+KCS6	$p<0,001$	$p>0,05$	$p<0,001$		$p>0,05$	$p<0,001$
G+UCS3	$p>0,05$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$		$p>0,05$
G+UCS6	$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	



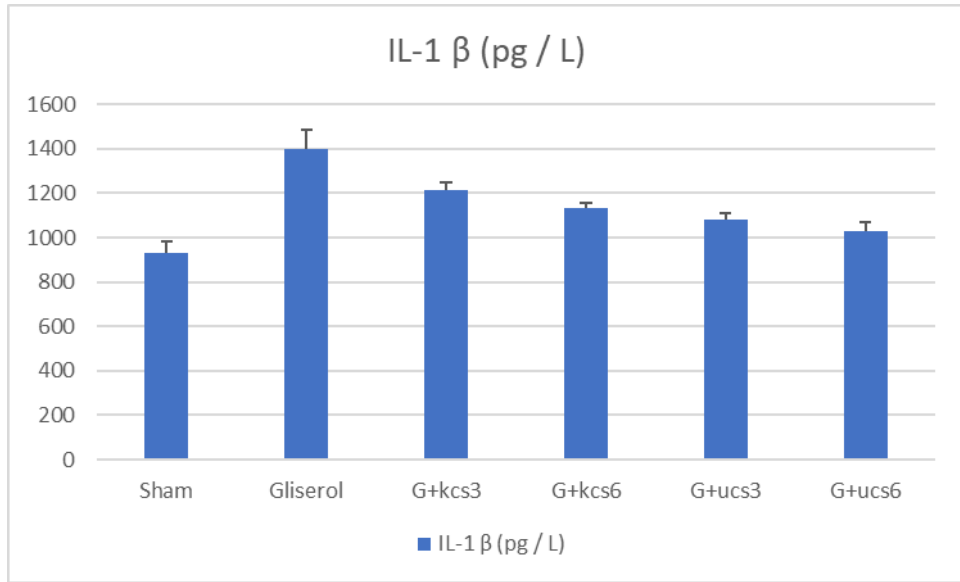
Şekil 24. Gruplara göre TNF-Alfa aktivitesi düzeylerinin dağılımı (ng/L)

4.2.9. Doku İnterlökin 1 Beta Düzeyi

Gruplara göre ortalama değer IL-1 Beta ng/L değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Sham grubunda ortalama değer 958,247 pg/L iken, Gliserol grubunda 1348,588 pg/L, G+ KCS6 grubunda 1138,63 pg/L, G+ UCS3 grubunda 1083,175 ng/L, G +UCS6 grubunda 1033,013 pg/L ve G+KCS3 grubunda 1189,359 pg/L olarak elde edildi. Sham grubunda ortalama değer 929,039 ($\pm 52,802$) ng/L iken, Gliserol grubunda 1402,042 ($\pm 81,895$) ng/L, G+KCS3 grubunda 1214,653 ($\pm 34,198$) pg/L, G+KCS6 grubunda 1134,842 ($\pm 21,869$) pg/L, G+UCS3 grubunda 1081,649 ($\pm 27,927$) pg/L ve G+UCS6 grubunda 1028,248 ($\pm 40,255$) pg/L olarak elde edildi. Sham ile Gliserol, G+KCS3, G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0,001$). Gliserol ile G+KCS3, G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,001$). G+KCS3 ile G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0,001$). G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0,001$). G+UCS3 ile G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0,001$). Tüm grupların doku IL-1 β düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 15 ve şekil 25) gösterildi.

Tablo 15. Tüm grupların doku İnterlöklin1 Beta aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltilmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (pg/L)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
Gliserol	p<0,001		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p<0,001		p<0,001	p<0,001	p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p<0,001	p<0,001		p<0,001	p<0,001
G+UCS3	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001		p<0,001
G+UCS6	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	



Şekil 25. Gruplara göre Il-1B aktivitesi düzeylerinin dağılımı (pg/L)

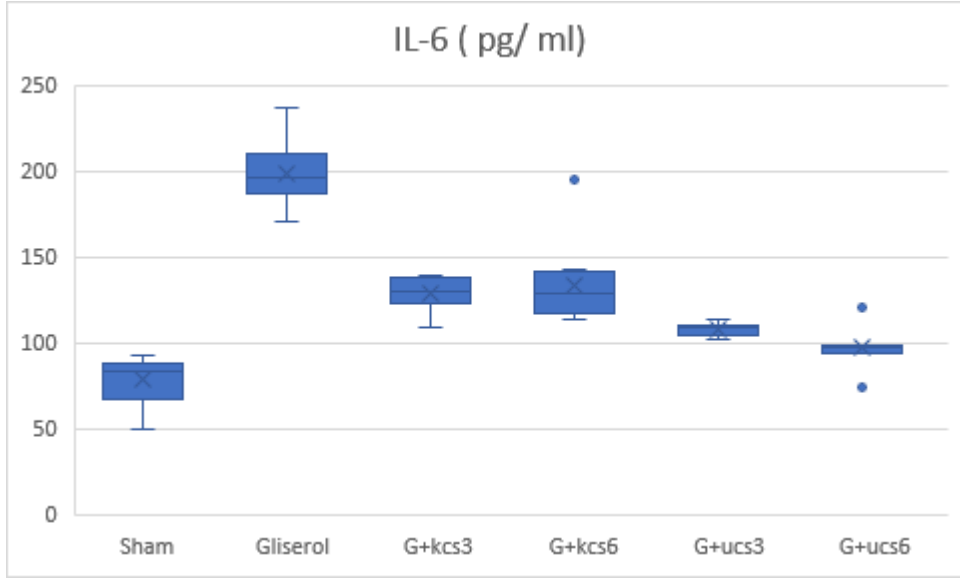
4.2.10. Doku İnterlöklin 6 Düzeyi

Gruplara göre ortanca Il-6 (pg/ ml) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi (p<0,001). Sham grubunda ortalama değer 78,506 (± 13,423) pg/ml iken, Gliserol grubunda 199,19 (± 18,534) pg/ml, G+KCS3 grubunda 129,153 (± 10,003) pg/ml, G+KCS6 grubunda 133,901 (± 23,904) pg/ml, G+UCS3 grubunda 108,208 (± 3,457) pg/ml ve G+UCS6 grubunda 97,014 (± 11,27) pg/ml olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, G+KCS3 ve G+KCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulundu. Gliserol ile tedavi grupları kıyaslandığında Gliserol ile Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Kısa süreli yüksek doz ve Uzun süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+KCS6 ve G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz ile Uzun süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS6 ile G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli yüksek doz ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grupları (G+KCS6 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bulgular ışığında kenevir tohumu yağının doza ve süreye bağlı IL-6 seviyelerinde bir düşüşe yol açtığı Kontrol grubuna en yakın değerlerin Uzun süreli yüksek doz tedavi grubunda elde edilmesi (G+UCS6) doza bağlı etkinin arttığını işaret etmektedir. Tüm grupların doku IL-6 düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 16 ve şekil 26) gösterildi.

Tablo 16. Tüm grupların doku IL- 6 aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (pg/ml)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$		
Gliserol	$p<0,001$		$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$
G+KCS3	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	$p<0,001$
G+KCS6	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$		$p>0,05$	$p>0,05$
G+UCS3	$p>0,05$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$		$p>0,05$
G+UCS6	$p>0,05$	$p<0,001$	$p<0,001$	$p>0,05$	$p>0,05$	



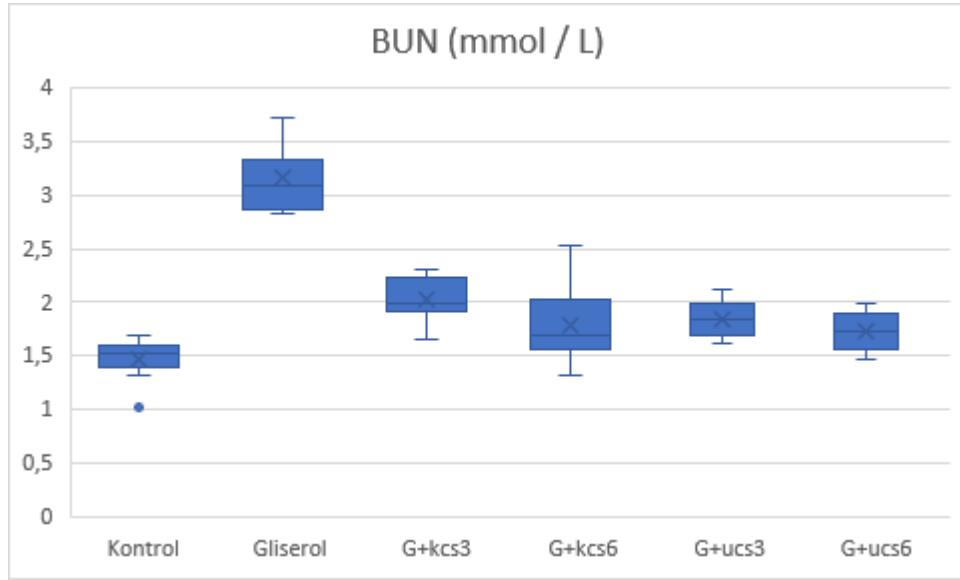
Şekil 26. Gruplara göre Il-6 düzeylerinin dağılımı (pg/ml)

4.2.11.Serum BUN Düzeyi

Gruplara göre ortanca BUN (mmol/L) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortanca değer $1,475 (\pm 0,194)$ mmol/L iken, Gliserol grubunda $3,16 (\pm 0,323)$ mmol/L, Kısa süreli düşük doz tedavi grubunda (G+KCS3) grubunda $2,019 ((\pm 0,196)$ mmol/L, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda $1,792 (\pm 0,38)$ mmol/L, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda $1,843 (\pm 0,168)$ mmol/L ve uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda $1,727 (\pm 0,184)$ mmol/L olarak elde edildi. Sham ile G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol ve Kısa süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. Gliserol ile Kısa süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Kısa süreli yüksek doz ve Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Tüm grupların serum BUN düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 17 ve şekil 27) gösterildi.

Tablo 17. Tüm grupların doku BUN aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (mmol/L)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p>0,05
G+KCS6	p>0,05	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05	



Şekil 27. Gruplara göre BUN düzeylerinin dağılımı (mmol/L)

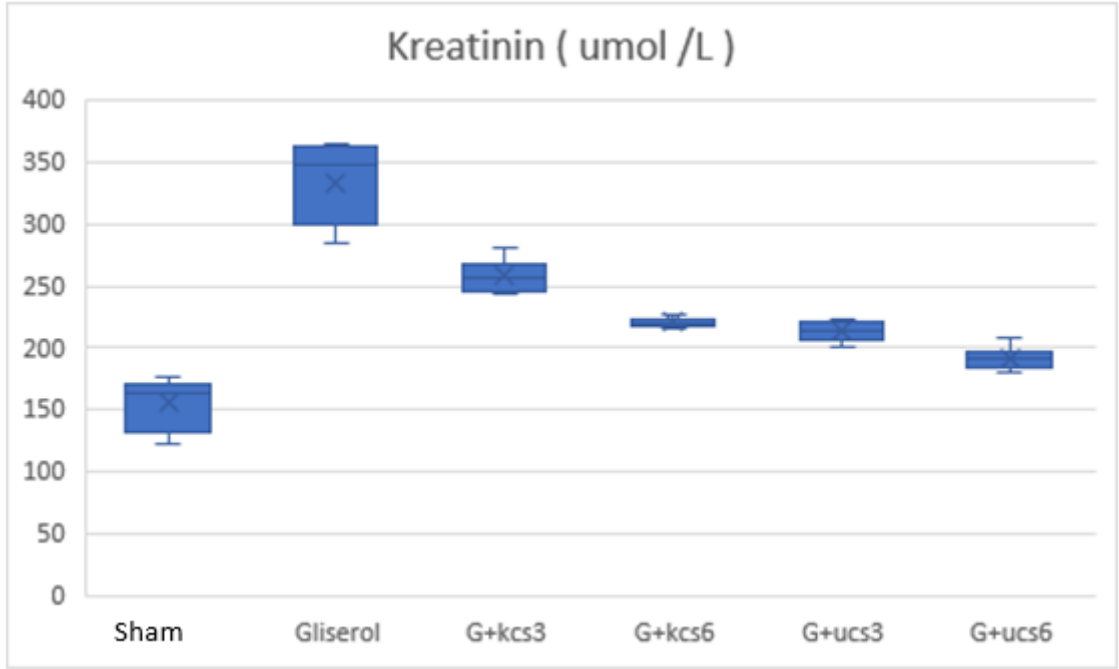
4.2.12. Serum Kreatinin Düzeyi

Gruplara göre ortalama Kreatinin (umol/L) değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi (p<0,001). Sham grubunda ortalama değer 155,28 (±20,918) umol/L iken, Gliserol grubunda 333,178 (±31,596) umol/L, Kısa süreli düşük doz (G+KCS3) grubunda 257,64 (± 12,049) umol/L, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 220,797 (± 3,795) umol/L, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 213,388 (± 7,845) umol/L ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 192,263 (± 8,396) umol/L olarak elde

edildi. Sham ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grubu (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). G+KCS3 ile G+KCS6 ve G+UCS3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. G+UCS3 ile G+UCS6 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Tüm grupların serum Kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 18 ve şekil 28) gösterildi.

Tablo 18. Tüm grupların doku Kreatinin aktivitesi düzeylerinin Bonferroni düzeltmeli post hoc testi sonuçları karşılaştırılması (umol/L)

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05



Şekil 28. Gruplara göre Kreatin düzeylerinin dağılımı (umol/L)

4.3. Histoloji Bulguları

Hematoksilen-eosin (H&E) ile boyanmış böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde, parametrelerin her biri, değişikliklerin hasar derecesine bağlı olarak, 0 ila 3 arasında bir ölçekte derecelendirildi (Abdel-Wahhab ve diğerleri, 1999). Tüm grupların karşılaştırmalı histolojik skorları Tablo 19’da gösterildi.

Tablo 19. Grupların histolojik skorlarının karşılaştırılması

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6	P
İnterstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyon alanları	0 (0-1)a	3 (2-3)c	2 (2-2)c	2 (1-2)c	0,5 (0-1)a	0,5 (0-1)ae	< 0,0001 ^x
İnterstisyel alandaki konjesyon alanları	0 (0 - 1) a	3 (2 - 3) c	2 (2 - 2) c	2 (1 - 2) c	0,5 (0 - 1) ae	0,5 (0 - 1) ae	< 0,0001 ^x
Nekroz alanları	0 (0 - 0) a	3 (2 - 3) c	2 (2 - 3) c	1 (1 - 2) c	1 (1 - 2) a	1 (0 - 1) ae	< 0,0001 ^x
Bowman boşluğunun genişlemesi	0 (0 - 1) a	3 (2 - 3) c	2 (2 - 3) c	1 (1 - 2)	1 (1 - 2)	1 (1 - 1) a	< 0,0001 ^x

(Sham grubu c: $p \leq 0,0001$; Gliserol grubu a: $p \leq 0,0001$; G+KCS3 grubu e: $p \leq 0,0001$).

Bu değerlendirme sonuçlarına göre, Sham grubundaki sıçanlardan alınan böbrek kesitlerinde tübül ve glomerüllerin normal görünümde izlendi skor (0) olup interstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyonu ve konjesyon alanları, nekroz, bowman boşluğunun genişlemesi bulguları saptanmadı.

En yüksek skorların (3) gözlendiği Gliserol grubundaki sıçanlarda tüm parametrelerde bozulma en üst düzeyde saptandı. Tübül epitelinde çok sayıda nekrotik bölge ve çok sayıda tübülde belirgin dilatasyon gözlendi. Lümeneye dökülmüş ve dejenerasyona uğramış çok sayıda epitel olduğu ve interstisyel alandaki konjesyon ve hiperemi daha geniş boyanmış alanlar şeklinde olduğu görüldü, ayrıca granüler yapıda interstisyel alanda mononükleer hücre infiltrasyon birikimleri izlendi. Glomerüller yapılarında bir miktar deformasyon ve yer yer tübüler epitel hücre çekirdeklerinde belirginleşme gözlemlendi.

Tedavi grupları incelendiğinde; kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+KCS3, G+KCS6) gruplarında Gliserol grubuna göre tüm parametrelerde kısmen iyileşme gözlendi. Gliserol grubuna göre daha az bölgede nekroz ve interstisyel mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiş olup tübüller dilatasyonun da daha az alanda geliştiği saptandı.

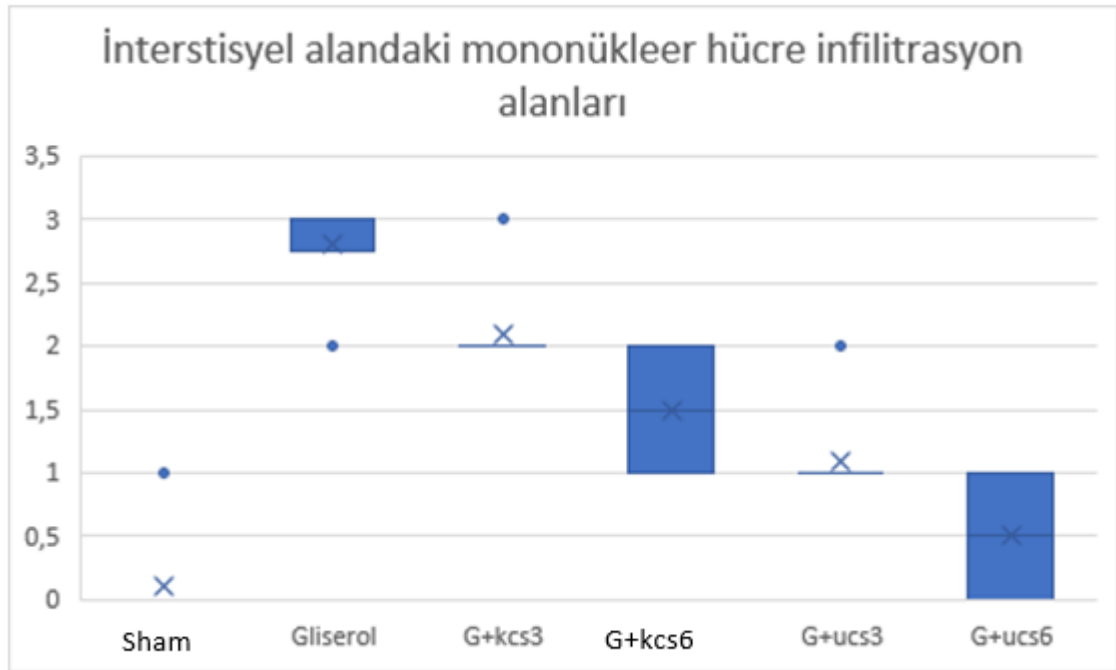
Uzun süreli düşük ve yüksek doz kenevir tohumu yağı uygulanan (G+UCS3; G+UCS6) gruplardaki skorların (0,5) sham grubuna yaklaştığı glomerüllerde bir değişiklik görülmedi. Tübül epitel hücrelerinde bir miktar dejeneratif değişiklik izlendi. Gliserol grubuna göre daha az alanda tübüller dilatasyon gözlemlendi. Bu sonuçlar, gliserol uygulaması sonucu gerçekleşen böbrek örneklerindeki bozulmalara karşı, tedavinin doz ve süreye bağlı şekilde etkili olduğunu histolojik olarak gösterdi. Ayrıca, tedavi grupları kendi içinde değerlendirildiğinde uzun süreli tedavinin iyileşmeyi istatistiksel olarak artırdığı saptandı.

4.3.1. İnterstisyel Alandaki Mononükleer Hücre İnfiltrasyon Alanları

Gruplara göre ortalama değer İnterstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyon alanları değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortalama değer 0 iken, Gliserol grubunda 3, G+KCS3 grubunda 2, G+KCS6 grubunda 1,5, G+UCS3 grubunda 1 ve G+UCS6 grubunda 0,5 olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında Kısa süreli yüksek ve düşük doz ile Uzun süreli düşük doz grupları (G+KCS3 ile G+KCS6 ve G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz ile Uzun süreli yüksek doz (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz ile Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları arasında (G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Uzun süreli yüksek ve düşük doz tedavi grupları arasında (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Tüm grupların interstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyon alanları gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 20 ve şekil 29) gösterildi.

Tablo 20. Gruplar arası İnterstisyel Alandaki Mononükleer Hücre İnfiltrasyon Alanlarının karşılaştırılması

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05		p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	



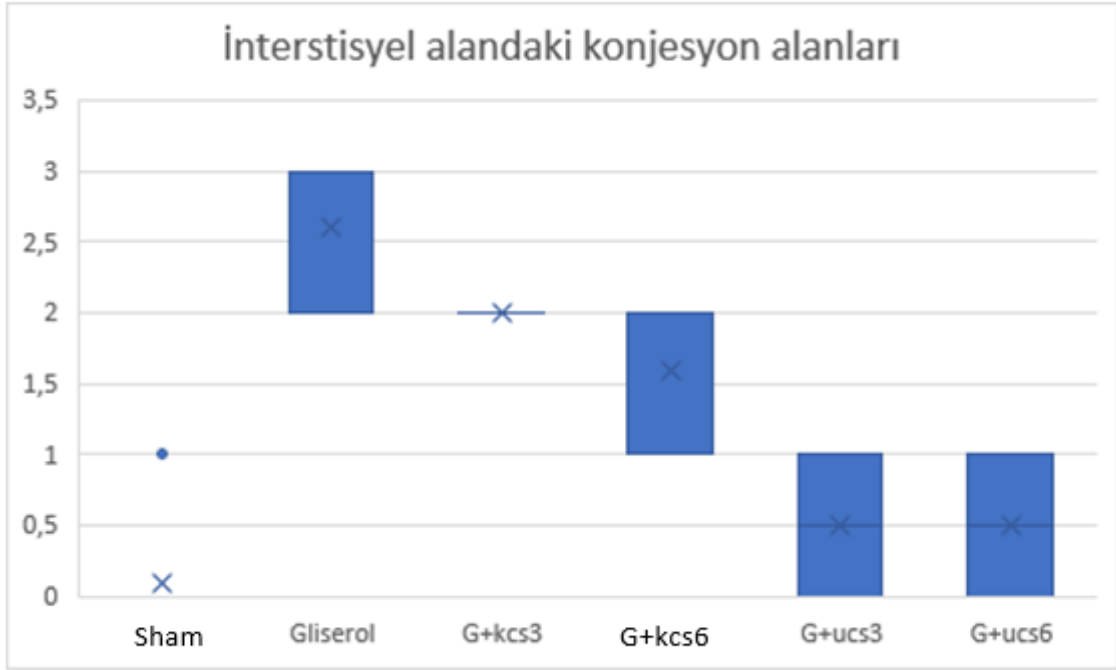
Şekil 29. Gruplara göre interstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyon alanları değerlerinin gösterimi

4.3.2. İnterstisyel Alandaki Konjesyon Alanları

Gruplara göre ortalanca interstisyel alandaki konjesyon alanları değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortalanca değer 0 iken, Gliserol grubunda 3, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 2, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 2, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 0,5 ve Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+UCS6) grubunda 0,5 olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+UCS3 ve G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi (G+KCS3 ve G+KCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi (G+KCS3 ve G+KCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+UCS3 ve G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi (G+KCS3 ile G+KCS6) grupları kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+KCS3 ile G+UCS3 ve G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz tedavi ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Tüm grupların interstisyel alandaki konjesyon alanları gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 21 ve şekil 30) gösterildi.

Tablo 21. Gruplar arası interstisyel alandaki konjesyon alanlarının karşılaştırılması

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	



Şekil 30. Gruplara göre interstisyel alandaki konjesyon alanları değerlerinin gösterimi

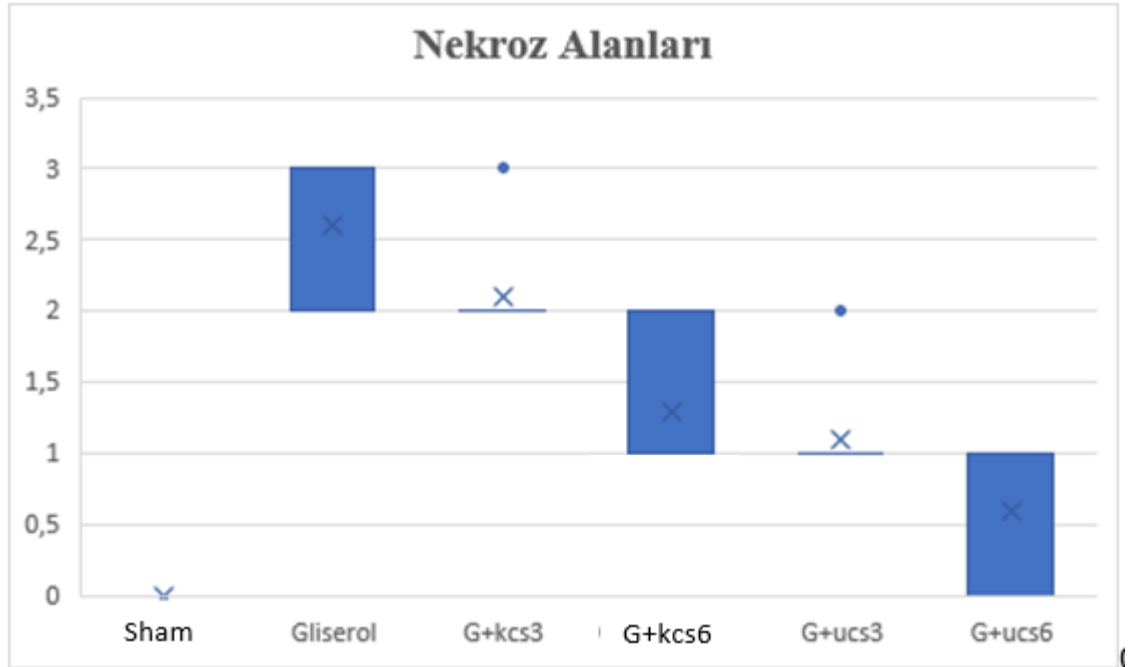
4.3.3. Nekroz Alanları

Gruplara göre ortanca Nekroz alanları değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Sham grubunda ortanca değer 0 iken, Gliserol grubunda 3, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 2, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 1, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 1 ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 1 olarak elde edildi. Sham ile Uzun süreli düşük doz ve yüksek doz tedavi (G+UCS3 ve G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol, Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Gliserol ile, Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+KCS3 ve G+KCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+UCS3 ve G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında; Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları ile Uzun süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+KCS6 ve G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz tedavi ile Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Kısa

sürekli yüksek doz tedavi ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+UCS3 ile G+UCS6) grupları kendi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Tüm grupların nekroz alanları gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 22 ve şekil 31) gösterildi.

Tablo 22. Gruplar arası nekroz alanlarının karşılaştırılması

	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p<0,001
G+KCS6	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p<0,001
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	



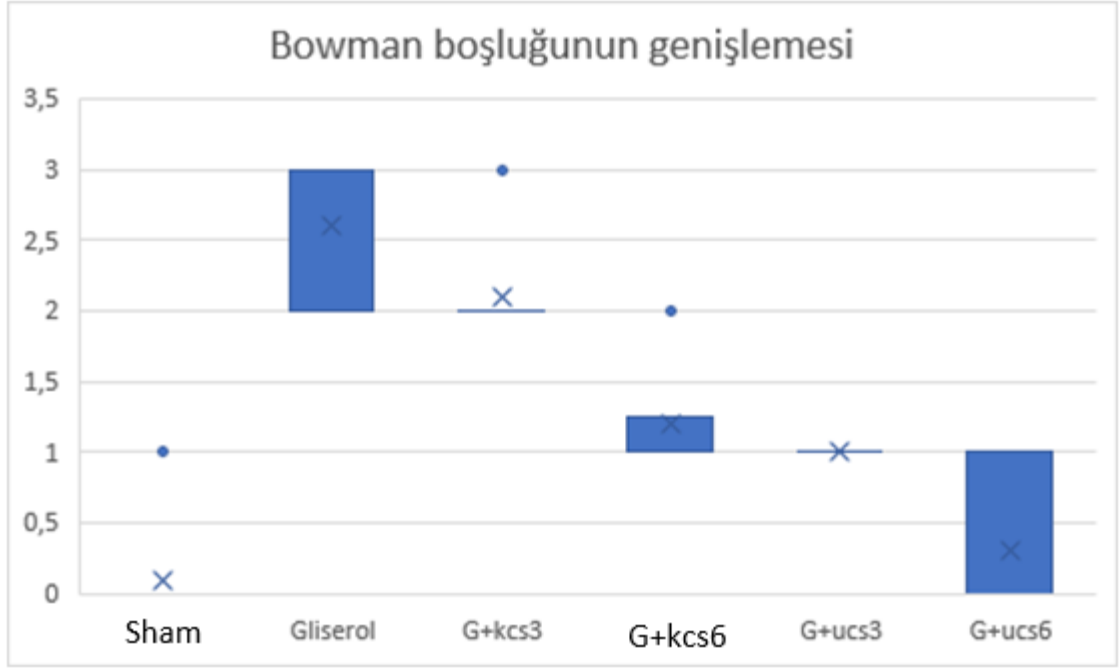
Şekil 31. Gruplara göre nekroz alanları değerlerinin gösterimi

4.3.4. Bowman Boşluğunun Genişlemesi

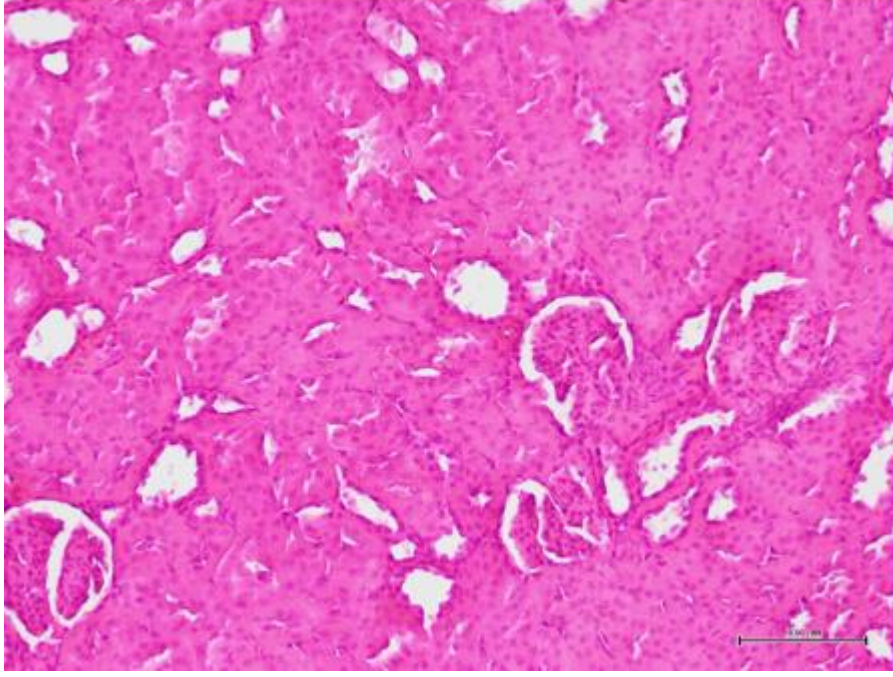
Gruplara göre ortalanca Bowman boşluğunun genişlemesi değerleri arasında istatistiksel olarak fark olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Kontrol grubunda ortalanca değer 0 iken, Gliserol grubunda 3, Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grubunda 2, Kısa süreli yüksek doz tedavi (G+KCS6) grubunda 1, Uzun süreli düşük doz tedavi (G+UCS3) grubunda 1 ve Uzun süreli yüksek doz tedavi (G+UCS6) grubunda 0 olarak elde edildi. Sham ile Kısa süreli yüksek doz tedavi ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi (G+KCS6, G+UCS3 ve G+UCS6) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Sham ile Gliserol ve Kısa süreli düşük doz tedavi (G+KCS3) grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$). Gliserol ile Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS3 ve G+KCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Gliserol ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$). Kısa süreli düşük ve yüksek doz tedavi grubu ile Uzun süreli düşük doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+KCS6 ve G+UCS3) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok iken Kısa süreli düşük doz tedavi grubu ile Uzun süreli yüksek doz tedavi grubu (G+KCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$). Kısa süreli yüksek doz tedavi ile Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi grupları (G+KCS6 ile G+UCS3 ve G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Uzun süreli düşük ve yüksek doz tedavi gurpları (G+UCS3 ile G+UCS6) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Tüm grupların bowman boşluğunun genişlemesi gruplar arası karşılaştırmalı tablo ve grafiği (tablo 23 ve şekil 32) gösterildi.

Tablo 23. Gruplar arası bowman boşluğunun genişlemesinin karşılaştırılması

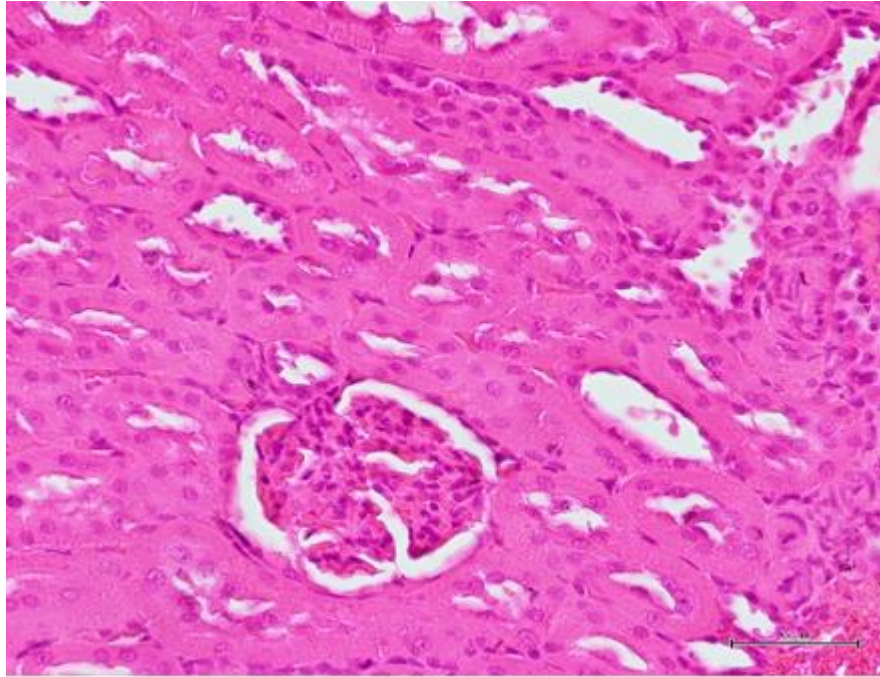
	Sham	Gliserol	G+KCS3	G+KCS6	G+UCS3	G+UCS6
Sham		p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	p>0,05
Gliserol	p<0,001		p>0,05	p>0,05	p<0,001	p<0,001
G+KCS3	p<0,001	p>0,05		p>0,05	p>0,05	p<0,001
G+KCS6	p>0,05	p>0,05	p>0,05		p>0,05	p>0,05
G+UCS3	p>0,05	p<0,001	p>0,05	p>0,05		p>0,05
G+UCS6	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p>0,05	p>0,05	



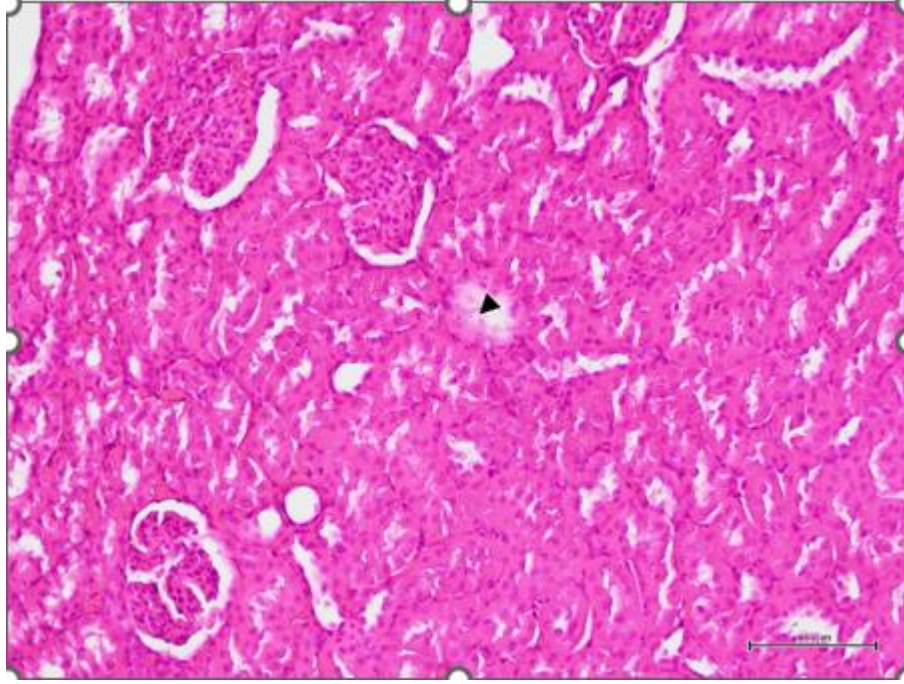
Şekil 32. Gruplara göre bowman boşluğunun genişlemesi değerlerinin gösterimi



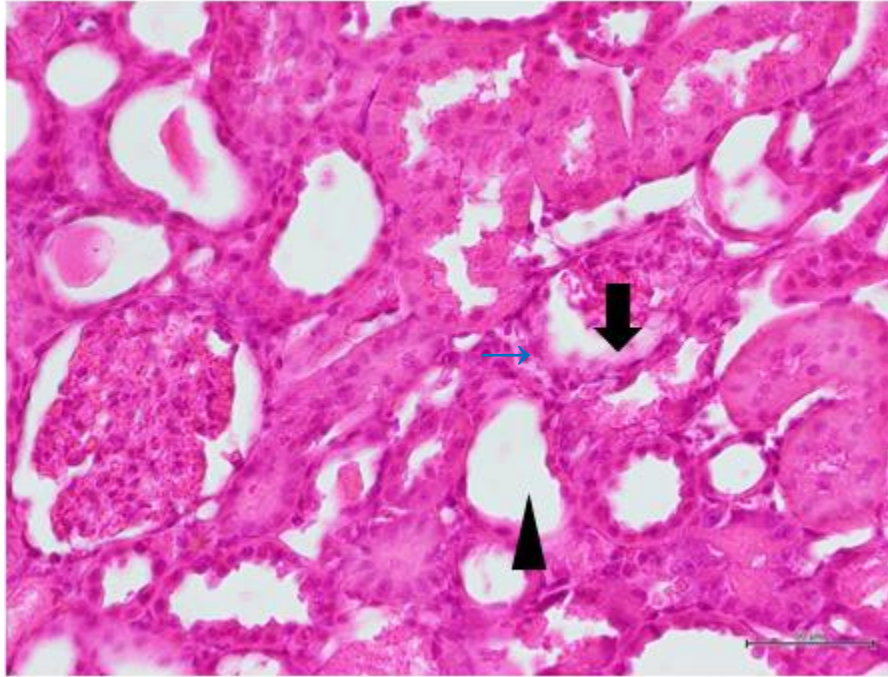
Resim 9. Kontrol (Sham) grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi 200x olup, ölçek 100 mikrometreyi göstermektedir. Normal histolojik bulgular



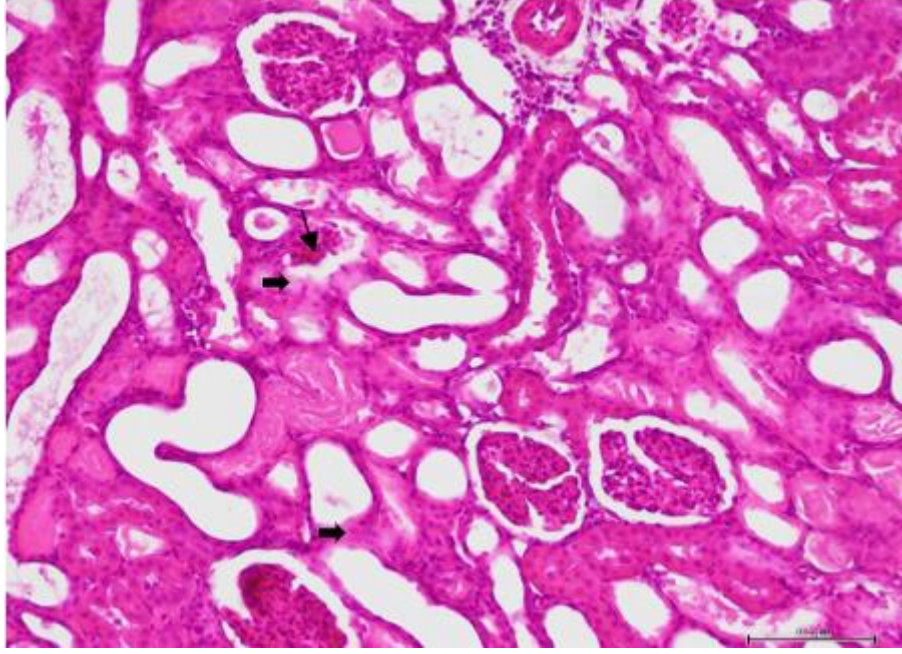
Resim 10. Kontrol (Sham) grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi 400x olup, ölçek 50 mikrometreyi göstermektedir. Normal histolojik bulgular



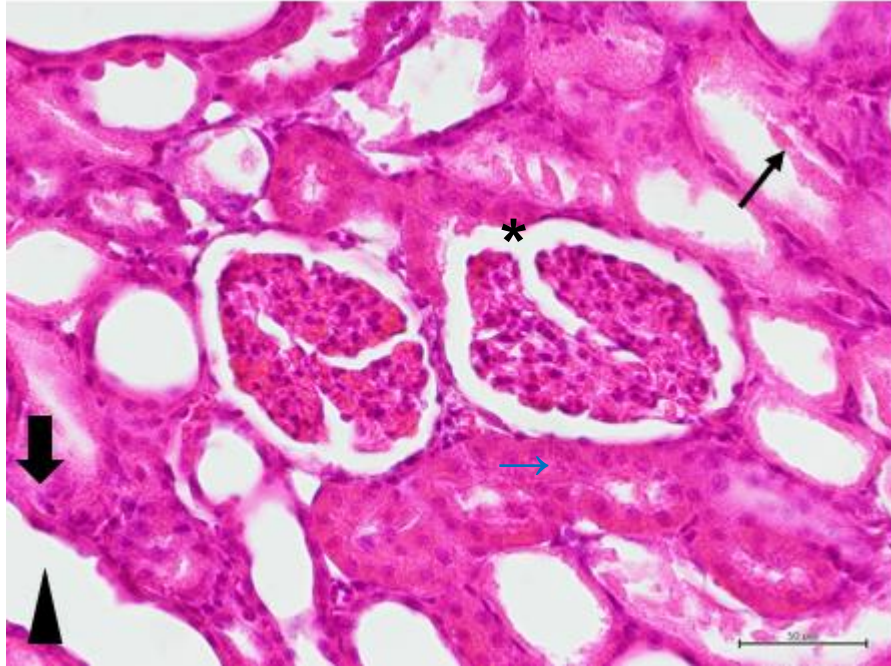
Resim 11. G+ UCS6 grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi 200x olup, ölçek 100 mikrometreyi göstermektedir. Ok uçları dejeneratif bölgeleri belirtmektedir.



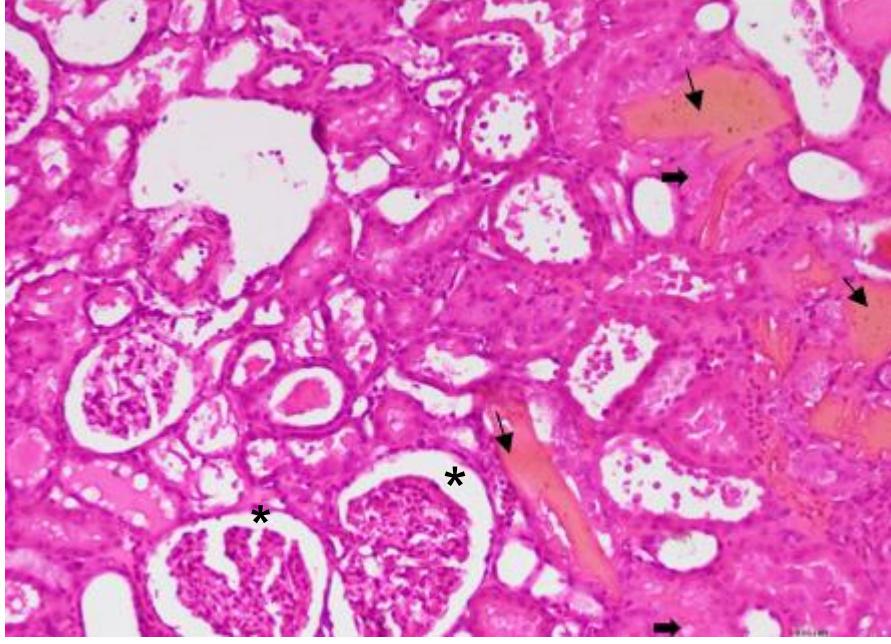
Resim 12. G+UCS6 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 400x olup, ölçek 50 mikrometreyi göstermektedir. Ok ucu tübüler dilatasyonu, kalın ok nekroz alanını, mavi ok mononükleer hücre infiltrasyonunu göstermektedir.



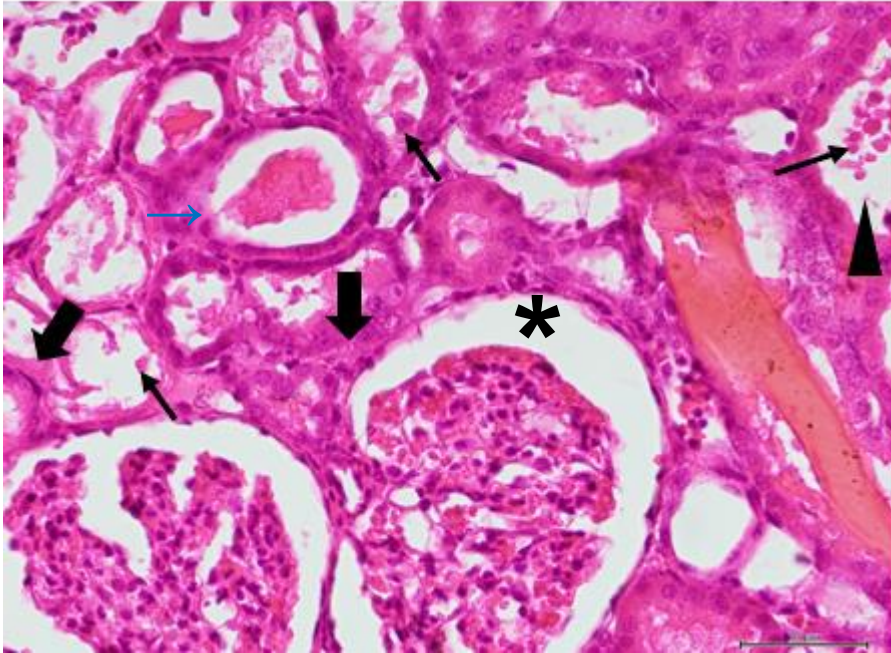
Resim 13. G+UCS3 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 200x olup, ölçek 100 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar konjesyon ve hiperemi alanlarını, ok uçları dejeneratif bölgeleri, kalın oklar nekroz alanlarını göstermektedir.



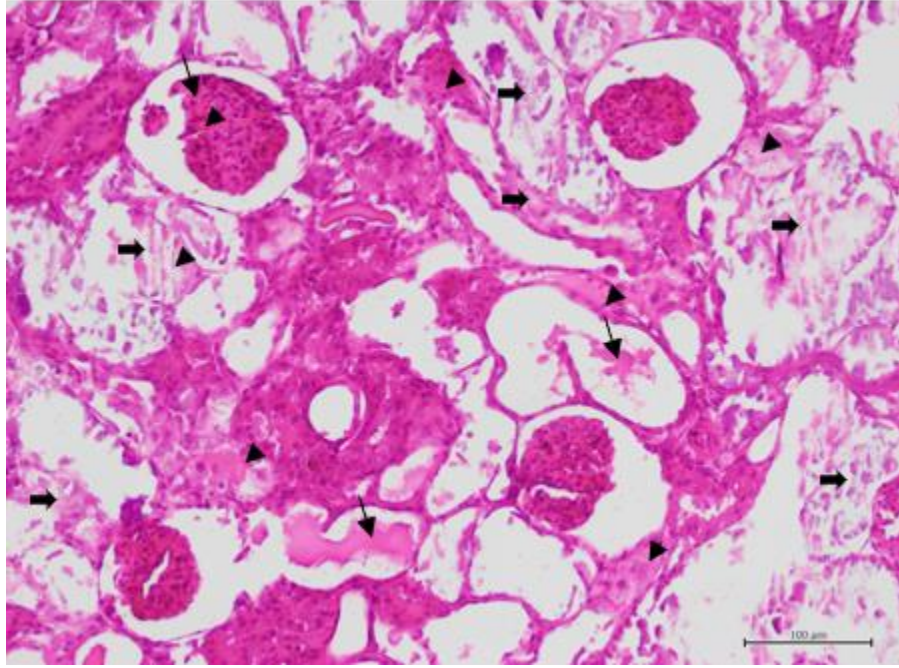
Resim 14. G+UCS3 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 400x olup, ölçek 50 mikrometreyi göstermektedir. İnce ok epitelyal dökülmeyi, ok uçları tübüler dilatasyonu, kalın ok nekroz alanını, yıldız bowman boşluğunun dilatasyonunu, mononükleer hücre infiltrasyonunu göstermektedir.



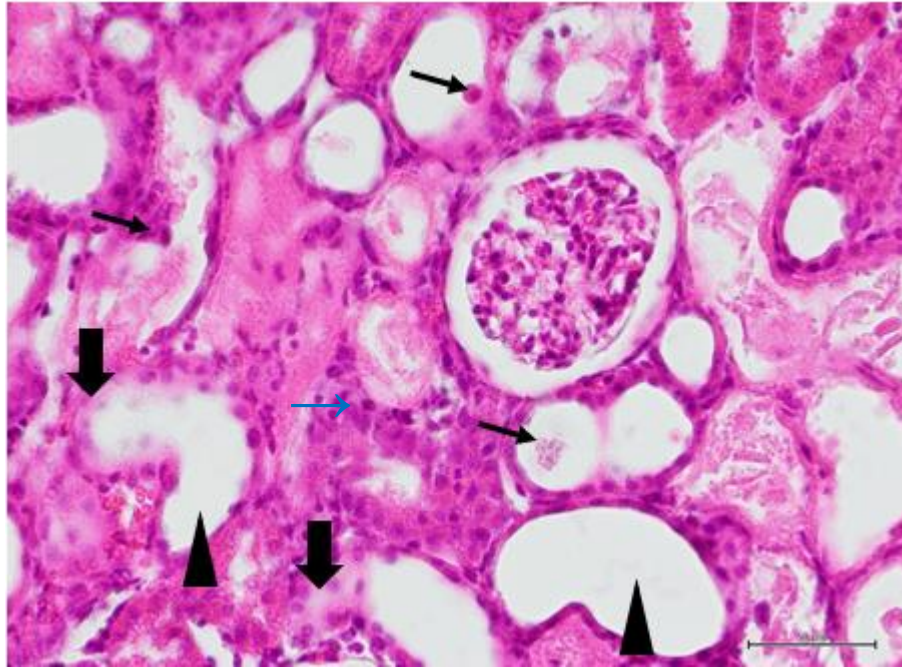
Resim 15. G+KCS6 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 200x olup, ölçek 100 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar konjesyon ve hiperemi alanlarını, kalın oklar nekroz alanlarını, yıldız bowman boşluğunun dilatasyonunu göstermektedir.



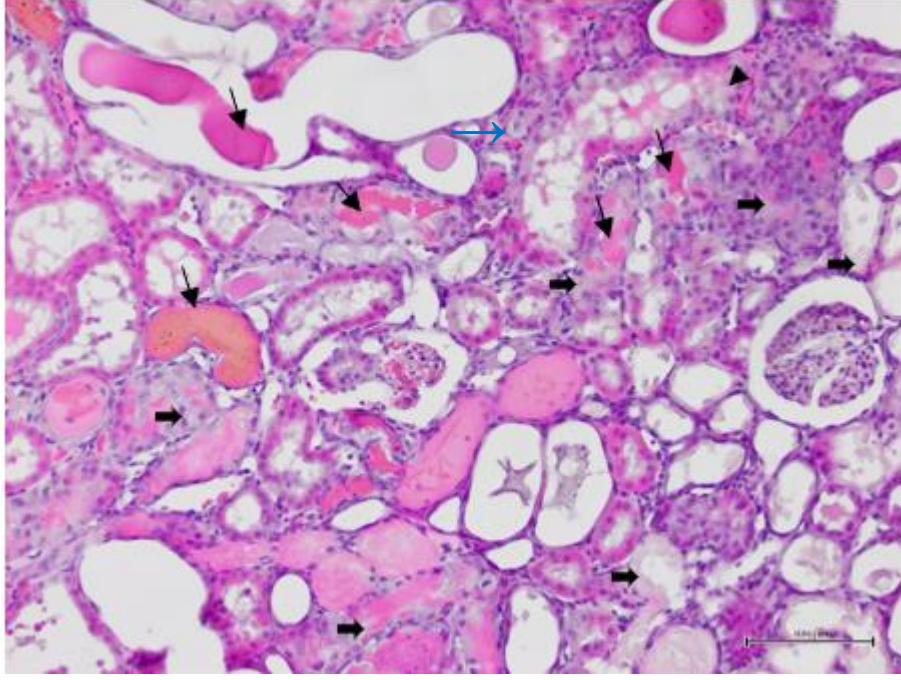
Resim 16. G+KCS6 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 400x olup, ölçek 50 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar epitelyal dökülmeyi, ok uçları tübüler dilatasyonu, kalın oklar nekroz alanlarını, yıldız bowman boşluğunun dilatasyonunu, mavi ok mononükleer hücre infiltrasyonunu göstermektedir.



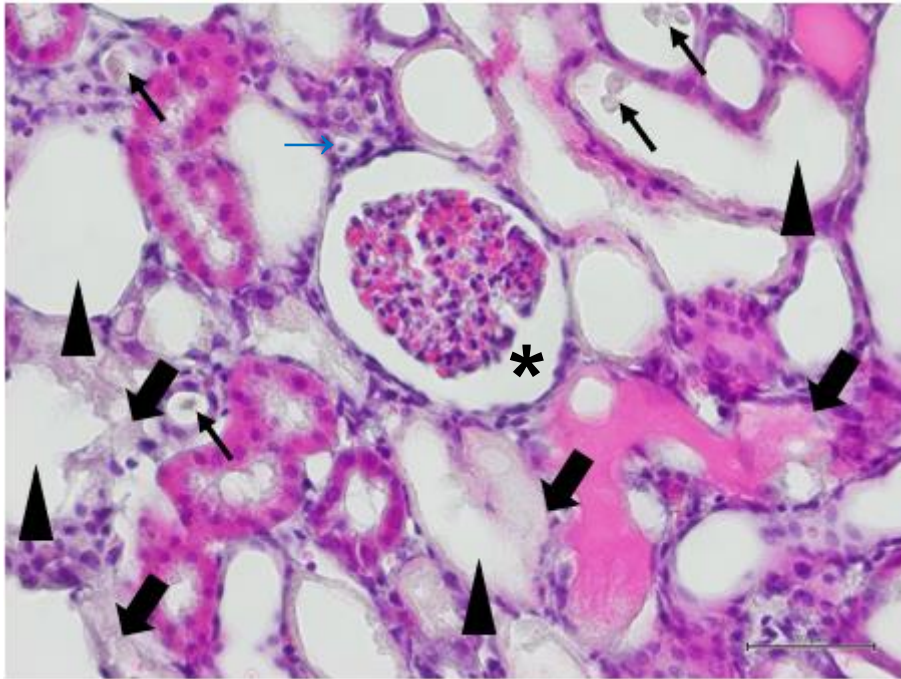
Resim 17. G+KCS3 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 200x olup, ölçek 100 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar konjesyon ve hiperemi alanlarını, ok uçları dejeneratif bölgeleri, kalın oklar nekroz alanlarını göstermektedir.



Resim 18. G+KCS3 grubuna ait böbrek kesiti. Mikrograf büyütmesi 400x olup, ölçek 50 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar epitelyal dökülmeyi, ok uçları tübüler dilatasyonu, kalın oklar nekroz alanlarını, mavi ok mononükleer hücre infiltrasyonunu göstermektedir.



Resim 19. Gliserol grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi 200x olup, ölçek 100 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar konjesyon ve hiperemi alanlarını, ok uçları dejeneratif bölgeleri, kalın oklar nekroz alanlarını göstermektedir.



Resim 20. Gliserol grubuna ait böbrek kesiti Mikrograf büyütmesi 400x olup, ölçek 50 mikrometreyi göstermektedir. İnce oklar epitelyal dökülmeyi, ok uçları tübüler dilatasyonu, kalın oklar nekroz alanlarını, mavi ok mononükleer hücre infiltrasyonunu, yıldız bowman boşluğunun dilatasyonunu göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Rabdomiyoliz sonucu gelişen miyoglobürik akut böbrek hasarının (MABH) patogeneğinde lipid peroksidasyonuna bağlı oksidatif doku hasarı ile proinflamatuvar sitokinler aracılığıyla oluşan inflamatuvar yanıtlar kritik rol oynamaktadır (Nara ve diğerleri, 2016; Erkılınç ve diğerleri, 2023). Bu nedenle, MABH ile ilişkili tanısal değerlendirmelerin yanı sıra potansiyel tedavi ve koruyucu ajanların etkililiğini test etmek amacıyla çeşitli deneysel protokoller geliştirilmiştir. Bu protokoller arasında en yaygın ve kabul edilen yaklaşım, %50 hipertonic gliserolün vücut ağırlığına göre 8 ml/kg/gün dozda her iki arka bacağa eşit miktarda intramüsküler enjeksiyon yoluyla kas içine uygulanmasıyla oluşturulan modeldir (Pal Singh ve diğerleri, 2012). Bu modelde insanlarda rabdomiyolize bağlı gelişen miyoglobürik akut böbrek hasarı (MABH) ile benzer biyokimyasal ve histopatolojik özellikler göstermektedir (Bellomo ve diğerleri, 2004).

Gliserol, nefrotoksik etkileriyle bilinen bir ajandır; glomerüler filtrasyonu bozarak böbrek tübüllerinde hasara neden olmakta, ayrıca stromal ve epitel hücrelerinde şişmeye yol açmaktadır (Ali ve diğerleri, 2014). Bu etkiler, MABH patogeneğini taklit eden deneysel bir ortam sağlayarak rabdomiyolizin oluşturduğu böbrek hasarının daha ayrıntılı şekilde incelenmesine olanak tanımaktadır.

Deneysel Miyoglobürik Akut Böbrek Hasarı (MABH) modelinde kullanılmış birçok doğal antioksidan ajan ve farmakolojik bileşik bulunmaktadır (Chander & Chopra, 2006; Chander ve diğerleri, 2003; Singh ve diğerleri, 2004; Üstündağ ve diğerleri, 2009; Estebhan ve diğerleri, 2015). Kenevir (*Canabis sativa*) ve bitkisinin farklı bölümlerinin çeşitli hastalık modellerinde koruyucu ve tedaviye katkı sağlayıcı etkileri rapor edilmiştir (Wang ve diğerleri, 2019; Pasqua ve diğerleri, 2020; Yıldırım ve Çalışkan, 2020; Vitorović ve diğerleri, 2021; Kaur ve diğerleri, 2021; Farì ve diğerleri, 2023). *Canabis sativa ludarilis*in tohumlarından elde edilen kenevir tohumu yağı, besleyici, sağlığı geliştirici özellikleri ve biyoaktivitesi ile bilinir. Kenevir tohumu yağının yapısındaki çoklu doymamış yağ asitleri %80'ni oluşturmakla birlikte insan vücudu tarafından doğal olarak üretilmeyen ve esansiyel yağ asitleri olarak da bilinen, linoleik asit (LA) (18:2, ω -6) ve α linolenik asit (ALA) (18:3, ω -3) içeriğinde barındırmaktadır. γ -linolenik asit (18:3, ω -6) (GLA) ve stearidonik asit (18:4, ω -3) (SA) ise yağda bulunan diğer ω -3 ve ω -6 yağ asitleridir. Bununla birlikte kenevir tohumu yağı

yapısında orta ila yüksek miktarda tokoferol (E vitamini türevleri) ve tokotrienol (100 g yağ başına 100 ila 150 mg), kanabiodol, fitosteroller, fosfolipidler, karotenler ve mineraller de içerir (Callaway, 2004; Karataş,2015; Göger, 2021).

Yapmış olduğumuz çalışmada, gliserol enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı (MABH) modelinde, kenevir tohumu yağının antioksidatif, anti-inflamatuar ve antiapoptotik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada elde edilen biyokimyasal ve histopatolojik veriler, kenevir tohumu yağının MABH modelinde hem koruyucu hem de terapötik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Yapılan literatür taramalarında çalışmamıza benzer nitelikte, kenevir tohumu yağının MABH modeli üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmaya rastlanmadı. Mevcut çalışmada, gliserol enjeksiyonu ile oluşturduğumuz MABH modelinde çalışmanın 7. gününde uygulanan i.m 8 ml/kg gliserol enjeksiyonundan 72 saat sonraki böbrek yetmezliği belirteçleri olan kan üre ve kreatinin seviyeleri, dokuda oksidatif hasar belirteçleri olan MDA, MPO, antioksidan aktivitesinin ölçümü GSH, SOD, CAT seviyeleri, TNF Alfa, IL-1B, IL-6 proinflamatuar sitokinler ve HIF1 Alfa, Caspase-3 parametreler üzerinde kısa süreli düşük ve yüksek doz (gliserol enjeksiyonundan sonra 3 gün boyunca uygulanan 3 ml/kg/gün -6 ml/kg/gün) ile uzun süreli düşük ve yüksek doz (10 gün boyunca uygulanan 3 ml/kg/gün-6ml/kg/gün) uygulanan kenevir tohumu yağının etkileri araştırıldı.

Bulgularımız, Gliserol grubunda böbrek fonksiyon bozukluğunun önemli biyobelirteçleri olarak kabul edilen serum üre ve kreatinin düzeylerinin yükseldiğini, oksidatif stresin arttığını, aynı zamanda inflamatuvar belirteçler TNF alfa, IL-1B ve IL-6 seviyeleri ve HIF1-Alfa ile apoptotik Caspase-3 seviyeleri Sham grubuna ve tedavi gruplarına kıyasla Gliserol grubu sıçanlarda anlamlı şekilde arttığını gözlemledik ($p \leq 0,001$). Histopatolojik bulgularda interstisyel alandaki mononükleer hücre infiltrasyon alanları, konjesyon alanları, nekroz alanları, bowman boşluğunun genişlemesi...vb verilerin en yüksek hasar skorları Gliserol grubunda elde edilmiş olup biyokimyasal ve histopatolojik bulgular ışığında normal böbrek dokusunda ABH geliştiğini göstermiştir.

Yapılan bir çalışmada gliserol enjeksiyonunu takiben hayvanlarda ilk saatte hematüri gözlenmiş, serum kreatinin düzeylerindeki artışın ise 3. saatte daha da belirginleştiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da (Resim 2) benzer şekilde, gliserol uygulamasının ardından 1. saatte bazı hayvanlarda hematüri tespit edildi (Nara ve diğerleri, 2016) Ayrıca, gliserol uygulamasını izleyen 72 saat ve sonrasında ileri düzeyde ABH belirteçlerinde artış gözlemlendiği çalışmalar literatürde bulunmaktadır (Üstündağ ve diğerleri, 2008; Wu ve diğerleri, 2017; İşler ve diğerleri, 2022). Bununla birlikte literatürde gliserol uygulamasından

24 saat sonra MABH göstergesi yüksek kan üre ve kreatinin değerlerinin bildirildiği çalışmalar da bulunmaktadır (Çebi ve diğerleri, 2016; Yavuz ve diğerleri, 2018; Ege ve diğerleri, 2023). Çalışmamızda gliserol uygulamasından 72 saat sonra sakrifiye edilen deneklerde Gliserol grubunda belirgin şekilde yükselen serum kreatinin ve BUN düzeylerinin, özellikle uzun süreli yüksek doz uygulamasında (G+UCS6) kontrol değerlerine yaklaşması, hem glomerüler filtrasyon hızındaki kaybın geri döndürülebildiğini hem de kenevir tohumu yağının nefrotoksisiteyi sınırlayan ve zaman ile doza bağlı olumlu etkisini ortaya koymaktadır (Abul-Ezz ve diğerleri, 1991; Bao ve diğerleri, 2018; Park ve diğerleri, 2017; Wang ve diğerleri, 2023). Bu bulgu, kenevir tohumunun zengin ω -3/ ω -6 yağ asidi profili ve fitokannabinoid içeriği sayesinde endotelial vazodilatasyonu ve renal kan akımını desteklediği yönündeki önceki raporlarla uyumlu görünmektedir (Farinon ve diğerleri, 2020; Majewski ve Jurgoński, 2021).

Kaur ve ark (2021) yaptığı bir çalışmada kenevir tohumunun (*Cannabis sativa*) lipid ekstrelerinin böbrek hasarı üzerindeki potansiyel anti-inflamatuar ve redoks düzenleyici etkilerini değerlendirmiş ve statinlerle (Simvastatin) karşılaştırmıştır. Kenevir tohumu tedavisi yalnızca lipid profilini ve hiperkolesteroleminin, morfolojik belirtilerini iyileştirmekle kalmayıp, aynı zamanda karaciğer ve böbrek fonksiyon belirteçleri açısından simvastatine göre daha güvenli bulunmuştur. Bizim çalışmamızla paralel olarak böbrek dokularında histolojik iyileşmeler, oksidatif stresin biyokimyasal belirteçlerinde düzelme gözlemlendi.

Vitorović ve ark. (2021), kenevir tohumu yağının *Drosophila melanogaster*'de oksidatif stres belirteçleri ve yaşam döngüsü üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında düşük dozlarda (18,7–31,2 μ l/mL) yağ olumlu etkiler gösterirken, yüksek dozda (125 μ l/mL) toksisiteye yol açmıştır. Bulgular, kenevir tohumu yağının reaktif oksijen türlerine karşı hücrel koruma sağlama potansiyeline işaret etmektedir. Mevcut çalışmamızda ise, rabdomiyoliz kaynaklı oksidatif hasarı gösteren MDA düzeyi gliserol grubunda anlamlı artış gösterdi. Kenevir tohumu yağı, farklı doz ve sürelerle uygulandı, özellikle uzun süreli ve yüksek doz uygulamada MDA düzeylerinin normale dönmesiyle peroksidatif hasarı önleyici etkisi desteklendi. Herhangi bir toksisite gözlenmemesi ise doz güvenliği açısından önemlidir, ancak daha fazla doz aralığı çalışılmamış olması bir sınırlılık olarak değerlendirildi.

Vücutta oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki denge, doku hasarının oluşumu ve ilerlemesinde belirleyici bir faktördür. Serbest radikaller, hem organizmanın normal metabolik faaliyetleri sırasında hem de çevresel etkilere bağlı olarak sürekli meydana gelir. Bu zararlı bileşiklere karşı koruma sağlayan antioksidan savunma mekanizması; glutatyon

(GSH), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve miyeloperoksidaz (MPO) gibi endojen antioksidan sistemin yanı sıra çeşitli vitamin ve mineralleri içerir (Becker ve diğerleri, 1991; Valko, 2007; Inal ve diğerleri, 2002; Ek ve diğerleri, 2008). Glutasyon, hücreyi serbest radikallerin neden olduğu hasardan koruyan önemli bir hücre içi antioksidan ajandır. Ek olarak, böbreğin GSH metabolizmasında önemli bir rolü vardır. Glutasyon (GSH), hücre içi savunma mekanizmaları içerisinde oksidatif strese karşı temel rol oynayan önemli bir bileşendir (Tiodorović, Cvetković, 2004).

Fouad ve diğerleri (2012), sıçanlarda oluşturulan böbrek iskem/reperfüzyon hasarına karşı psikotropik olmayan kanabidiol (CBD) maddesinin etkilerini incelemiştir. 30 dakikalık iskemi takiben 24 saatlik reperfüzyon uygulanmış, CBD ise işlemde 1 saat önce ve 12 saat sonra verilmiştir. İ/R grubunda serum kreatinin, böbrek MDA ve NO düzeyleri artmış, GSH düzeyleri azalmıştır. CBD tedavisi bu olumsuzlukları tersine çevirerek GSH seviyelerini artırmış, lipid peroksidasyonunu (MDA) azaltmıştır.

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde, kenevir tohumu yağı uygulanan tüm tedavi gruplarında GSH aktivitesinde anlamlı artış gözlemlendi. Bu da kenevir türevlerinin antioksidan ve nefroprotektif etkilerini desteklemektedir.

Al Laham (2018), miyoglobinin akut böbrek hasarı (MABH) modelinde Metilsülfonilmetan (MSM)'in iyileştirici etkisini araştırmıştır. %50 gliserol enjeksiyonuyla oluşturulan böbrek hasarının ardından uygulanan MSM (400 mg/kg/gün), kan üre ve kreatinin düzeylerinde düşüş ve glutasyon (GSH) seviyelerinde anlamlı artış sağlamıştır. Bu etkilerin MSM'nin antioksidan özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Bulut ve diğerleri (2022), sıçanlarda böbrek iskem-reperfüzyon (IR) hasarına karşı beta glukana (100 mg/kg/gün, 10 gün) uygulamasının etkilerini incelemiş, IR grubunda GSH seviyelerinde belirgin düşüş saptanırken, IR + beta glukana grubunda GSH seviyeleri anlamlı şekilde artmıştır. Mevcut çalışmamızda da MABH modeli öncesi uygulanan kenevir tohumu yağı (düşük ve yüksek doz, profilaktik ve tedavi gruplarında) ile GSH düzeyleri sham grubuna oldukça yakın bulundu, özellikle uzun süreli uygulamalarda bu etkinin daha belirgin olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar, kenevir tohumu yağının da MSM ve beta glukana gibi oksidatif stresi azaltıcı ve hücre koruyucu özellikler taşıdığını göstermektedir.

Kurkuminin gliserolle (salin içinde 10 ml/kg/gün vücut ağırlığı, %50 v/v, i.m) indüklenen MABH tedavi edici etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada gliserol uygulamasının ardından 3 gün boyunca kurkumin (200 mg/kg/gün, oral yolla) uygulanmış. BUN, kreatinin, CK ve MDA düzeylerinde düşüş, SOD, GSH-Px değerlerinde artış ve histopatolojik hasarda iyileşme sağlamıştır (Wu ve diğerleri, 2017).

Bizim çalışmamızda kısa süreli tedavi gruplarında Kreatinininde öncül tedavi gruplarında (G+UCS3 ve G+UCS6) anlamlı seviyede düşük bulunurken, BUN değerlerinde öncül tedavi grupları (G+UCS3 ve G+UCS6) ve kısa süreli yüksek doz (G+KCS6) tedavi grubunda anlamlı düşüş gözlemlendi. MDA değerlerinde tüm tedavi gruplarımızda anlamlı olarak düşüş görüldü. Antioksidan SOD değerlerinde tüm tedavi gruplarında Gliserol grubuna göre artış gözlenmiş olup anlamlı değildi. GSH değerlerinde tüm tedavi gruplarında anlamlı artış saptandı.

Katalaz (CAT) enzimi, esas olarak peroksizomlarda lokalizedir ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) detoksifikasyonunda önemli bir rol oynar. Özellikle yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 'nin hızlı bir şekilde parçalanmasında katalaz enzimi önemli bir görev üstlenir (Ek ve diğerleri, 2014).

Yin ve diğerleri (2019) zeytinyağının başlıca fenolik bileşiği olan Oleuropeinin sıçanlarda gliserolle indüklenen akut böbrek hasarına karşı koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmada 12 gün boyunca oral yoldan oleuropein 50 mg/ kg/gün verilmiş olup deneyin 7. Gününde (%50'lik hipertonic gliserol 10 ml/kg) enjekte edilmiştir. Gliserol ile intoksike edilmiş sıçanlarda antioksidan savunma sisteminin belirteçlerinden biri olan CAT seviyeleri ve gen ekspresyonu aşağı doğru düzenlenmiştir. Bununla birlikte gliserol enjeksiyonundan önce oral oleuropein uygulaması, gliserol ile intoksike gruba kıyasla katalaz aktivitesi ve gen ekspresyonundaki artış ile antioksidan etkisine kanıt sunmaktadır. Bizim çalışmamızda da benzer olarak intoksike gliserol grubuyla öncül tedavi uyguladığımız düşük ve yüksek doz (G+UCS3, G+UCS6) tedavi grupları arasında anlamlı fark saptandı. Öncül tedavi gruplarında katalaz aktivitesi anlamlı şekilde artış gösterdi. Üstündağ ve ark (2008) C vitamininin sıçanlarda %50 gliserol (10 ml/kg,i.m.) tarafından oluşturulan miyoglobinin ABH üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladıkları çalışmada gliserol enjeksiyonundan sonra dört gün boyunca uyguladıkları C vitamini (20mg/kg/gün i.p.) sonucunda CAT aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Mevcut çalışmamızda %50 gliserol (8 ml/kg/gün, i.m.) uygulamasından sonra kısa süreli yüksek ve düşük doz tedavi gruplarında (G+KCS3; G+KCS6) CAT aktivitesinde anlamlı bir artış gözlemlendi, profilaktik olarak uyguladığımız düşük ve yüksek doz (G+UCS3 ve G+UCS6) tedavi gruplarında CAT aktivitesinde ($p=0,001$) artış saptandı.

Gliserole bağlı böbrek yetmezliği genellikle MDA ve ROS seviyelerinde kayda değer bir artış ve SOD seviyelerinde bir düşüşle ilişkilidir. SOD vücuttaki süperoksit radikal temizleyici bir enzimdir ve organizmalarda oksidasyon ve antioksidan dengesinde önemli rol oynar.

Wang ve diğerkleri (2023) Kekik türlerinin ana bileşenlerinden biri olan Timol'ün (kristal monoterpen) rabdomiyoliz ile indüklenen ABH'n da antioksidan ve anti-enflamatuar etkilerinin incelendiğı bir araştırmada sıçanlara gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce ve 72 saat sonrasına kadar her gün (20 mg/kg/ gün veya 40 mg/kg/gün) gavaj yoluyla verilmiştir. ABH grubunda SOD değerkleri oldukça azalmıştır. Bununla birlikte düşük ve yüksek doz timol tedavisi ile tersine dönmüştür. Bizim çalışmamızda ise ABH (Gliserol) grubunda SOD miktarı azalmış olmasına rağmen anlamlı düzeyde değildi. Tedavi gruplarında da anlamlı bir yükselme gözlenmedi. Tarhan (2009) antihipertansif, antioksidan etki gösterdiği bilinen Nebivololün (%50'lik gliserol solüsyonundan 10 ml/kg i.m.) deneysel MABH oluşturdıkları modelde Gliserol grubunda ve tedavi grubunda SOD değerklerinde bizim çalışmamızdaki gibi tüm gruplarda istatistiki olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Gök (2009) %50'lik gliserol solüsyonundan 10 ml/kg' i.m. uygulanarak oluşan rabdomiyoliz sonucu gelişen deneysel miyoglobininrik akut böbrek yetmezliğinde Rosiglitazon'un etkilerini araştırdıkları çalışmalarında bizim çalışmamızla paralel olarak gruplar arası SOD değerklerinde anlamlı bir değişim kaydedilmemiştir.

Myeloperoksidaz (MPO), başlıca nötrofillerde ve belirli inflamatuvar durumlarda makrofajlarda eksprese edilen hemoprotein yapısında bir enzimdir. MPO, inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynamakta; hücreselel aktivasyon sonrası hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimini artırarak oksidatif yanıtı şiddetlendirmektedir (Yin ve diğerkleri, 2019).

Saleh (2019) tarafından yürütölen bir çalışmada, kenevir tohumu (*Cannabis sativa*) yağının gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) bağışıklık yanıtı ve büyüme performansı üzerindeki etkileri değerklendirilmiştir. Bu kapsamda balıklar dört gruba ayrılarak (Kontrol, %0,5 K, %1 K ve %2 K), 60 gün boyunca farklı oranlarda kenevir tohumu yağı ile beslenmiştir. Çalışmada büyüme performansı, sindirim enzimi aktivitesi, oksidatif radikal üretimi ve MPO gibi humoral immün yanıt parametreleri analiz edilmiştir. Sonuçlar, 30. günde %1 (K1) ve %2 (K2) kenevir yağı ile beslenen gruplarda MPO düzeylerinin, kontrol ve %0,5 (K0,5) gruplarına kıyasla anlamlı şekilde yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Ancak 60. gün sonunda gruplar arasında MPO düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu veriler, MPO aktivitesinin doza bağılı olarak değişebileceğini ve daha yüksek dozların nötrofil ile makrofaj aktivasyonunu artırabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda ise yalnızca iki doz (3 ml/kg/gün ve 6 ml/kg/gün) kullanılmış olup, farklı doz ve sürelerin değerklendirilmemesi MPO aktivitesindeki değişimlerin daha geniş ölçekte

gözlemlenmesini sınırlamaktadır. Bu durum, çalışmamızın kısıtlılıklarından biri olarak değerlendirilmektedir.

Şirinyıldız ve Cesur (2021), böbrek iskemi-reperfüzyon (IR) hasarında omega-3 yağ asidinin farklı dozlarının koruyucu etkilerini değerlendirmek amacıyla böbrek dokusundaki glutatyon (GSH) düzeylerini incelemişlerdir. Çalışmada, IR grubunun GSH düzeyleri, kontrol ve tedavi gruplarına kıyasla anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Benzer şekilde, bizim çalışmamızda da Gliserol grubunda GSH düzeyleri, sham ve tedavi gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($p < 0,001$) saptandı. Aynı çalışmada, en yüksek miyeloperoksidaz (MPO) seviyeleri IR grubunda tespit edilmiş; sham grubunun MPO düzeyleri ise IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ($p < 0,005$). IR+100, IR+400 ve IR+700 mg/kg omega-3 uygulanan gruplarda MPO düzeyleri IR grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalmıştır. Mevcut çalışmamızda da sham grubunun MPO düzeyleri Gliserol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulundu ($p \leq 0,005$). On gün boyunca yüksek dozda (6 ml/kg) uygulanan *Cannabis sativa* tohumu yağı tedavi grubunda (G+UCS6), MPO düzeylerinin Gliserol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı ($p \leq 0,005$) gözlemlendi. Bu sonuç, kenevir tohumu yağının MPO aktivitesini azaltarak potansiyel bir immün modülatör etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

50 mg/kg dozunda uygulanan quersetin, kaspaz-3 enzim düzeyleri ve aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sağlamıştır (Shaimaa S. El-Sayed ve diğerleri, 2021). Öte yandan, anisodaminin iskemi-reperfüzyon kaynaklı böbrek hasarına karşı koruyucu etkisi, kaspaz-3 gibi apoptozu düzenleyen faktörlerin baskılanması yoluyla sağlanmıştır (Shu Zhang ve diğerleri, 2021). Bizim çalışmamızda da da litaretürdeki çalışmalarla uyumlu olarak kenevir tohumu yağının kaspaz-3 değerleri en düşük uzun süreli kenevir tohumu yağı tedavi gruplarında saptandı.

Tüm bu biyokimyasal düzeydeki etkiler, histopatolojik parametrelerle de doğrulanmaktadır. Özellikle G+UCS6 grubunda gözlenen minimum düzeyde bowman kapsül genişlemesi, glomerüler filtrasyon basıncının düzenlenebildiğini ve glomerüler kapiller yapının korunabildiğini ortaya koymaktadır (Güneş, 2012; Kwiatkowska ve diğerleri, 2020). İnterstisyel alandaki konjesyon ve hücre infiltrasyonunun azaltılması, vasküler geçirgenliğin azaldığını ve inflamatuvar hücrelerin dokuya geçişinin kısıtlandığını göstermektedir. Ayrıca nekroz alanlarının daraltılması ve kaspaz-3 düzeylerinin düşürülmesi, programlı hücre ölümünün baskılandığını ve bu etkinin anti-apoptotik mekanizmalar aracılığıyla sağlandığını

işaret etmektedir (Yalçınkaya Yavuz ve diğerleri, 2018; Soliman ve diğerleri, 2024). Kenevir tohumu yağının bu etkilerinin altında yatan mekanizmaların başında, zengin omega-3 ve omega-6 yağ asidi dengesi, γ -linolenik asit içeriği ve fitokannabinoid bileşenlerinin yer aldığı bilinmektedir. Bu bileşenlerin, hücrel membran stabilizasyonu, NF- κ B yolu inhibisyonu, antioksidan enzimlerin indüksiyonu ve serbest radikal üretiminin azaltılması gibi çok yönlü biyokimyasal etkileri olduğu bildirilmektedir (Callaway, 2004; Farinon ve diğerleri, 2020; Uzunlar ve Kahveci, 2022).

TNF- α , inflamasyon ve apoptozu tetikleyen proinflamatuvar bir sitokindir ve deneysel çalışmalarda biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Akbulut ve diğerleri). Sisplatin kaynaklı böbrek hasarında TNF- α düzeylerinin erken dönemde arttığı gösterilmiştir (Carlos ve diğerleri, 2014). Erkılınç ve diğerleri (2023), antioksidan özellikleriyle bilinen astaksantin (ATX) radyasyona bağlı böbrek hasarına etkisini incelemişler; radyoterapi uygulanan grupta TNF- α ve kaspaz-3 düzeylerinde artış, antioksidan belirteçlerde azalma gözlemlenmiştir. ATX tedavisi uygulanan grupta ise TNF- α ve kaspaz-3 düzeyleri düşerken, TAS ve TOS düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu bulgular, ATX'in antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkiler gösterebileceğini düşündürmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmayla uyumlu olarak TNF- α ve kaspaz-3 düzeyleri Gliserol grubunda anlamlı artış gösterirken ($p \leq 0,001$) özellikle kenevir tohumu yağı öncül tedavi gruplarımızda (G+UCS3 ve G+ UCS6) anlamlı seviyede ($p \leq 0,001$) azalma gözlemlendi.

İlhan ve diğerleri. (2025), CBD'nin Wistar Albino sıçanlarında lipopolisakkarit (LPS) kaynaklı böbrek hasarını hafifletmedeki potansiyel koruyucu etkilerini araştırdıkları bir çalışmada LPS 5 mg/kg i.p. uygulanan grupta İmmün boyama olarak TNF- α ve kaspaz-3 immün ekspresyon skorlarını yükselttiği ve oksidatif stres belirteçleri olarak toplam oksidan durum (TOS) ve toplam antioksidan durum (TAS), oksidatif stres indeksi (OSI), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerini düşürdüğü, malondialdehit (MDA) aktivitesini yükselttiği gözlenmiştir. Tedavi grubunda ise LPS + CBD (5 mg/kg i.p.) immün boyama olarak tespit edilen TNF- α ve kaspaz-3 düzeyleri ile immün ekspresyon skorlarını düşürmüştür. Antioksidan belirteçler olarak (TOS, TAS, OSI, SOD, GPx) aktiviteleri artmış, malondialdehit (MDA) seviyesinde de düşüş gözlenmiştir. Bu çalışma, CBD'nin sepsis kaynaklı böbrek hasarında anti-apoptotik, anti-inflamtuvar ve antioksidan özellik göstermiş olup bizim çalışmamızla uyum göstermektedir.

Perez-Meseguer ve diğerleri. (2019), *Juglans mollis* özütünün İ/R hasarına karşı nefroprotektif etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, 7 gün JM (300 mg/kg) uygulanan

grupta MDA, IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeylerinin azaldığını ve bu değerlerin sham grubuna yakın olduğunu bildirmiştir. Bulgular, JM'nin I/R kaynaklı inflamasyon ve oksidatif stresi azaltabileceğini göstermektedir.

CB2 reseptörünün inflamatuvar ve apoptotik süreçlerle ilişkili olduğu bilinmektedir (Danış ve diğerleri, 2024). Çakır ve diğerleri (2019), deneysel böbrek iskemi-reperfüzyon modelinde CB2 agonisti JWH-133'ün üç farklı dozda uygulanmasının TNF- α , IL-1 β , IL-6, NF- κ B ve kaspaz-3 düzeylerini azalttığını; glomerüler ve tübüler hasarı hafiflettiğini bildirmiştir. Bu bulgular, CB2 reseptör aktivasyonunun anti-inflamatuvar ve anti-apoptotik etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

IL-1 β , renal doku hasarında glomerül düzeyde permeabilite artışına ve tubulointerstisyel bölgede fibrotik sürecin hızlanmasına yol açmaktadır (Rein, 2020; Petejova ve Martinek, 2014). Çalışmamızda Gliserol grubunda yüksek saptanan IL-1 β düzeylerinin, tüm tedavi protokollerinde anlamlı şekilde azalmış olması, anti-fibrotik ve immün modülatör etkilerin zamanla güçlendiğini göstermektedir. Bu durum histopatolojik bulgulara gözlenen interstisyel hücre infiltrasyonu ve konjesyon skorlarının düşmesiyle de doğrudan ilişkilidir. Ayrıca gliserol grubunda anlamlı şekilde artan TNF- α düzeyleri, akut faz cevabının temel tetikleyicisi olarak rabdomiyoliz sonrası gelişen tubulointerstisyel hasarın yayılımını hızlandırmaktadır (Stefanovic ve diğerleri, 2000; Nayak ve Jindal, 2015). TNF- α 'nın artışı, oksidatif stresi tetikleyen NADPH oksidaz aktivitesini artırmakta ve bu da serbest radikal üretimini yoğunlaştırmaktadır. Kenevir tohumu yağı uygulaması, özellikle uzun süreli ve yüksek doz protokollerinde TNF- α düzeyini baskılayarak, bu döngünün kırılmasına katkı sağlamaktadır (Kaushal ve diğerleri, 2020; Didik ve diğerleri, 2024). Bu durum, TNF- α üzerinden tetiklenen apoptoz yolağının da inhibe edilmesini kolaylaştırmaktadır. Danış ve diğerleri (2024) İskemi reperfüzyon I/R hasarında polifenollerin flavonoid grubu olan naringin takviyesinin böbrekteki terapötik etkilerini inceledikleri çalışmalarında Naringin reperfüzyonun hemen başında, 24 saat sonra ve 48 saat sonra iki farklı doz olarak (50-100 mg/kg/gün) intraperitoneal olarak uygulanan tedavi gruplarında I/R grubuna göre HIF1 A seviyesinde artma, caspaze-3 ve IL-1 β seviyelerinde azalma gözlenmiş olup her iki dozdaki naringin takviyesinin histolojik bozulmayı önemli şekilde düzelttiğini göstermiştir. Mevcut çalışmamızda ise farklı olarak HIF 1 A düzeyleri Gliserol grubuna göre düşük olup caspaze-3 ve IL-1 β seviyelerinde bu çalışmayla uyumlu olarak aktiviteleri azaldığı saptandı. Bizim çalışmamızda uzun süreli kenevir tohumu yağı uygulamasıyla HIF-1 α düzeyinin anlamlı düzeyde düştüğü gözlemlendi. Bu durum, endotelial fonksiyonların iyileştiğini ve peritübüler

kapiller düzeyde mikropenfüzyonun normale döndüğünü düşündürmektedir (Majewski ve Jurgoński, 2021; Bao ve diğeri, 2018). Böylelikle kenevir tohumu yağı yalnızca hücresel yanıtları değil, aynı zamanda mikrovasküler hemodinamik süreçleri de olumlu yönde etkilemektedir.

AlBasher ve diğeri (2020), selenyum nanopartiküllerinin (SeNP) gliserol kaynaklı akut böbrek hasarına karşı koruyucu etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, SeNP tedavisinin TNF- α , IL-1 β , IL-6, Bax ve kaspaz-3 düzeylerini anlamlı şekilde azalttığını göstermiştir. Bu bulgular, SeNP'nin anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkileri aracılığıyla ABH'ye karşı koruma sağladığını ortaya koymuştur. Mevcut çalışmamızda da uzun süreli yüksek doz tedavi grubunda benzer şekilde sham kontrol grubuna yakın değerler elde edilmesi, kenevir tohumu yağının benzer koruyucu etkilere sahip olabileceğini desteklemektedir.

Literatürde rabdomiyoliz temelli iskemi-reperfüzyon modellerinde hücresel oksidatif yıkım ile enflamatuar kaskadın iç içe ilerlediği bilinmektedir ve bu süreç kreatinin ile BUN artışının yanı sıra MDA yükselmesi, GSH azalması ve sitokin fırtınası ile karakterize edilmektedir (Abul-Ezz vd., 1991; Petejova ve Martinek, 2014). Çalışmamızda kısa süreli protokoller bu reaksiyonları kısmen azaltabilmekte, buna karşın on günlük yüksek doz protokolü oksidatif-enflamatuar döngüyü belirgin biçimde kırmaktadır. Özellikle TNF- α ve IL-6 düzeylerinin baskılanması, NF- κ B üzerinden düzenlenen proinflamatuar gen ifadesinin gerilediğini düşündürmekte, benzer baskılayıcı etkiler kenevir tohumu yağının γ -linolenik asit içeriği ile ilişkilendirilmektedir (Kaushal vd., 2020; Didik vd., 2024).

Yaman (2022), kenevir tohumu yağının A549 akciğer kanser hücre hattında hücre çoğalmasını azalttığını ve apoptozu artırarak antikanserojenik etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu etkisini yapısında barındırdığı kenevir tohumu yağının içeriğinde yer alan linoleik asit (LA), α linolenik asit (ALA) yağ asitlerinin hücresel büyüme süreçlerini düzenleyebildiği, lipid peroksidasyonunu baskılayarak hücre proliferasyonunu ve apoptoz mekanizmaları üzerine etkileri bilinmesi, çeşitli çalışmalarda kanser gelişme riskini azaltıcı etkilerle ilişkilendirildiği ifade edilmektedir.

Özdamar ve ark (2010) üzüm çekirdeği proanthocyanidin ekstresinin (GSPE) renal iskemi-reperfüzyon (I-R) hasarında profilaktik etkisini araştırmak amacıyla I-R grubunun böbrek dokusunda TNF Alfa, MDA, kan üre ve kreatinin seviyeleri anlamlı yüksek bulunmuş olup glutatyon redüktaz (GR) ise anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Tedavi (I-R+GSPE) grubu ise I-R hasarı oluşturulmadan önce 15 gün süre ile 15 mg/kg GSPE oral gavaj yoluyla verildi. TNF Alfa, MDA, üre ve kreatinin seviyelerinde düşüş, glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi

1-R grubuna göre artmıştır. Profilaktik GSPE tedavisi renal I-R hasarını önemli oranda azalttığı bu bulgular ışığında bizim çalışmamızla uyumluluk göstererek profilaktik uygulamış olduğumuz kenevir tohumu yağı tedavi gruplarında en iyi sonuçlar elde edildi.

Kenevir tohumu (*Fructus cannabidis*), lignanamidler açısından zengindir ve biyolojik tarama testleri, potansiyel anti-inflamatuar ve antioksidatif kapasitelerini göstermiştir. Wang ve diğerleri (2019) bir kenevir tohumu lignanamidi olan kannabisin F'nin lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış BV2 mikrogliya hücrelerinde inflammatuar yanıt ve oksidatif strese karşı olası etkilerinin incelendiği çalışmada Kannabisin F, LPS ile uyarılmış BV2 mikrogliya hücrelerinde konsantrasyona bağlı bir şekilde interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi proinflammatuar medyatörlerin üretimini ve mRNA seviyelerini baskılamıştır. Ayrıca, kannabisin F, LPS kaynaklı NF-kB (nükleer faktör kappa B) sinyal yolu aktivasyonunu bloke etmiştir. Kannabisin F'nin proinflammatuar sitokin üretimi üzerindeki etkisini önemli ölçüde inhibe ettiği ve bu da kannabisin F'nin antiinflammatuar etkilerinin SIRT1 ekspresyonunun modülasyonuna bağlı olduğunu düşündürmektedir. Bununla birlikte, kannabisin F, hücrel reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini azaltmış ve Nrf2 (Nükleer faktör eritroid-2 ile ilişkili faktör 2) ve HO-1 (Hem Oksijenaz-1) ekspresyonunu desteklemiştir.

HIF-1 α , hipoksik koşullara yanıt olarak dokuların hücrel düzeyde adaptasyonunu sağlayan başlıca transkripsiyon faktörlerinden biridir. Normal fizyolojik koşullarda HIF-1 α ekspresyonu esas olarak oksijen seviyeleri tarafından kontrol edilirken, bazı alternatif mekanizmalar da HIF-1 α 'nın aşırı aktivasyonunu tetikleyebilir (Wang ve diğerleri, 2011; 2014). Mevcut çalışmamızda HIF-1 α düzeylerinin Gliserol grubunda yükselmesi, iskemi kaynaklı hipoksinin devam ettiğini ortaya koymakta fakat uzun süreli tedavi gruplarında HIF-1 α 'nın kontrol değerlerine yaklaşması, mikropfüzyonun düzeldiğini ve oksijen dengesizliğinin hafiflediğini düşündürmektedir (Nayak ve Jindal, 2015; Bao ve diğerleri, 2018). Benzer biçimde kaspaz-3 düzeylerinin ve histolojik nekroz skorlarının uzun süreli kenevir tohumu yağı tedavisiyle azalması, apoptotik sürecin ve hücrel ölümün kenevir tohumu yağı ile sınırlandığını teyit etmektedir (Ho ve Power, 2010; Yalçınkaya ve diğerleri, 2018). Histopatolojik incelemeler glomerüler, tübüler ve interstisyel alanlardaki hasarın Gliserol grubunda maksimum, uzun süreli yüksek doz kenevir tohumu yağı tedavi grubunda ise minimum düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır. İnterstisyel mononükleer hücre infiltrasyonunun ve konjesyonun kenevir tohumu yağıyla belirgin biçimde gerilemesi, anti-inflamatuar etkinin dokusal düzeyde de doğrulandığını göstermektedir (Güneş, 2012; Didik ve diğerleri, 2024). Bowman kapsül boşluğundaki genişlemenin yalnızca Gliserol grubunda

belirgin olması, glomerüler filtrasyon bariyerinin kenevir tohumu yağı sayesinde korunabildiğine işaret etmektedir (Kurt ve diğerleri, 2007; Kwiatkowska ve diğerleri, 2020). HIF-1 α düzeylerinin kısa süreli kenevir tohumu yağı tedavi gruplarında düşmemesine karşın uzun süreli kenevir tohumu yağı tedavi gruplarında normale yakınlaşması, böbrek mikrosirkülasyonunda anlamlı bir iyileşmenin ancak daha uzun sürede sağlanabildiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, kenevir tohumunun endotelial nitrik oksit sentazı aktive ederek oksijen sunumunu artırdığına dair önceki bulguları desteklemektedir (Majewski ve Jurgoński, 2021). Buna koşut olarak kaspaz-3 düzeylerindeki gerileme, mitokondriyal yolağın baskılandığını ve apoptozun önlendiğini düşündürmektedir; üzüm çekirdeği biyoflavonoidleriyle benzer sonuçlar bildiren klasik çalışma, anti-apoptotik etkinin oksidatif stresin baskılanmasına paralel geliştiğini ileri sürmektedir (Stefanovic ve diğerleri., 2000). Histopatolojik incelemeler kenevir tohumu yağının glomerüler filtrasyon bariyerini, tübüler epitel bütünlüğünü ve interstisyel matriks homojenitesini korumakta olduğunu göstermektedir; Bowman boşluğunda ektazi ve interstisyel konjesyon gibi erken dejeneratif değişikliklerin uzun süreli protokolda minimal düzeyde kalması bu görüşü pekiştirmektedir (Güneş, 2012; Yalçınkaya ve diğerleri, 2018). Ayrıca nekroz skorlarının, literatürde rabdomiyolizle indüklenen akut tübüler nekroz modellerinde bildirilen değerlerin altında seyretmesi, kenevir tohumu yağının hematurik pigmentlerin pro-oksidan etkisini azaltan bir bariyer işlevi gördüğünü düşündürmektedir (Nayak ve Jindal, 2015; Kwiatkowska ve diğerleri, 2020). SOD düzeylerinin istatistiksel olarak değişmemesine karşın GSH ve CAT aktivitelerinin artması, kenevir tohumu yağının esas savunmayı GSH döngüsü üzerinden yürüttüğünü, süperoksit radikali detoksifikasyonunun ise bazal seviyede stabil seyrettiğini göstermektedir; benzer redoks paternleri nebivolol, baikalin ve likopen çalışmalarında da tarif edilmektedir (Tarhan, 2010; Uzun, 2016; Yalçınkaya Yavuz ve diğerleri, 2018; Vitorović ve diğerleri, 2021).

Kenevir tohumu yağının uzun süreli uygulama ile etkinliğini artırmasının bir diğer nedeni de endokannabinoid sistem üzerindeki düzenleyici etkisinin zamanla daha istikrarlı hale gelmesiyle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Uzun süreli uygulamalarda gözlenen HIF-1 α , IL-6 ve TNF- α gibi göstergelerdeki düşüş, kenevir türevlerinin CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinden hem inflamasyonu hem de hipoksik stres yanıtını baskılayabildiğini desteklemektedir (Didik ve ark., 2024; Rein, 2020). Bu etkinin ayrıca, böbreklerde vasküler homeostazı koruyarak peritübüler kapiller akımı desteklemesi yoluyla GFR üzerinde olumlu etki yarattığını da öngörmekteyiz. Glomerüler filtrasyon oranının indirekt göstergeleri olan kreatinin ve BUN düzeylerinin uzun süreli tedavi gruplarında kontrol grubuna yakın çıkması,

bu etkinin somut bir yansıması olarak değerlendirilmektedir (Abul-Ezz ve diğerleri, 1991; Ho ve Power, 2010). Histopatolojik bulgular ise biyokimyasal verilerle örtüşen şekilde, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, konjesyon, tübüler nekroz ve bowman kapsülü genişlemesi gibi histolojik hasar göstergelerinde kenevir tohumu yağının uzun süreli yüksek doz uygulamasında belirgin azalma sağladığını göstermektedir. Bu durum, hem hücreler arası inflamatuvar sinyalizasyonun azaldığını hem de dokusal düzeydeki redoks dengesinin yeniden kurulduğunu ifade etmektedir (Kwiatkowska ve diğerleri, 2020; Yalçinkaya Yavuz ve diğerleri, 2018). Ayrıca, glomerül ve tübül epitel bütünlüğünün korunmuş olması, akut tübüler nekroz sürecinin geri döndürülebilir aşamada sınırlanmasına olanak tanımaktadır. Histolojik değerlendirmelerde, gliserol grubunun yaygın tübüler dejenerasyon ve interstisyel konjesyon ile belirgin hasar izleri taşımasına karşılık, G+UCS6 grubunda bu bulguların sınırlı olması, tedavi etkinliğinin açık bir göstergesidir (Stefanovic ve diğerleri, 2000; Güneş, 2012). Tüm bu bulgular kenevir tohumu yağının gliserolle indüklenen deneysel akut böbrek hasarı modelinde çok düzeyli bir etki gösterdiğini kanıtlamaktadır. Bu etki, bir yandan oksidatif stresin azaltılması (MDA, GSH, CAT), diğer yandan inflamatuvar sürecin baskılanması (IL-1 β , IL-6, TNF- α , MPO) ve son olarak da apoptotik hücre ölümünün sınırlanması (kaspaz-3) şeklinde gerçekleşmektedir (Farinon ve diğerleri, 2020; Soliman ve diğerleri, 2024).

Yapılan çalışmalarda CB1 ve CB2 reseptörleri üzerinden bağışıklık ve sinir sistemine yönelik etkiler ile renal endotelial fonksiyonların düzenlenmesi, bu sonuçları destekleyici nitelik taşımaktadır (Didik ve diğerleri, 2024; Rein, 2020). Bu bağlamda değerlendirildiğinde, mevcut çalışmamızda kenevir tohumu yağı tedavi gruplarımızda glutatyon (GSH) düzeylerindeki artış ile malondialdehit (MDA) düzeylerindeki düşüş, lipid peroksidasyonunun engellenmesine ve hücre membranlarının oksidatif yıkıma karşı korunmasına işaret etmektedir (Abul-Ezz ve diğerleri, 1991; Ustundag ve diğerleri, 2008).

Antioksidan enzim olan katalaz (CAT) üzerinden belirgin koruyucu etki ortaya koymaktadır. Bu durum, kenevir tohumu yağında yer alan tokoferoller, fenolik bileşikler ve özellikle γ -linolenik asidin redoks homeostazı destekleyici etkileriyle açıklanabilmektedir (Callaway, 2004; Farinon ve diğerleri, 2020). Ayrıca, CAT düzeylerinin sham kontrol grubu ile fark göstermemesi, tedavi uygulamasının doku düzeyinde fizyolojik bir dengeye katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Kaspaz-3 düzeylerindeki düşüş de bu sonucu desteklemektedir. Kaspaz-3, hücresel apoptozun son aşamalarında görev alan anahtar bir yürütücü enzimdir ve çalışmamızda Gliserol grubunda belirgin şekilde artış göstermektedir. Uzun süreli yüksek doz kenevir tohumu yağı uygulamalarında bu değer istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü saptandı. Bu bulgu, mitokondri kaynaklı apoptotik sürecin geriletildiğini ve böbrek

dokusunun hücre düzeyinde korunduğunu göstermektedir (Stefanovic ve diğerleri, 2000; Rein, 2020). Bu anti-apoptotik etkinin, kanabinoid sistemle ilişkili reseptörler üzerinden gerçekleştiği, CB2 reseptörünün özellikle bağışıklık sistemi hücreleri üzerindeki etkileriyle bu mekanizmanın modülasyonunda önemli rol oynadığı literatürde vurgulanmaktadır (Didik ve diğerleri, 2024; Park ve diğerleri, 2017).

HIF-1 α düzeylerinin Gliserol grubunda yüksek seyretmesi, böbrek dokusunda hipoksik bir mikroçevrenin oluştuğunu işaret etmektedir. Ancak mevcut çalışmada uzun süreli kenevir tohumu yağı uygulamasıyla HIF-1 α düzeyinin anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi. Bu durum, endotelial fonksiyonların iyileştiğini ve peritübüler kapiller düzeyde mikropfüzyonun normale döndüğünü düşündürmektedir (Majewski ve Jurgoński, 2021; Bao ve diğerleri, 2018). Böylelikle kenevir tohumu yağı yalnızca hücresel yanıtları değil, aynı zamanda mikrovasküler hemodinamik süreçleri de olumlu yönde etkilemektedir.

Klinik uygulamalar açısından değerlendirildiğinde bu sonuçlar kenevir tohumu yağının rabdomiyoliz gibi iskemik ve oksidatif temelli akut böbrek hasarlı olgularda tamamlayıcı bir fitoterapötik ajan olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir. Mevcut literatürde yer alan vitamin C, nebivolol, baikalın ve likopen gibi bileşenlerle benzer veya daha üstün etki profili gösteren kenevir tohumu yağı, esansiyel yağ asitleri, polifenoller ve fitokannabinoidler aracılığıyla etkisini geniş bir biyokimyasal ve hücresel yelpazede göstermektedir (Callaway, 2004; Kaushal ve diğerleri, 2020; Uzunlar ve Kahveci, 2022). Bununla birlikte, çalışmanın sınırlılıkları arasında rat modeline özgü biyolojik farklılıklar, sadece erkek deneklerle çalışmanın yürütülmüş olması ve izlem süresinin sınırlı kalması gibi faktörler yer almaktadır. Bu nedenle, elde edilen sonuçların genellenebilmesi açısından çok merkezli, uzun dönemli, cinsiyet değişkenini de kapsayan ileri deneysel ve klinik araştırmaların planlanması gerekmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada elde edilen bulgular, yalnızca biyokimyasal parametrelerin değil, aynı zamanda histopatolojik yapıların da kenevir tohumu yağı ile anlamlı düzeyde korunduğunu göstermektedir. Özellikle gliserol grubunda gözlemlenen belirgin bowman kapsülü genişlemesi, interstisyel konjesyon, hücre infiltrasyonu ve nekrotik odakların, uzun süreli yüksek doz kenevir tohumu yağı uygulamasında anlamlı şekilde gerilediği tespit edildi. Bu durum, kenevirin böbrek dokusu üzerindeki hücre koruyucu etkisinin süre ve doz bağımlı olarak arttığını ortaya koymaktadır (Güneş, 2012; Stefanovic ve diğerleri, 2000; Yin ve diğerleri, 2019). Aynı zamanda glomerüler yapının korunması ve bowman boşluğunun genişlememesi, filtrasyon işlevinin anatomik düzeyde desteklenebildiğini düşündürmektedir (Kwiatkowska ve diğerleri, 2020).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız şimdiye kadar literatürde MABH modelinde kenevir tohumu yağının etkilerinin araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.

Tüm bu bulguların ışığında, rabdomiyoliz kaynaklı miyoglobinürik akut böbrek hasarı (MABH) modelinde uygulanan kenevir tohumu yağının hem biyokimyasal hem de histopatolojik düzeyde anlamlı iyileşmeler sağladığı görüldü. Gliserol ile indüklenen akut böbrek hasarında yükselen kreatinin, BUN, MDA, TNF- α , IL-1 β , IL-6, HIF-1 α ve Kaspaz-3 düzeyleri; kenevir tohumu yağı tedavisi ile anlamlı ölçüde geriledi; GSH ve CAT gibi antioksidan parametrelerde ise artış gözlemlendi. Özellikle uzun süreli ve yüksek doz kullanımında, histopatolojik incelemelerde, tübüler dejenerasyon, interstisyel konjesyon, bowman kapsül genişlemesi ve nekroz skorları bakımından en düşük değerler, uzun süreli yüksek doz tedavi grubunda (G+UCS6) saptandı. Elde edilen veriler, kenevir tohumu yağının hem antioksidan hem de antiinflamatuvar etkileri sayesinde rabdomiyolize bağlı akut böbrek hasarına karşı anlamlı bir nefroprotektif potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu etkinin sürece ve doza bağımlı olarak arttığı düşünüldü. Çalışmamızda kenevir tohumu yağının yalnızca destekleyici bir antioksidan ajan olmanın ötesine geçerek inflamasyonu baskılayan, apoptoz sürecini düzenleyen ve histopatolojik bütünlüğü koruyan çok boyutlu bir fitoterapötik ajan olarak dikkat çekmektedir. Sonuç itibarıyla, kenevir tohumu yağı uygulaması, deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı modelinde oksidatif stresin azaltılması, proinflamatuvar sitokinlerin baskılanması, glomerüler ve tubuler yapıların korunması, apoptotik süreçlerin sınırlanması ve hipoksik sinyal yollarının regülasyonu gibi çok katmanlı etkiler ortaya koymaktadır. Bu etkiler doğrultusunda kenevir tohumu yağının, akut böbrek hasarı başta olmak üzere birçok inflamatuvar ve oksidatif temelli böbrek patolojisinde farmakolojik bir ajan olarak değerlendirilmesi önerilmektedir. Zeytinyağı, susam yağı, sarımsak yağı ve çörek otu tohumu yağı gibi bitkisel yağların; sırasıyla tirozol ve oleuropein, sesamin, alicin ve timokinon gibi etken maddeler üzerinden farmakolojik etkiler gösterdiği, literatürde sıklıkla belirtilmiştir. Kenevir tohumu yağına ilişkin literatürdeki çalışmaların artmasıyla birlikte, gelecekte yapılacak farmakokimyasal ileri analizler sayesinde, bu yağın çalışmamızda ortaya konan potansiyel etkilerinin hangi kimyasal bileşenlerden kaynaklandığı da daha net bir şekilde anlaşılabilir. Ayrıca, benzer bir literatür bilgisinin henüz bulunmaması nedeniyle belirlemekte güçlük çektiğimiz doz

aralıkları ve olası toksikasyon dinamiklerinin de ileride yapılacak benzeri araştırmalarla aydınlatılması mümkün olacaktır. Kenevir tohumu yağının klinik kullanımı için insan çalışmalarına dayalı daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Alternatif nefroprotektif ajanlarla karşılaştırmalı çalışmalar yapılarak, bu yağın konvansiyonel tedavilerle birlikte kullanım potansiyeli araştırılmalıdır. Böbrek fonksiyonları üzerindeki uzun vadeli etkilerin anlaşılabilmesi için kapsamlı ve uzun dönemli çalışmalar yürütölmesi faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abbasi, S., Vlachos, I., Rekabi, S., & Talooni, M. (2023). Designing the distribution network of essential items in the critical conditions of earthquakes and COVID-19 simultaneously. *Sustainability*, 15(22), 15900.
- Abdel-Wahhab, M. A., Nada, S. A., & Arbid, M. S. (1999, January). Ochratoxicosis: prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats. In *Journal of Applied Toxicology: An International Forum Devoted to Research and Methods Emphasizing Direct Clinical, Industrial and Environmental Applications* (Vol. 19, No. 1, pp. 7-12). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd..
- Abi-Jaoude, E., Chen, L., Cheung, P., Bhikram, T., Sandor, P. (2017). Preliminary evidence on cannabis effectiveness and tolerability for adults with Tourette syndrome. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 29(4), 391-400.
- Abul-Ezz, S. R., Walker, P. D., Shah, S. V. (1991). Role of glutathione in an animal model of myoglobinuric acute renal failure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(21); 9833–9837. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.21.9833>
- Adler, S., & Huang, H. (2002). Impaired regulation of renal oxygen consumption in spontaneously hypertensive rats. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(7), 1788-1794.
- Agarwal A, Nick HS, 2000. Renal response to tissue injury: lessons from heme oxygenase-1 gene ablation and expression. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11,5, 965-973.
- Ahmed FF, Abd El-Hafeez AA, Abbas SH, Abdelhamid D, Abdel-Aziz M, 2018. New 1, 2, 4-triazole-Chalcone hybrids induce Caspase-3 dependent apoptosis in A549 human lung adenocarcinoma cells. *European journal of medicinal chemistry*, 151, 705-722.
- Akbulut, G., Dilek, O. N., Kahraman, A., Köken, T., & Serteser, M. (2005). The correlation between renal tissue oxidative stress parameters and TNF-alpha levels in an experimental model of ischemia-reperfusion injury in mice.

- Akdam, H. ve Alp, A. (2015). Crush syndrome. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi*, 25(2):71-77.
- Akin, A., & Yilmaz, T. S. (2024). Evaluation of Factors Associated with Mortality in Patients with Crush Syndrome Acquired from the February 6 Kahramanmaraş Earthquake. *New Emirates Medical Journal*, 5(1), e02506882319813.
- Akimau, P., Yoshiya, K., Hosotsubo, H., Takakuwa, T., Tanaka, H., & Sugimoto, H. (2005). New experimental model of crush injury of the hindlimbs in rats. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 58(1), 51-58.
- AlBasher, G., Alfarraj, S., Alarifi, S., Alkhtani, S., Almeer, R., Alsultan, N., ... & Abdel Moneim, A. E. (2020). Nephroprotective role of selenium nanoparticles against glycerol-induced acute kidney injury in rats. *Biological trace element research*, 194, 444-454.
- Ali, B. H., Ramkumar, A., Madanagopal, T. T., Waly, M. I., Tageldin, M., Al-Abri, S., ... & Nemmar, A. (2014). Motor and behavioral changes in mice with cisplatin-induced acute renal failure. *Physiological research*, 63(1), 35.
- Apaydın, S.G. (2002, Mart) Crush Sendromu. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri İç Hastalıklarında Aciller Sempozyum Dizisi, 247-255.
- Apte, R. N., & Voronov, E. (2002, August). Interleukin-1—a major pleiotropic cytokine in tumor–host interactions. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 12, No. 4, pp. 277-290). Academic Press.
- Arınsoy, T., Güngör, Ö., & Koçyiğit, İ. (2017). Böbrek Fizyopatolojisi. *Türk Nefroloji Derneği Yayınları (s: 191-196)*. Erişim adresi: *Böbrek Fizyopatolojisi*, 10, 2017.
- Arınsoy T, Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., ... & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü- Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(3), 362-369.
- Aslankoç, R., Demirci, D., İnan, Ü., Yıldız, M., Öztürk, A., Çetin, M., ... & Yılmaz, B. (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 26(3), 362-369.

- Atef, M. R., Nadjatfl, I., BOROUMAND, B., & Rastegar, A. (1994). Acute renal failure in earthquake victims in Iran: epidemiology and management. *QJM: An International Journal of*
- Atmaca, H. U., & Oğuz, O. (2019). Role of Hypoxia Inducible Factor-1 Alpha in Early Stage Renal Failure and Its Relationship with Biochemical and Inflammatory Parameters. *Medicine*, 87(1), 35-40.
- Aydemir, A. (2013). Akut böbrek hasarı nedeni ile acil servise başvuran hastaların klinik ve demografik özelliklerinin incelenmesi. Uzmanlık Tezi.
- Awdishu, L., & Wu, S. (2017). Acute kidney injury. *Renal/Pulmonary Critical Care*, 2, 7-26.
- Bai, J., Zheng, Y., Wang, G., Liu, P. (2016). Protective effect of D-limonene against oxidative stress-induced cell damage in human lens epithelial cells via the p38 pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- Bartels, S. A., & VanRooyen, M. J. (2012). Medical complications associated with earthquakes. *The Lancet*, 379(9817), 748-757.
- Bao, Y.W., Yuan, Y., Chen, J.H., Lin, W.Q. (2018). Kidney disease models: Tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets. *Zoological Research*, 39(2); 72–86.
- Basile, D. P., Anderson, M. D., & Sutton, T. A. (2012). Pathophysiology of acute kidney injury. *Comprehensive Physiology*, 2(2), 1303.
- Bayrakçi N, Ersan S, Çelik A, Çavdar C, Çamsarı T, Bodur Ha, et al- (2022). The Role of RIFLE, AKIN and KDIGO Criteria in Determining the Relationship Between Acute Kidney Injury and Mortality in Intensive Care Patients. *Namik Kemal Tıp Dergisi*.10(1): 37-42.
- Baeza-Trinidad, R. (2022). Rhabdomyolysis: A syndrome to be considered. *Medicina Clínica (English Edition)*, 158(6), 277-283.
- Basile, D. P., Anderson, M. D., & Sutton, T. A. (2012). Pathophysiology of acute kidney injury. *Comprehensive Physiology*, 2(2), 1303.
- Becker, B. F., Reinholz, N., Leipert, B., Raschke, P., Permanetter, B., & Gerlach, E. (1991). Role of Uric Acid as an Endogenous Radical. *Chest*, 100, 176S-181S.

- Bellomo, R., Ronco, C., Kellum, J.A., Mehta, R.L. Palevsky, P., ADQI, workgroup. (2004) Acute renal failure definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs. *Critical Care*, 8: 204- 212.
- Bellomo, R., Kellum, J. A., & Ronco, C. (2012). Acute kidney injury. *The Lancet*, 380(9843), 756-766.
- Bennike, K.-A., ve Jarnum, S. (1964). Myoglobinuria with acute renal failure possibly induced by suxamethonium: A case report. *British Journal of Anaesthesia*, 36; 730.
- Better, O. S., Abassi, Z., Rubinstein, I., Marom, S., Winaver, Y., & Silberman, M. (1990). The mechanism of muscle injury in the crush syndrome: ischemic versus pressure-stretch myopathy. *Miner Electrolyte Metab*, 16(4), 181-184.
- Bilham, R. (1988). Earthquakes and urban growth. *Nature*, 336(6200), 625-626.
- Bonventre, J. V., & Yang, L. (2011). Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *The Journal of clinical investigation*, 121(11), 4210-4221.
- Booth, J.K., Page, J.E., Bohlmann, J. (2017). Terpene synthases from *Cannabis sativa*. *Plos one*, 12(3), e0173911.
- Bosch, X., Poch, E., & Grau, J. M. (2009). Rhabdomyolysis and acute kidney injury. *New England Journal of Medicine*, 361(1), 62-72.
- Boutaud, O., & Roberts II, L. J. (2011). Mechanism-based therapeutic approaches to rhabdomyolysis-induced renal failure. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 1062-1067.
- Brierley, D.I., Samuels, J., Duncan, M., Whalley, B.J., Williams, C.M. (2017). A cannabigerol rich *Cannabis sativa* extract, devoid of Δ^9 -tetrahydrocannabinol, elicits hyperphagia in rats. *Behavioural pharmacology*, 28(4), 280-284.
- Bulut, A. M., Şirinyıldız, F., Orak, C., & Cesur, G. (2022) The Protective Effects Of Beta Glucan Against Experimental Renal Ischemia Reperfusion Injury. *Acta Medica Alanya*, 6(1), 80-86.
- Bruick, R. K., & McKnight, S. L. (2001). A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science*, 294(5545), 1337-1340.
- Butrica, J.L. (2002). The medical use of cannabis among the Greeks and Romans. *Journal of Cannabis Therapeutics*, 2(2), 51-70.

- Cabral, B. M. I., Edding, S. N., Portocarrero, J. P., & Lerma, E. V. (2020). Rhabdomyolysis. *Disease-a-Month*, 66(8), 101015.
- Carmichael, P., & Carmichael, A. R. (2003). Acute renal failure in the surgical setting. *ANZ journal of surgery*, 73(3), 144-153.
- Cadenas E, Sies H. 1998. The lag phase. *Free radic res*. 28(6), 601-609.
- Callaway, J.C., Tennilä, T., Pate, D.W. (1996). Occurrence of “omega-3” stearidonic acid (cis-6, 9, 12, 15-octadecatetraenoic acid) in hemp (*Cannabis sativa* L.) seed. *Journal of the International Hemp Association*, 3(2), 61-64.
- Callaway, J. C. (2004). Hempseed as a nutritional resource: An overview. *Euphytica*, 140(1);5–72. <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4811-6>
- Carlos, C. P., Sonehara, N. M., Olini, S. M., & Burdmann, E. A. (2014). Predictive usefulness of urinary biomarkers for the identification of cyclosporine A-induced nephrotoxicity in a rat model. *PLoS One*, 9(7), e103660.
- Care, C. S. P. F. (2019). *Joint Trauma System Clinical Practice Guideline*.
- Celebi N, Arikan AA. (2019). Acute Kidney Injury: Definitions and Epidemiology. *Critical Care Pediatric Nephrology and Dialysis: A Practical Handbook*;. p. 3-10.
- Chatterjee PK, Todorovic Z, Sivarajah A, Mota-Filipe H, Brown PA, Stewart KN, Cuzzocrea S, Thiernemann C, 2004. Differential effects of caspase inhibitors on the renal dysfunction and injury caused by ischemia–reperfusion of the rat kidney. *European journal of pharmacology*, 503, 1-3, 173-183.
- Cervellin, G., Comelli, I., & Lippi, G. (2010). Rhabdomyolysis: historical background, clinical, diagnostic and therapeutic features. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 48(6), 749-756.
- Chavez, L. O., Leon, M., Einav, S., & Varon, J. (2016). Beyond muscle destruction: a systematic review of rhabdomyolysis for clinical practice. *Critical care*, 20, 1-11.
- Chatterjee PK, Todorovic Z, Sivarajah A, Mota-Filipe H, Brown PA, Stewart KN, Cuzzocrea S, Thiernemann C, 2004. Differential effects of caspase inhibitors on the renal dysfunction and injury caused by ischemia–reperfusion of the rat kidney. *European journal of pharmacology*, 503, 1-3, 173-183.

- Chatzizisis, Y. S., Misirli, G., Hatzitolios, A. I., & Giannoglou, G. D. (2008). The syndrome of rhabdomyolysis: complications and treatment. *European journal of internal medicine*, 19(8), 568-574.
- Chen, C., Pore, N., Behrooz, A., Ismail-Beigi, F., & Maity, A. (2001). Regulation of glut1 mRNA by hypoxia-inducible factor-1: interaction between H-ras and hypoxia. *Journal of Biological Chemistry*, 276(12), 9519-9525.
- Chen, M., & Manley, J. L. (2009). Mechanisms of alternative splicing regulation: insights from kolcular and genomics approaches. *Nature reviews Molecular cell biology*, 10(11), 741-754.
- Clarkson, M. R., Friedewald, J. J., Eustace, J. A., & Rabb, H. (2007). Acute kidney injury. In *Brenner & Rector's: The Kidney* (pp. 943-987). Saunders Elsevier.
- CJ, S. (2004). Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 5, 343-354.
- Conway, E. M., Collen, D., & Carmeliet, P. (2001). Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovascular research*, 49(3), 507-521.
- Curry, S. C., Chang, D., & Connor, D. (1989). Drug-and toxin-induced rhabdomyolysis. *Annals of emergency medicine*, 18(10), 1068-1084.
- Çanakçı, E., Karataş, A., Dereli, S., Kaya, Y., Bayrak, T., Coşkun, İ., ... & Cebeci, Z. (2022). Yoğun Bakım Hastalarında Gelişen Akut Böbrek Hasarında İskemi Modifiye Albümin ve Myeloperoksidaz Düzeyleri ile Epikardiyal Yağ Dokusu Kalınlığı İlişkisi. *Firat Tıp Dergisi*, 27(4).
- Çavdar, C., Sıfıl, A., & Çamsarı, T. (1997). Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 6(3-4).
- Çakır, M., Tekin, S., Doğanyigit, Z., Çakan, P., & Kaymak, E. (2019). The protective effect of cannabinoid type 2 receptor activation on renal ischemia–reperfusion injury. *Molecular and cellular biochemistry*, 462(1), 123-132.
- Dalkılıç, E.; Gül, B.C.; Alkış, N. Interlökin-6: İnflamasyonda Başrol Oyuncularından, Uludağ Üniversitesi, Tıp Fakültesi Dergisi, (2012); 38(2), 157-160

- Dalugama, C., Pathirage, M., Kularatne, S. A. M. (2018). Delayed presentation of severe rhabdomyolysis leading to acute kidney injury following atorvastatin-gemfibrozil combination therapy: A case report. *Journal of Medical Case Reports*, 12; 143. <https://doi.org/10.1186/s13256-018-1685-0>
- Danış, E. G., Acar, G., Daşdelen, D., Solmaz, M., Moğulkoç, R., & Baltacı, A. K. (2024). Naringin affects caspase-3, il-1 β , and hif-1 α levels in experimental kidney ischemia-reperfusion in rats.
- Deferne, J.L., Pate, D.W. (1996). Hemp seed oil: A source of valuable essential fatty acids. *Journal of the International Hemp Association*, 3(1), 4-7.
- Demirel, S. H., & Çetinkaya, S. (2014). Hipoksiyle İndüklenen Faktör-1: Hücrenin Hipoksiye Fizyolojik ve Patolojik Cevabı. *Sakarya Tıp Dergisi*, 4(4), 171-177.
- De Petrocellis, L., Vellani, V., Schiano-Moriello, A., Marini, P., Magherini, P.C., Orlando, P., Di Marzo, V. (2008). Plant-derived cannabinoids modulate the activity of transient receptor potential channels of ankyrin type-1 and melastatin type-8. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 325(3), 1007-1015
- Devane, W.A., Dysarz, F., Johnson, M.R., Melvin, L.S., Howlett, A.C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular pharmacology*, 34(5), 605-61
- Didik, S., Palygin, O., Chandy, M., Staruschenko, A. (2024). The effects of cannabinoids on the kidney. *Acta Physiologica*, 240(12); e14247. <https://doi.org/10.1111/apha.14247>
- Dönmez, O., Meral, A., Yavuz, M., & Durmaz, O. (2001). Crush syndrome of children in the Marmara Earthquake, Turkey. *Pediatrics International*, 43(6), 678-682.
- Dursun, B., He, Z., Somerset, H., Oh, D. J., Faubel, S., & Edelstein, C. L. (2006). Caspases and calpain are independent mediators of cisplatin-induced endothelial cell necrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 291(3), F578-F587.
- Dursun B. (2021). Akut Böbrek Hasarının Tanımı ve Epidemiyolojisi. Güngör Ö., Koçyiğit İ., Ulu S., Tokgöz B., Arıcı M., Ateş K (Eds) *Türk Nefroloji Derneği Nefroloji Kitabı 2. Cilt içinde* (pp.891-917). Nobel Kitabevi Yayınları.
- Dündar, Y. (2000). *Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar*. Afyon Kocatepe Üniversitesi.

- Edelstein CL, Schrier RW. Bölüm 10 “Akut Böbrek Yetmezliği: Patogenez, Tanı ve Tedavi”
Bölüm Çevirisi: Dursun B, (In: Schrier RW ed. Renal and Electrolyte Disorders, Lippincott Williams and Wilkins.) “Böbrek ve Elektrolit Hastalıkları “ çeviri ed. Süleymanlar G. Güneş Kitabevi 2005;ss:401-455.
- Ek, R. O., Serter, M., Ergin, K., Yildiz, Y., Cecen, S., Kavak, T., & Yenisey, C. (2008). The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on TNBS-induced colitis in ovariectomized rats. *Digestive diseases and sciences*, 53, 1609-1617.
- Elsayed, E. F., & Reilly, R. F. (2010). Rhabdomyolysis: a review, with emphasis on the pediatric population. *Pediatric Nephrology*, 25(1), 7-18.
- Elsaaedy, M. I. A. E., El Gendy, H. M. A., Abd El Hameed, G. A. E. A., & Ebrahim, M. A. S. (2023). Acute Kidney Injury in Polytrauma Patients in Intensive Care Unit: A Prospective Observational Study. *QJM: An International Journal of Medicine*, 116(Supplement_1), hcad069-050.
- Epstein, H.A. (2010). A natural approach to soothing atopic skin. Recommend a stretch marks therapy that lives up to its promises., 95.
- Erasmus, U. (1993). Fats that heal, fats that kill: the complete guide to fats, oils, cholesterol, and human health. Book Publishing Company.
- Erem, C., Sönmez, M., Kavgacı, H., Mocan, Z., Telatar, M. (1998). Akut böbrek yetersizliğinde komplikasyonlar ve mortalite. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 2; 106–110.
- Erge, Ü., Arslan, E., Değer, E.B., Kaya, O., Sapmaz-Metin, M., Gündüz, Ö. (2023) "Protective Effect of Cannabinoid Receptor-2 Blockage in Experimental Myoglobinuric Acute Kidney Injury", *Revista De Nefrologia Dialisis Y Trasplante*, 43 (4) pp. 199-207 [SCI Expanded]
- Erkılınç, G., Bedir, M., Ayözger, L. E. Ö., Doğan, H. K., & Karakuyu, N. F. (2023). Nephroprotective Effect of Astaxanthin Against Radiotherapy Via TAS, TOS (Biochemical), TNF- α , CASPASE-3 (Immunohistochemical), SIRT 1-P53 (Molecular) Pathway in Rats. *Genel Tıp Dergisi*, 33(1), 14-20.
- Ernandez, T., & Mayadas, T. (2009). Immunoregulatory role of TNF α in inflammatory kidney diseases. *Kidney international*, 76(3), 262-276.

- Faubel, S., Ljubanovic, D., Poole, B., Dursun, B., He, Z., Cushing, S., ... & Edelstein, C. L. (2005). Peripheral CD4 T-cell depletion is not sufficient to prevent ischemic acute renal failure. *Transplantation*, 80(5), 643-649.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*. 18(10), 872-879.
- Farag, S., Kayser, O. (2017). The cannabis plant: botanical aspects. In *Handbook of Cannabis and Related Pathologies* (pp. 3-12). Academic Press.
- Fari, G., Megna, M., Scacco, S., Ranieri, M., Raele, M. V., Chiaia Noya, E., ... & Rapone, B. (2023). Hemp seed oil in association with β -caryophyllene, myrcene and ginger extract as a nutraceutical integration in knee osteoarthritis: a double-blind prospective case-control study. *Medicina*, 59(2), 191.
- Farinon, B., Molinari, R., Costantini, L., Merendino, N. (2020). The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition. *Nutrients*, 12(7); 1935. <https://doi.org/10.3390/nu12071935>
- Fouad, A. A., Al-Mulhim, A. S., & Jresat, I. (2012). Cannabidiol treatment ameliorates ischemia/reperfusion renal injury in rats. *Life sciences*, 91(7-8), 284-292.
- Fernández-Fúnez, A., Polo, F. J., Broseta, L., Paz Atienza, M., Mora, A., & Garcia Gascón, F. (2003). Evolution of total antioxidant status in a model of acute renal insufficiency in rats. *Renal failure*, 25(4), 535-543.
- Fidyt, K., Fiedorowicz, A., Strzdała, L., Szumny, A. (2016). β -caryophyllene and β caryophyllene oxide—natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer medicine*, 5(10), 3007-3017.
- Frassinetti S, Moccia E, Caltavuturo L, Gabriele M, Longo V, Bellani L, et al. Nutraceutical potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and sprouts. *Food chemistry*. 2018;262:56-66.
- Fry, A. C., & Farrington, K. (2006). Management of acute renal failure. *Postgraduate medical journal*, 82(964), 106-116.
- Gaoni, Y., Mechoulam, R. (1964). Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American chemical society*, 86(8), 1646-1647.

- Ghavami S, Hashemi M, Ande SR, Yeganeh B, Xiao W, Eshraghi M, Bus CJ, Kadkhoda K, Wiechec E, Halayko AJ, Los M, 2009. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes. *Journal of medical genetics*, 46, 8, 497-510.
- Gibney RT, Sever MS, Vanholder RC. Disaster nephrology: crush injury and beyond. *Kidney Int.* 2014 May;85(5):1049–57.
- Girgih, A. T., He, R., Malomo, S., Offengenden, M., Wu, J., & Aluko, R. E. (2014). Structural and functional characterization of hemp seed (*Cannabis sativa* L.) protein-derived antioxidant and antihypertensive peptides. *Journal of functional foods*, 6, 384-394.
- Grivennikov, S., & Karin, M. (2008). Autocrine IL-6 signaling: a key event in tumorigenesis?. *Cancer cell*, 13(1), 7-9.
- Gupta, A., Thorson, P., Penmatsa, K. R., & Gupta, P. (2021). Rhabdomyolysis: revisited. *The Ulster medical journal*, 90(2), 61.
- Guerini, D., Coletto, L., & Carafoli, E. (2005). Exporting calcium from cells. *Cell calcium*, 38(3-4), 281-289.
- Goubella, A., Gankam-Kengne, F., Baudoux, T., Fagnoul, D., Husson, C., Delforge, M. L., ... & Nortier, J. L. (2017). Severe myoglobinuric acute kidney injury in a kidney recipient: rapid recovery after hemodialysis with the super high-flux membrane Theralite®. *Clinical nephrology*, 88(6), 359.
- Gonzalez D. Crush syndrome. *Crit Care Med.* 2005;33(1 Suppl):S34-41.
- Goyal A, Daneshpajouhnejad P, Hashmi MF, Bashir K. (2020). Acute Kidney Injury. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Göger, F. (2021). Bir Nutrasötik Olarak Kenevir Tohumu Yağı. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 7(1), 24-28.
- Gök G. (2009). Deneysel Myoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Rosiglitazonun Etkileri, Yüksek lisans Tezi (Edirne)
- Guerrero-Hue, M., Rubio-Navarro, A., Sevillano, Á., Yuste, C., Gutiérrez, E., Palomino-Antolín, A., ... & Moreno, J. A. (2018). Adverse effects of the renal accumulation of haem proteins. Novel therapeutic approaches. *Nefrología (English Edition)*, 38(1), 13-26.

- Güneş, H. (2012). Ratlarda oluşturulan deneysel rabdomiyolize ikincil “akut böbrek hasarı”nın erken dönem tanısında “serum kreatinin” ve serum “neutrophil gelatinase-associated lipocalin” değerlerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi.
- Haseley, L., & Jefferson, J. A. (2019). Pathophysiology and etiology of acute kidney injury. *Comprehensive Clinical Nephrology*. 16th ed. Elsevier, 786-801.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1985. The Importance of Free Radicals and Catalytic Metal Ions In Human Diseases. *Mol. Aspects Med.* 8(2), 89-193.
- Halliwell B. 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1(5), 358-364.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1990). The antioxidants of human extracellular fluids. *Archives of biochemistry and biophysics*, 280(1), 1-8.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd ed. New York: Oxford University Press. 10-121.
- Hartsel J A, Eades J, Hickory B, Makriyannis A., (2016). Chapter 53 - Cannabis sativa and Hemp, in *Nutraceuticals*, R.C. Gupta, Editor., Academic Press: Boston. p. 735-54.
- Hellwig-Bürgel, T., Rutkowski, K., Metzen, E., Fandrey, J., & Jelkmann, W. (1999). Interleukin-1 β and Tumor Necrosis Factor- α Stimulate DNA Binding of Hypoxia-Inducible Factor-1. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 94(5), 1561-1567.
- Hendgen-Cotta, U. B., Flögel, U., Kelm, M., & Rassaf, T. (2010). Unmasking the Janus face of myoglobin in health and disease. *Journal of Experimental Biology*, 213(16), 2734-2740.
- Herken, H., Tıftık, A. M., Kaya, N., Hal, S., Dağlar, C., & Gederet, Y. (1999). Bilişsel değişiklikler ile serbest radikal ve oksidatif savunma mekanizmaları arasındaki ilişki. *Düşünen Adam*, 12(4), 16-22.
- Heyman, S. N., Lieberthal, W., Rogiers, P., & Bonventre, J. V. (2002). Animal models of acute tubular necrosis. *Current opinion in critical care*, 8(6), 526-534.
- Himmelfarb J, Joannidis M, Molitoris B, Schietz M et al., (2008). Evaluation and initial management of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3(4): 962- 7

- Ho, C., Martinusen, D., Lo, C. (2019). A review of cannabis in chronic kidney disease symptom management. *Canadian Journal of Kidney Health and Disease*, 6. <https://doi.org/10.1177/2054358119828391>
- Ho, K. M., Power, B. M. (2010). Benefits and risks of furosemide in acute kidney injury. *Anaesthesia*, 65(3); 283–293. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.2009.06199.x>
- Hooda, A. K., Narula, A. S. (2011). Exertional rhabdomyolysis causing acute renal failure. *Medical Journal Armed Forces India*, 67(4); 395–396. [https://doi.org/10.1016/S0377-1237\(05\)80082-6](https://doi.org/10.1016/S0377-1237(05)80082-6)
- Holt, S., & Moore, K. (2000). Pathogenesis of renal failure in rhabdomyolysis: the role of myoglobin. *Experimental nephrology*, 8(2), 72-76.
- Horoz, M., & Özgür, Ö. (2004). Akut böbrek yetmezliği. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 1(3), 48-63.
- Hoste, E. A., Bagshaw, S. M., Bellomo, R., Cely, C. M., Colman, R., Cruz, D. N., ... & Kellum, J. A. (2015). Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study. *Intensive care medicine*, 41, 1411-1423.
- Hoste, E., Bihorac, A., Al-Khafaji, A., Ortega, L. M., Ostermann, M., Haase, M., ... & Chawla, L. S. (2020). Identification and validation of biomarkers of persistent acute kidney injury: the RUBY study. *Intensive care medicine*, 46, 943-953.
- Hu, C. J., Wang, L. Y., Chodosh, L. A., Keith, B., & Simon, M. C. (2003). Differential roles of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) and HIF-2 α in hypoxic gene regulation. *Molecular and cellular biology*, 23(24), 9361-9374.
- Huen, S. C., & Cantley, L. G. (2017). Macrophages in renal injury and repair. *Annual review of physiology*, 79(1), 449-469.
- Hussain, E., Kalaycıoğlu, S., Milliner, C. W., & Çakir, Z. (2023). Preconditioning the 2023 Kahramanmaraş (Türkiye) earthquake disaster. *Nature Reviews Earth & Environment*, 4(5), 287-289.
- Ibn Sina, A. (1143). *Kanun fi at-Tibb* (Canon of medicine) [in Arabic]. 2nd vol. Baku, Azerbaijan: The Institute of Manuscripts of Azerbaijan National Academy of Sciences.

- Ighodaro, O.M. ve Akinloye, O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54 (4), 287-293.
- Ikeda, M., Prachasilchai, W., Burne-Taney, M.J., Rabb, H., Ikeda, N. (2006). Ischemic acute tubular necrosis models and drug discovery: a focus on cellular inflammation. *Drug Discovery Today*, 11: 364 -370.
- İlhan Tarhan, A. (2009). Deneysel miyoglobinin akut böbrek yetmezliğinde nebivololün etkileri.
- İlhan, İ., Asci, H., Ozmen, O., Buyukbayram, H. İ., Arlıoglu, M., & Kurtbolat, O. (2025). The renoprotective effects of cannabidiol on lipopolysaccharide-induced systemic inflammation model of rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 398(2), 1841-1851.
- Inal, M., Altinişik, M., & Bilgin, M. D. (2002). The effect of quercetin on renal ischemia and reperfusion injury in the rat. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*, 20(4), 291-296.
- INSARAG Medical Working Group. (2011). The medical management of the entrapped patient with crush syndrome. *Geneva: United Nations*.
- İşler, D., Şirinyıldız, F., & Ek, R. O. (2022). Effect of Ficus carica (fig) seed oil administration on GSH levels, necrosis and cast formation in myoglobinuric acute kidney injury. *Cukurova Medical Journal*, 47(1), 152-160.
- Izzo, A.A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V., Mechoulam, R. (2009). Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in pharmacological sciences*, 30(10), 515-527.
- Izuwa, Y., Kusaba, J. I., Horiuchi, M., Aiba, T., Kawasaki, H., & Kurosaki, Y. (2009). Comparative study of increased plasma quinidine concentration in rats with glycerol- and cisplatin-induced acute renal failure. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 24(5), 451-457.
- İşler, D. (2021). Deneysel miyoglobinin akut böbrek yetmezliği modelinde incir (Ficus carica) çekirdeği yağının etkileri. Yüksek Lisans Tezi.

- Jakubovski, E., Müller-Vahl, K. (2017). Speechlessness in Gilles de la Tourette syndrome: cannabis-based medicines improve severe vocal blocking tics in two patients. *International journal of molecular sciences*, 18(8), 1739.
- Jan R, 2019. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 9, 2, 205.
- Kahraman, N. K., Kantarcı, G., Kahraman, C. (2009). Rabdomiyoliz ve hipovolemiye bağlı akut üremi ile başvuran nefrotik sendromlu olgu sunumu. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 18(2); 90–93.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1).
- Kasapçopur Özel, G.S., Birdane, Y.O. (2014). Antioxidants. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 7(2): 41-52
- Karataş, Ş. (2015). Sanayi Kenevir Yağının Elde Edilmesi ve Besleyici Özellikleri. *İstanbul Aydın Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Florya Kampüsü Küçükçekmece/İstanbul*.
- Kaur, S., Garg, A., & Kaushal, N. (2021). Hempseed (Cannabis sativa) offers effective alternative over statins in ameliorating hypercholesterolemia associated nephropathy. *Clinical Biochemistry*, 93, 104-111.
- Kaushal, N., Gupta, M., Kulshreshtha, E. (2020). Hempseed (Cannabis sativa) lipid fractions alleviate high-fat diet-induced fatty liver disease through regulation of inflammation and oxidative stress. *Heliyon*, 6(7); e04422. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04422>
- Kayacan S, Sener LT, Melikoglu G, Kultur S, Albeniz I, Ozturk M, 2018. Induction of apoptosis by Centaurea nerimaniae extract in HeLa and MDA-MB-231 cells by a caspase-3 pathway. *Biotechnic & Histochemistry*, 93, 5, 311-319.
- Kellum JA, Lameire N. (2013). Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Critical care (London, England)*, 17(1):204.
- Khosravi, M., Asadikaram, G., Musavi, M., F., Nikvarz, N. (2021). The effect of hempseed oil on markers of systemic inflammation in hemodialysis patients: A single-blind randomized trial. *Journal of Kerman University* <https://doi.org/10.22062/JKMU.2021.91663>

- Kılınç K, Kılınç A., (2002). Oksijen Toksisitesinin Aracı Molekülleri Olarak Oksijen Radikalleri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 33(2): 110-118.
- Kim, D.S., Lee, H.J., Jeon, Y.D., Han, Y.H., Kee, J.Y., Kim, H.J., Kim, S.J. (2015). Alpha-pinene exhibits anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- κ B pathway in mouse peritoneal macrophages. The American journal of Chinese medicine, 43(04), 731-742.
- Kisaoğlu, A., Börekçi, B., Yapca, O.E., Bilen, H., Süleyman, H. (2013). Doku hasarı ve oksidan / antioksidan dengesi. The Eurasian Journal of Medicine, 45 (1): 47–49
- Koçer, M., Karakısa, H., Avcı, A., & Satar, S. (2016). Rabdomiyoliz. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(4), 586-607.
- Korla V., Aslam M., Hanumanthu A., Sailaja P. (2024) Exploring Acute Kidney Injury: A Prospective Analysis of Etiology, Clinical Presentation, and Outcome in a Tertiary Care Hospital Setting. *International Journal of Life Sciences, Biotechnology and Pharma Research Vol. 13, No. 4*,
- Kovacic P, Pozos RS, Somanathan R, ve ark. 2005. Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: Focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. *Curr Med Chem*. 12(22), 2601-2623.
- Koyuncu, F., Solmaz, F. A., Gulle, K., Ilhan, I., Tepebasi, M. Y., Ozden, E. S., & Kirdemir, P. (2025). Effect of dexpanthenol on glycerol-induced acute kidney injury by targeting the PGC-1 α /SIRT3 pathway. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 1-8.
- Kriese U, Schumann E, Weber W E, Beyer M, Brühl L, Matthäus. Oil content, tocopherol composition and fatty acid patterns of the seeds of 51 Cannabis sativa L. genotypes. *Eu phytica*. 2004;137(3):339-51.
- Kurt, B., Yılmaz, İ., Çağlar, K., Karşlıoğlu, Y., Ulaş, Ü. H., Günhan, Ö. (2007). Tekrarlayan miyoglobüriye bağlı böbrek yetmezliği atakları ile seyreden lipid depo miyopatisi: Olgu sunumu. *Gülhane Tıp Dergisi*, 49; 55–57.
- Kwiatkowska, M., Chomicka, I., ve Malyszko, J. (2020). Rhabdomyolysis-induced acute kidney injury – An underestimated problem. *Wiadomości Lekarskie*, 73(11); 2543–2548. <https://doi.org/10.36740/WLek202011137>

- Laham, S. A. A. (2018). The curative effects of methylsulfonylmethane against glycerol-induced acute renal failure in rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(01), e17442.
- Laun, A.S., Shrader, S.H., Brown, K.J., Song, Z.H. (2019). GPR3, GPR6, and GPR12 as novel molecular targets: their biological functions and interaction with cannabidiol. *Acta Pharmacologica Sinica*, 40(3), 300
- Lee, M.A. (2012). *Smoke signals: A social history of Marijuana-Medical, Recreational and Scientific*. Simon and Schuster.
- Leizer, C., Ribnicky, D., Poulev, A., Dushenkov, S., & Raskin, I. (2000). The composition of hemp seed oil and its potential as an important source of nutrition. *Journal of Nutraceuticals, functional & medical foods*, 2(4), 35-53.
- Lima, T., da Nóbrega, F., de Brito, A., de Sousa, D. (2017). Analgesic-like activity of essential oil constituents: an update. *International journal of molecular sciences*, 18(12), 2392.
- Liu L, Zhang P, Bai M, He L, Zhang L, Liu T, Yang Z, Duan M, Liu M, Liu B, Du R, Qian Q, Sun S, 2019. p53 upregulated by HIF-1 α promotes hypoxia-induced G2/M arrest and renal fibrosis in vitro and in vivo. *Journal of Molecular Cell Biology*, 11, 5, 371-382.
- Long, B., Liang, S. Y., & Gottlieb, M. (2023). Crush injury and syndrome: a review for emergency clinicians. *The American journal of emergency medicine*, 69, 180-187.
- Lübbers, D. W., & Baumgärtl, H. (1997). Heterogeneities and profiles of oxygen pressure in brain and kidney as examples of the pO₂ distribution in the living tissue. *Kidney international*, 51(2), 372-380.
- Majewski, M., Jurgoński, A. (2021). The effect of hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds and hemp seed oil on dysfunction in obese male Zucker rats. *Nutrients*, 13(8); 2575. <https://doi.org/10.3390/nu13082575>
- Malini, T., Vanithakumari, G. (1990). Rat toxicity studies with β -sitosterol. *Journal of ethnopharmacology*, 28(2), 221-234.
- Masella, R., Di Benedetto, R., Vari, R., Filesì, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and gl

- Matthäus, B., & Brühl, L. (2008). Virgin hemp seed oil: An interesting niche product. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(7), 655-661.
- utathione-related enzymes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 16(10), 577-586.
- McKenna, P. (2011). Earthquake engineer: Earthquakes don't kill, but buildings do. *New Scientist*, 210(2813), 23.
- Makris K, Spanou L. (2016). Acute kidney injury: definition, pathophysiology and clinical phenotypes. *Clin Biochem Rev*, 37(2):85-98.
- McDaniel BL, Bentley ML. (2015). The role of medications and their management in acute kidney injury. *Integr Pharm Res Pract*. 4:21-9.
- Mechoulam, R. The pharmacohistory of Cannabis sativa . Mechoulam, R., (ed) cannabinoids as therapeutic agents BocaRaton CRC Press 1986; (s.1-19)
- Mechoulam, R. (2019). The pharmacohistory of Cannabis sativa. *Cannabinoids as therapeutic agents*, 1-20.
- Michaelson, M. (1992). Crush injury and crush syndrome. *World journal of surgery*, 16(5), 899-903.
- Mercado, M. G., Smith, D. K., & Guard, E. L. (2019). Acute kidney injury: diagnosis and management. *American family physician*, 100(11), 687-694.
- Mohamed MS, Bishr MK, Almutairi FM, Ali AG, 2017. Inhibitors of apoptosis: clinical implications in cancer. *Apoptosis*, 22, 12, 1487-1509
- Mokhtari, I., Taaifi, Y., Harnafi, M., Belhaj, K., Mansouri, F., Melhaoui, R., Addi, M., Hano, C., Amrani, S., Harnafi, H., El Amrani, A. (2022). Hypolipidemic effect of hemp seed oil from the northern Morocco endemic Beldiya ecotype in a mice model: Comparison with fenofibrate hypolipidemic drugs. *Journal of Food Quality*, 2022; Article ID 9142395. <https://doi.org/10.1155/2022/9142395>
- Moore E, Bellomo R, 2011. Erythropoietin (EPO) in acute kidney injury. *Annals of intensive care*, 1, 1, 1-10.
- Murugan R, Kellum JA. (2011). Acute kidney injury: what's the prognosis? *Nature reviews Nephrology*. 7(4):209-17.

- Młynarska, E., Kustosik, N., Mejza, M., Łysoń, Z., Delebiś, D., Orlński, J., Rysz, J., Franczyk, B. (2025). Renal outcomes and other adverse effects of cannabinoid supplementation. *Nutrients*, 17(1), 59. <https://doi.org/10.3390/nu17010059>
- Nagata S, 2018. Apoptosis and clearance of apoptotic cells. *Annu Rev Immunol*, 36, 1, 489-517.
- Nara, A., Yajima, D., Nagasawa, S., Abe, H., Hoshioka, Y., & Iwase, H. (2016). Evaluations of lipid peroxidation and inflammation in short-term glycerol-induced acute kidney injury in rats. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 43(11), 1080-1086.
- National Center for Environmental Information. Billion-Dollar Weather and Climate Disasters. Available at: <https://www.ncei.noaa.gov/access/billions/>; 2023. Accessed 12 February 2023.
- Nayak, S., Jindal, A. (2015). Myoglobinuria and acute kidney injury. *Journal of Integrative Nephrology and Andrology*, 2(2); 50–54. <https://doi.org/10.4103/2225-1243.155775>
- Oda, J., Tanaka, H., Yoshioka, T., Iwai, A., Yamamura, H., Ishikawa, K., ... & Sugimoto, H. (1997). Analysis of 372 patients with crush syndrome caused by the Hanshin-Awaji earthquake. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 42(3), 470-476.
- Okubo, K., Kurosawa, M., Kamiya, M., Urano, Y., Suzuki, A., Yamamoto, K., ... & Hirahashi, J. (2018). Macrophage extracellular trap formation promoted by platelet activation is a key mediator of rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *Nature medicine*, 24(2), 232-238.
- Onay, A., Haspolat, Y. K., & Türken, A. (2021). Endüstriyel kenevir tohumlarının proteinleri, yağları ve bir besin kaynağı olarak potansiyel kullanımları. S:813-839 <https://www.researchgate.net/publication/357381377>
- Onur, Ö., Güneysel, Ö., Eroğlu, S., Denizbaşı, A., Ünlüer, E. (2006). Rabdomiyolize bağlı gelişen akut tubuler nekrozda kas kitlesinin önemi: Olgu sunumu. *Marmara Medical Journal*, 19(1); 30–32.
- Orak, C. (2020). İncir (ficus carica) çekirdeği yağının deneysel mezenterik arter oklüzyonuna bağlı ince barsak iskemi reperfüzyon hasarı üzerine olası etkileri.

- Ormrod, D. J., Harrison, G. L., & Miller, T. E. (1987). Inhibition of neutrophil myeloperoxidase activity by selected tissues. *Journal of Pharmacological Methods*, 18(2), 137-142.
- Owokotomo, I.A., Ekundayo, O., Abayomi, T.G., Chukwuka, A.V. (2015). In-vitro anti cholinesterase activity of essential oil from four tropical medicinal plants. *Toxicology reports*, 2, 850-857
- Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z. (2015). Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336. <https://doi.org/10.5799/ahinjs.01.2015.03.0545>
- Özel, G. S. K., & Birdane, Y. O. (2014). Antioxidants. *Kocatepe Veterinary Journal*, 7(2), 41-52.
- Park, F., Potukuchi, P. K., Moradi, H., Kovesdy, C. P. (2017). Cannabinoids and the kidney: effects in health and disease. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 313(5); F1124–F1132. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00290.2017>
- Pasqua, T., Rocca, C., Lupi, F. R., Baldino, N., Amelio, D., Parisi, O. I., ... & Angelone, T. (2020). Cardiac and metabolic impact of functional foods with antioxidant properties based on whey derived proteins enriched with hemp seed oil. *Antioxidants*, 9(11), 1066.
- Patrick, L. (2011). Gastroesophageal reflux disease (GERD): a review of conventional and alternative treatments. *Alternative Medicine Review*, 16(2).
- Patschan, D., & Müller, G. A. (2015). Acute kidney injury. *Journal of Injury and Violence Research*, 7(1), 19.
- Perez-Meseguer, J., Torres-González, L., Gutiérrez-González, J. A., Alarcón-Galván, G., Zapata-Chavira, H., Waksman-de Torres, N., ... & Cordero-Pérez, P. (2019). Anti-inflammatory and nephroprotective activity of *Juglans mollis* against renal ischemia–reperfusion damage in a Wistar rat model. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 1-9.
- Petejova, N., & Martinek, A. (2014). Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. *Critical Care*, 18(3), 1-8.

- Pertwee, R.G. (2008). The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin. *British journal of pharmacology*, 153(2), 199-215.
- Pham-Huy LA, He H, Pham-Huyc C. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 4(2), 89-96.
- Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013(1), 956792.
- Poljšak, B., Jamnik, P., Raspor, P., & Pesti, M. (2019). Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution
- Rabb, H., Griffin, M. D., McKay, D. B., Swaminathan, S., Pickkers, P., Rosner, M. H., ... & Ronco, C. (2016). Inflammation in AKI: current understanding, key questions, and knowledge gaps. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(2), 371-379.
- Rabie, T., & Marti, H. H. (2008). Brain protection by erythropoietin: a manifold task. *Physiology*, 23(5), 263-274.
- Rahman M, Shad F, Smith MC. (2012). Acute kidney injury: a guide to diagnosis and management. *Am Fam Physician* 86(7):631-9.
- Rankin, E.B., et al., (2007)., Hypoxia-inducible factor-2 (HIF-2) regulates hepatic erythropoietin in vivo. *J Clin Invest*, 117(4): p. 1068-77
- Rao, A. M., Apoorva, R., Anand, U., Anand, C. V., & Venu, G. (2012). Effect of hemodialysis on plasma myeloperoxidase activity in end stage renal disease patients. *Indian journal of clinical biochemistry*, 27, 253-258.
- Ratcliffe, P. J., O'rourke, J. F., Maxwell, P. H., & Pugh, C. W. (1998). Oxygen sensing, hypoxia-inducible factor-1 and the regulation of mammalian gene expression. *Journal of experimental biology*, 201(8), 1153-1162.
- Rein, J. L. (2020). The nephrologist's guide to cannabis and cannabinoids. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000590>
- Reis, N. G., Francescato, H. D. C., de Almeida, L. F., Silva, C. G. A. D., Costa, R. S., & Coimbra, T. M. (2019). Protective effect of calcitriol on rhabdomyolysis-induced acute kidney injury in rats. *Scientific Reports*, 9(1), 7090.

- Rewa, O., & Bagshaw, S. M. (2014). Acute kidney injury—epidemiology, outcomes and economics. *Nature reviews nephrology*, 10(4), 193-207.
- Rezapour-Firouzi S, Arefhosseini S R, Mehdi F, Mehrangiz E M, Baradaran B, Sadeghi hokmabad E, et al. Immunomodulatory and therapeutic effects of Hot-nature diet and co supplemented hemp seed, evening primrose oils intervention in multiple sclerosis patients. *Complementary Therapies in Medicine*. 2013;21(5):473-80.
- Rezapour-Firouzi, S., Arefhosseini, S. R., Ebrahimi-Mamaghani, M., Baradaran, B., Sadeghihokmabad, E., Mostafaei, S., ... & Chehreh, M. (2015). Alteration of delta-6-desaturase (FADS2), secretory phospholipase-A2 (sPLA2) enzymes by Hot-nature diet with co-supplemented hemp seed, evening primrose oils intervention in multiple sclerosis patients. *Complementary therapies in medicine*, 23(5), 652-657.
- Radocaj O, Dimic E, Tsao R. (2014). Effects of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil Press-Cake and Decaffeinated Green Tea Leaves (*Camellia sinensis*) on Functional Characteristics of Gluten-Free Crackers. *Journal of Food Sci ence*. 79(3):C318-C325.
- Rogers C, Fernandes-Alnemri T, Mayes L, Alnemri D, Cingolani G, Alnemri ES, 2017. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death. *Nature communications*, 8, 1, 1-14.
- Rogers C, Erkes DA, Nardone A, Aplin AE, Fernandes-Alnemri T, Alnemri E. S, 2019. Gasdermin pores permeabilize mitochondria to augment caspase-3 activation during apoptosis and inflammasome activation. *Nature communications*, 10, 1, 1-17.
- Romano, B., Borrelli, F., Fasolino, I., Capasso, R., Piscitelli, F., Cascio, M.G., Di Marzo, V. (2013). The cannabinoid TRPA1 agonist cannabichromene inhibits nitric oxide production in macrophages and ameliorates murine colitis. *British journal of pharmacology*, 169(1), 213-229.
- Ross, D. (1988). Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents: mechanisms of free-radical induced toxicity and glutathione-dependent protection. *Pharmacology & therapeutics*, 37(2), 231-249.
- Rosenberger, C., Mandriota, S., Ju, J. S., Wiesener, M. S., Ho, J. H., Frei, U., ... & Eckardt, K. U. (2002). Expression of hypoxia-inducible factor-1 α and-2 α in hypoxic and

- ischemic rat kidneys. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(7), 1721-1732.
- Roy JP, Devarajan P. (2020). Acute Kidney Injury: Diagnosis and Management. *Indian J Pediatr*, 87(8):600-7.
- Russo, E.B., Jiang, H.E., Li, X., Sutton, A., Carboni, A., Del Bianco, F., Zhang, Y.B. (2008). Phytochemical and genetic analyses of ancient cannabis from Central Asia. *Journal of experimental botany*, 59(15), 4171-4182.
- Russo, E.B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British journal of pharmacology*, 163(7), 1344-1364.
- Ryz, N.R., Remillard, D.J., Russo, E.B. (2017). Cannabis roots: a traditional therapy with future potential for treating inflammation and pain. *Cannabis and cannabinoid research*, 2(1), 210-216.
- Sabuncuoğlu, S., & Özgüneş, H. (2011). Kemoterapi, serbest radikaller ve oksidatif stres. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (2), 137-150.
- Sailaja, P. Exploring Acute Kidney Injury: A Prospective Analysis of Etiology, Clinical Presentation, and Outcome in a Tertiary Care Hospital Setting.
- Saleh, M. E. A. (2019). *Gökkuşığı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) üretiminde kenevir tohumu yağının (Cannabis sativa) immunostimulant potansiyelinin belirlenmesi* (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Samuel, H. U., Balasubramaniyan, T., Thirumavalavan, S., Vasudevan, C., Kumar, R. S., Murugesan, V., & Abraham, A. (2021). Rhabdomyolysis with myoglobin-induced acute kidney injury: A case series of four cases. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 64(2), 382-384
- Savic V, Vlahovic P, Djordjevic V, Mitic-Zlatkovic M, Avramovic V, Stefanovic V., (2002). Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. *Pathologie Biologie*, p:50, 599–607
- Schietke R, Warnecke C, Wacker I, Schödel J, Mole DR, Campean V, Amann K, Goppelt Strube M, Behrens J, Eckardt KU, Wiesener MS, 2010. The lysyl oxidases LOX and LOXL2 are necessary and sufficient to repress E-cadherin in hypoxia: insights into cellular transformation processes mediated by HIF-1. *Journal of Biological Chemistry*, 285, 9, 6658-6669

- Scholz CC, Cavadas MA, Tambuwala MM, Hams E, Rodríguez J, Kriegsheim AV, Cotter P, Bruning U, Fallon PG, Cheong A, Cummins EP Taylor CT, 2013. Regulation of IL-1 β -induced NF- κ B by hydroxylases links key hypoxic and inflammatory signaling pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 46, 18490-18495.
- Semenza, G. L. (2010). HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Current opinion in genetics & development*, 20(1), 51-56.
- Sendoel A, Hengartner MO, 2014. Apoptotic cell death under hypoxia. *Physiology*, 29, 3, 168-176
- Sevim, Y. (2015). Otozomal dominant polikistik böbrek hastalarının besin tüketimleri ile böbrek kist volümleri arasındaki ilişkinin incelenmesi. Doktora Tezi.
- Shakeri R, Kheirollahi A, Davoodi J, 2017. Apaf-1: Regulation and function in cell death. *Biochimie*, 135, 111-125.
- Sharfuddin, A. A., & Molitoris, B. A. (2011). Pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 7(4), 189-200.
- Singh, A. P., Muthuraman, A., Jaggi, A. S., Singh, N., Grover, K., & Dhawan, R. (2012). Animal models of acute renal failure. *Pharmacological Reports*, 64(1), 31-44.
- Stahl, K., Rastelli, E., & Schoser, B. (2020). A systematic review on the definition of rhabdomyolysis. *Journal of neurology*, 267, 877-882.
- Semenovich, D. S., Plotnikov, E. Y., Lukiyenko, E. P., Astrowski, A. A., & Kanunnikova, N. P. (2022). Protective effect of D-panthenol in rhabdomyolysis-induced acute kidney injury. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12273.
- Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y. S. R., & De, B. (2010). Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 3(1), 91-100.
- Sever, M. Ş., Erek, E., Vanholder, R., Akoğlu, E., Yavuz, M., Ergin, H., ... & Marmara Earthquake Study Group. (2001). The Marmara earthquake: epidemiological analysis of the victims with nephrological problems. *Kidney international*, 60(3), 1114-1123.

- Sever, M. S., Erek, E., Vanholder, R., Ozener, C., Yavuz, M., Kayacan, S. M., ... & Lameire, N. (2002). Lessons learned from the Marmara disaster: Time period under the rubble. *Critical care medicine*, 30(11), 2443-2449.
- Sever, M.Ş. (2009). Crush sendromu ve marmara depremi'nin öğrettikleri. T. Akpolat, C. Utaş (Eds) Hemodiyaliz Hekimi El Kitabı 2. İçinde (pp. 38- 55). Samsun. Türk nefroloji Derneği Yayınları.
- Sever, M. S., Vanholder, R., Ashkenazi, I., Becker, G., Better, O., Covic, A., ... & Van Biesen, W. (2012). Recommendations for the management of crush victims in mass disasters. *Nephrology dialysis transplantation*, 27(suppl. 1), i4-i67.
- Sever, M. Ş., Katı, Y. A., & Özkaya, U. (2023). Destructive disasters, trauma, crush syndrome, and beyond. *Acta orthopaedica et traumatologica turcica*, 57(6), 306.
- Shinde A, Ganu J, Naik P. 2012. Effect of free radicals & Antioxidants on oxidative stress: A review. *J Dental Allied Sciences*. 1(2), 63-66.
- Shulman, L.M., Yuhas, Y., Frolkis, I., Gavendo, S., Knecht, A., Eliahou, H.E. (1993). Glycerol induced ABY in rats is mediated by tumor necrosis factor- α *Kidney International*, 43 (6): 1397-401.
- Siano, F., Moccia, S., Picariello, G., Russo, G. L., Sorrentino, G., Di Stasio, M., ... & Volpe, M. G. (2018). Comparative study of chemical, biochemical characteristic and ATR-FTIR analysis of seeds, oil and flour of the edible Fedora cultivar hemp (*Cannabis sativa* L.). *Molecules*, 24(1), 83.
- Smeriglio, A., Galati, E. M., Monforte, M. T., Lanuzza, F., D'Angelo, V., & Circosta, C. (2016). Polyphenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cold-Pressed Seed Oil from Finola Cultivar of *Cannabis sativa* L. *Phytotherapy Research*, 30(8), 1298-1307.
- Simopoulos, A. P. (2008). The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental biology and medicine*, 233(6), 674-688.
- Sokoła-Wysoczańska, E., Wysoczański, T., Wagner, J., Czyż, K., Bodkowski, R., Lochyński, S., & Patkowska-Sokoła, B. (2018). Polyunsaturated fatty acids and their potential therapeutic role in cardiovascular system disorders—a review. *Nutrients*, 10(10), 1561.

- Soliman, N. A., Dahmy, S. I. E., Shalaby, A. A., et al. (2024). Prospective affirmative therapeutics of cannabidiol oil mitigates doxorubicin-induced abnormalities in kidney function, inflammation, and renal tissue changes. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 397; 3897–3906. <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02836-4>
- Slater, M. S., & Mullins, R. J. (1998). Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients: a review. *Journal of the American College of Surgeons*, 186(6), 693-716.
- Smeriglio, A., Giofrè, S.V., Galati, E.M., Monforte, M.T., Cicero, N., D'Angelo, V., Circosta, C. (2018). Inhibition of aldose reductase activity by Cannabis sativa chemotypes extracts with high content of cannabidiol or cannabigerol. *Fitoterapia*, 127, 101-108.
- Souto-Maior, F.N., Fonsêca, D.V.D., Salgado, P.R.R., Monte, L.D.O., de Sousa, D.P., de Almeida, R.N. (2017). Antinociceptive and anticonvulsant effects of the monoterpene linalool oxide. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 63-67
- Stefanovic, V., Savic, V., Vlahovic, P., Cvetkovic, T., Najman, S., Mitic-Zlatkovic, M. (2000). Reversal of experimental myoglobinuric acute renal failure with bioflavonoids from seeds of grape. *Renal Failure*, 22(3); 255–266. <https://doi.org/10.1081/jdi-100100870>
- Su, L. J., Zhang, J. H., Gomez, H., Murugan, R., Hong, X., Xu, D., ... & Peng, Z. Y. (2019). Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019(1), 5080843.
- Sun C, Liu H, Guo J, Yu Y, Yang D, He F, Du Z, 2017. MicroRNA-98 negatively regulates myocardial infarction-induced apoptosis by down-regulating Fas and caspase-3. *Scientific reports*, 7, 1, 1-11.
- Sun DK, Wang L, Zhang P, 2017. Antitumor effects of chrysanthemin in PC-3 human prostate cancer cells are mediated via apoptosis induction, caspase signalling pathway and loss of mitochondrial membrane potential. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14,4, 54-61.

- Şirinyıldız, F., & Cesur, G. (2021). Investigation of protective effects of different doses of omega 3 fatty acids in experimental renal ischemia reperfusion damage. *Medical Journal of Süleyman Demirel University*, 28(2), 283-289.
- Tabakoğlu, E. Durgut, R. (2013). Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. *Adana Veteriner Kontrol Ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3(1),69-75.
- Tanrıverdi M. (2010). Akut böbrek yetmezliği. *Konuralp Medical Journal*, 2(1), 46-52.
- Tambe, Y., Tsujiuchi, H., Honda, G., Ikeshiro, Y., & Tanaka, S. (1996). Gastric cytoprotection of the non-steroidal anti-inflammatory sesquiterpene, β -caryophyllene. *Planta medica*, 62(05), 469-470.
- Tarhan, A. İ. (2010). Deneysel miyoglobürik akut böbrek yetmezliğinde nebivololün etkileri. Yüksek Lisans Tezi.
- Taşkaplan, H., Utaş, C. (2002). Akut böbrek yetmezliği tedavisinde diyaliz yöntemleri. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 11(4); 191–199.
- Thiel G, Wilson DR, Arce ML, Oken DE: Glycerol in duced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. *Nephron*, 1967, 4, 276–297.
- Tokmak, D., (2017). *TNBS ile oluşturulmuş deneysel kolit modelinde beta glukanın etkisi* (Yüksek Lisans Programı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).83
- Trillaud, H., Degreze, P., Combe, C., Deminiere, C., Palussiere, J., Benderbous, S., & Grenier, N. (1995). USPIO-enhanced MR imaging of glycerol-induced acute renal failure in the rabbit. *Magnetic resonance imaging*, 13(2), 233-240.
- Ulugöl, A. (2018). Kannabis bitkisi ve kannabinoidlere giriş. *Türkiye Klinikleri Pharmacology Special Topics*, 6(1), 1-5.
- Usluoğulları, C. A. (2008). Yoğun bakım ünitesinde akut böbrek yetmezliği ile takip edilen hastaların sınıflandırılması ve mortaliteyi etkileyen faktörler. Uzmanlık Tezi.
- Ustundag, S., Yalcin, O., Sen, S., Cukur, Z., Ciftci, S., Demirkan, B. (2008). Experimental myoglobinuric acute renal failure: The effect of vitamin C. *Renal Failure*, 30(7); 727–735. <https://doi.org/10.1080/08860220802212965>

- Ustundag, S., Sen, S., Yalcin, O., Ciftci, S., Demirkan, B., & Ture, M. (2009). L-Carnitine ameliorates glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. *Renal failure*, 31(2), 124-133.
- Uzun, S. (2016). Deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarında likopenin etkileri. Yüksek Lisans Tezi.
- Uzunlar, E. A., Kahveci, B. (2022). Nutritional properties and health effects of hemp seeds. Research and Reviews on Healthcare: Open [https:// 10.32474/RRHOAJ.2022.07.000258](https://10.32474/RRHOAJ.2022.07.000258)
- Valko M, Leibfritz D, Moncola J, ve ark. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 39, 44-84.
- Vanholder, R., Sever, M. S., Ereke, E., & Lameire, N. Rhabdomyolysis *J Am Soc Nephrol*, 11 (2000). *Crossref View in Scopus*, 1553-1561.
- Verma, S. K., & Molitoris, B. A. (2015, January). Renal endothelial injury and microvascular dysfunction in acute kidney injury. In *Seminars in nephrology* (Vol. 35, No. 1, pp. 96-107). WB Saunders.
- Vitorović, J., Joković, N., Radulović, N., Mihajilov-Krstev, T., Cvetković, V. J., Jovanović, N., ... & Bernstein, N. (2021). Antioxidant activity of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil in *Drosophila melanogaster* larvae under non-stress and H₂O₂-induced oxidative stress conditions. *Antioxidants*, 10(6), 830.
- Vlahovic P, Cvetkovic T, Savic V, Stefanovic V: Dietary curcumin does not protect kidney in glycerol-induced acute renal failure. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45, 1777–1782
- Wang, S., Luo, Q., & Fan, P. (2019). Cannabisin F from hemp (*Cannabis sativa*) seed suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in BV2 microglia as SIRT1 modulator. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 507.
- Wang, G. L., Jiang, B. H., Rue, E. A., & Semenza, G. L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proceedings of the national academy of sciences*, 92(12), 5510-5514.
- Wang Z, Tang L, Zhu Q, Yi F, Zhang F, Li PL, Li N, 2011. Hypoxia-inducible factor-1 α contributes to the profibrotic action of angiotensin II in renal medullary interstitial cells. *Kidney international*, 79, 3, 300-310.

- Wang, J., Wang, D., Li, Y., Zuo, H., Wang, S., Xu, X., ... & Peng, R. (2013). Rhabdomyolysis-induced acute kidney injury under hypoxia and deprivation of food and water. *Kidney and Blood Pressure Research*, 37(4-5), 414-421.
- Wang Z, Zhu Q, Li PL, Dhaduk R, Zhang F, Gehr TW, Li N, 2014. Silencing of hypoxia inducible factor-1 α gene attenuates chronic ischemic renal injury in two-kidney, one-clip rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 306, 10, F1236-F1242.
- Wang, H., Kang, X., Shi, Y., Bai, Z. H., Lv, J. H., Sun, J. L., & Pei, H. H. (2020). SOFA score is superior to APACHE-II score in predicting the prognosis of critically ill patients with acute kidney injury undergoing continuous renal replacement therapy. *Renal Failure*, 42(1), 638-645.
- Wang, P. T., Li, N., Wang, X. Y., Chen, J. L., Geng, C. H., Liu, Z. Q., ... & Gong, Y. H. (2021). RIG-I, a novel DAMPs sensor for myoglobin, activates NF- κ B/caspase-3 signaling in CS-AKI model. *Military Medical Research*, 8, 1-13.
- Wang, Q., Qi, G., Zhou, H., Cheng, F., Yang, X., Liu, X., & Wang, R. (2023). Protective effect of thymol on glycerol-induced acute kidney injury. *Renal failure*, 45(1), 2227728.
- Warnecke C, Zaborowska Z, Kurreck J, Erdmann VA, Frei U, Wiesener M, Eckardt KU, 2004. Differentiating the functional role of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and HIF-2 α (EPAS 1) by the use of RNA interference: erythropoietin is a HIF-2 α target gene in Hep3B and Kelly cells. *The FASEB Journal*, 18(12), 1462-1464.
- Welch, W. J., Blau, J., Xie, H., Chabrashvili, T., & Wilcox, C. S. (2005). Angiotensin-induced defects in renal oxygenation: role of oxidative stress. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 288(1), H22-H28.
- Wolfert AI, Oken DE: Glomerular hemodynamics in established glycerol-induced ARF in the rat. *J Clin Invest*, 1989, 84, 1967–1973.
- Wu J, Pan X, Fu H, Zheng Y, Dai Y, Yin Y, et al. (2017). Effect of curcumin on glycerol-induced acute kidney injury in rats. *Sci Rep*, 7(1):10114.
- Xiao Z, Shan J, Li C, Luo L, Lu J, Li S, Long D, Li Y, 2013. Mechanisms of cyclosporine-induced renal cell apoptosis: a systematic review. *American journal of nephrology*, 37, 1, 30-40

- Yaman Z., (2022). Kenevir tohumu yağının esansiyel yağ asitlerinin belirlenmesi ve akciğer kanser hücresi üzerinde in vitro olarak antikanserojenik özelliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Malatya.
- Yıldırım, S., Çalışkan, U. K. (2020). Kenevir ve sağlık alanında kullanımı. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi, 44(1), 112–136. <https://doi.org/10.33483/jfpau.559665>
- Yağbasan, Y. (2008). Deneysel akut böbrek yetersizliği modelinde deksmedetomidinin koruyucu etkinliğinin araştırılması. Uzmanlık Tezi.
- Yalçınkaya Yavuz, Ö. (2013). Deneysel miyoglobinin akut böbrek yetmezliğinde baicalinin etkileri. Yüksek Lisans Tezi.
- Yalçınkaya Yavuz, Ö., Aydoğdu, N., Taştekin, E., Süt, N. (2018). The effects of baicalin on myoglobinuric acute renal failure in rats. Balkan Medical Journal, 35; 68–76.
- Yang, D., Michel, L., Chaumont, J.P., Millet-Clerc, J. (2000). Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of onychomycosis. Mycopathologia, 148(2), 79-82.
- Yavuz, Y., Sevinç C., Tokgöz, B., (2017). Böbrek Fizyopatolojisi. Arınsoy T., Güngör, Ö., Koçyiğit, İ., (Eds) Türk nefroloji Derneği Yayınları. S: 191-197.
- Yıldız G., (2013). Trinitrobenzen Sülfonik Asit (Tnbs) ile Oluşturulan Deneysel Kolit Modelinde Resveratrol'un Antioksidan Metabolizmaya Etkileri, Doktora Programı, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Aydın, 80.
- Yun, J. (2014). Limonene inhibits methamphetamine-induced locomotor activity via regulation of 5-HT neuronal function and dopamine release. Phytomedicine, 21(6), 883-887.
- Yüceyar, S., Gümüştaş, K., Ertürk, S., Hamzaoğlu, I. H., Uygun, N., Ayaz, M., ... & Kafadar, Y. (1998). The role of oxygen free radicals in acute renal failure complicating obstructive jaundice: an experimental study. *HPB Surgery*, 10(6), 387-393.
- Yöntem M, Ünal M. Biyokimya, İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevleri, 2018, 643-662.
- Zager, R. A. (1996). Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney international*, 49(2), 314-326.

- Zhang, W., & Edwards, A. (2002). Oxygen transport across vasa recta in the renal medulla. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 283(3), H1042-H1055.
- Zheng, J., Chen, P., Zhong, J., Cheng, Y., Chen, H., He, Y., & Chen, C. (2021). HIF-1 α in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Molecular medicine reports*, 23(5), 352.
- Zhi-Yong, S. (1987). Medical support in the Tangshan earthquake: a review of the management of mass casualties and certain major injuries. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 27(10), 1130-1135.
- Zorova, L. D., Pevzner, I. B., Chupyrkina, A. A., Zorov, S. D., Silachev, D. N., Plotnikov, E. Y., & Zorov, D. B. (2016). The role of myoglobin degradation in nephrotoxicity after rhabdomyolysis. *Chemico-biological interactions*, 256, 64-70.

T.C.

AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Deneyisel Miyoglobürik Akut Böbrek Yetmezliği Modelinde Kenevir Tohumu Yağının (Cannabis Sativa Seed Oil) Olası Etkileri” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....

Deren TOKMAK

17 / 07 / 2025

EKLER

Ek 1. HADYEK Onay Belgesi (Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı)



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın, 10/03/2022

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022 Yılı I. Oturum
Sayı : 64583101/2022/001
Proje Başlığı : DeneySEL Miyoglobülinrik Akut Böbrek Yetmezliği Modelinde Kenevir Tohumu Yağının (Cannabis Sativa Seed Oil) Olası Etkileri.
Proje Yürütücüsü : Recep ÖZMERDİVENLİ
Proje Ekibi : Pakize ÖZÇİFTÇİ YILMAZ, Ferhat ŞİRİNYILDIZ, Deren TOKMAK
Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
Hayvan Çalışması : İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARIARLER

Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı

Toplantıya Katılmadı

Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

Prof. Dr. Ali SONMEZ
Üye

Prof. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder
ÜSTÜNDAĞ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Öğr. Gör. Dr. Asude Gülce GÜLER
ORYAŞIN Sor. Vet. Hek.
Üye

Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye

Arş. Gör. Eda Duygu İPEK
Sor. Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

ÖZ GEÇMİŞ

Ad Soyad : Deren TOKMAK
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Yılı : Kocaeli/ İzmit. 18.10.1978.

Telefon : 0507 766 03 93
E-mail : derentokmak5@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Adnan Mendeeres Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji (TIP) ABD	2017
Lisans	Dumlupınar Üniversitesi Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Bölümü	2004
Önlisans	Trakya Üniversitesi Sağlık hizmetleri Meslek Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü	1998

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2018- Devam	Aydın Kuşadası Devlet Hastanesi	Fizyoterapist
2015-2018	İzmir Ödemiş Devlet Hastanesi	Fizyoterapist
2012-2015	Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi /İstanbul	Fizyoterapist
2008-2012	Boğaziçi Tıp Merkezi /İstanbul	Fizyoterapist
2007-2008	Özel Evrençağlapınar Özel Eğitim Rehabilitasyon Merkezi /Söke- Aydın	Fizyoterapist
2006-2007	Özel Kuşadası Hastanesi / Kuşadası – Aydın	Fizyoterapist
2004-2005	Özel Emre Özel Eğitim Rehabilitasyon Merkezi /Söke- Aydın	Fizyoterapist