



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



M-TOR İNHİBİTÖRLERİNİN SICAK İSKEMİDE ORGAN HASARLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Eyüp KAHVECİ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

ANKARA

2025

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**M-TOR İNHİBİTÖRLERİNİN SICAK İSKEMİDE ORGAN
HASARLARI ÜZERİNE ETKİLERİ**

Eyüp KAHVECİ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Nuray YAZIHAN**

Bu araştırma için herhangi bir sponsorluk veya proje desteği kullanılmamıştır. Öğrencinin kendi kaynakları ile tamamlanmıştır.

**ANKARA
2025**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “m-TOR İnhibitörlerinin Sıcak İskemide Organ Hasarları Üzerine Etkileri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Eyüp KAHVECİ

Tarih: 31.12.2025

İmza:



KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

İç Hastalıkları Anabilim Dalı/Fizyopatoloji Bilim Dalında

Eyüp KAHVECİ tarafından hazırlanan

“M-TOR İNHİBİTÖRLERİNİN SICAK İSKEMİDE ORGAN HASARLARI ÜZERİNE ETKİLERİ”

adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13 Mart 2026

Prof. Dr. Nuray YAZIHAN

Ankara Üniversitesi

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Elvan Onur KIRIMKER

Unvanı Adı ve Soyadı

Ankara Üniversitesi

Raporör



Prof. Dr. Acar TÜZÜNER

TOBB ETÜ Üniversitesi

Üye



Prof. Dr. Murat VARLI

Ankara Üniversitesi

Üye



Prof. Dr. Mehmet Deniz AYLI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Üye



Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

mTOR İnhibitörlerinin Sıcak İskemide Organ Hasarları Üzerine Etkileri

Renal iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı, akut böbrek hasarının önemli nedenlerinden biri olup inflamasyon, oksidatif stres ve apoptozis aracılı kompleks patofizyolojik mekanizmalarla karakterizedir. Bu çalışmada, sıcak renal iskemi modelinde mTOR inhibitörleri olan sirolimus ve everolimusun organ hasarı üzerindeki etkilerinin biyokimyasal, inflamatuvar, oksidatif stres, apoptotik ve histopatolojik parametreler üzerinden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışma, 250–300 g ağırlığında 36 erkek Sprague-Dawley sıçan üzerinde yürütülmüştür. Denekler altı gruba ayrılmıştır: Sham, Sirolimus, Everolimus, İskemi/Reperfüzyon (IR), IR+Sirolimus ve IR+Everolimus. Renal pedikül klempajı ile 90 dakika sıcak iskemi uygulanmış ve ardından 120 dakika reperfüzyon gerçekleştirilmiştir. İlaç uygulanan gruplarda sirolimus veya everolimus iskemi indüksiyonundan 2 saat önce oral yolla verilmiştir. Serum üre ve kreatinin düzeyleri, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler, MDA, SOD, GPx, CAT, total antioksidan kapasite (TAS/TAC) ve total oksidan kapasite (TOS) gibi oksidatif stres parametreleri, Caspase-3 düzeyleri, NGAL ve histopatolojik hasar skorları değerlendirilmiştir.

İskemi sonrası 90. dakikada üre ve kreatinin düzeylerinde belirgin artış saptanmış, reperfüzyon sonrası kısmi gerileme gözlenmiş ancak değerler bazal düzeye dönmemiştir. IR grubunda inflamatuvar sitokinler, MDA, TOS, Caspase-3 ve NGAL düzeyleri artarken; antioksidan enzim aktiviteleri ve TAS düzeyleri azalmıştır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında bu parametrelerde IR grubuna kıyasla kısmi iyileşme gözlenmiştir. Histopatolojik hasar skorları ve apoptotik belirteçlerde azalma saptanmış olmakla birlikte tam normalizasyon sağlanmamıştır. Sirolimus ve everolimus arasında istatistiksel olarak anlamlı bir üstünlük gösterilememiştir.

mTOR inhibitörlerinin sıcak renal iskemi-reperfüzyon modelinde inflamasyon, oksidatif stres ve apoptozis ekseninde organ hasarını azaltıcı yönde etki gösterdiği; ancak tam doku korunması sağlamadığı belirlenmiştir. Bulgular, mTOR yolak inhibisyonunun akut böbrek hasarında çoklu biyolojik mekanizmalar üzerinden modülatör etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Renal iskemi-reperfüzyon, mTOR inhibitörleri, sirolimus, everolimus, oksidatif stres, apoptozis, NGAL, inflamasyon

SUMMARY

Effects of mTOR Inhibitors on Organ Injury in a Warm Ischemia Model

Renal ischemia-reperfusion (I/R) injury is a major cause of acute kidney injury and is characterized by complex pathophysiological mechanisms involving inflammation, oxidative stress, and apoptosis. The present study aimed to evaluate the effects of mTOR inhibitors, sirolimus and everolimus, on organ injury in a warm renal ischemia model using biochemical, inflammatory, oxidative stress, apoptotic, and histopathological parameters.

Thirty-six male Sprague-Dawley rats (250–300 g) were randomly divided into six groups: Sham, Sirolimus, Everolimus, Ischemia/Reperfusion (IR), IR+Sirolimus, and IR+Everolimus. Warm ischemia was induced by clamping the renal pedicle for 90 minutes followed by 120 minutes of reperfusion. In treatment groups, sirolimus or everolimus was administered orally 2 hours before ischemia induction. Serum urea and creatinine levels, inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6), oxidative stress markers (MDA, SOD, GPx, CAT, total antioxidant capacity [TAS/TAC], total oxidant capacity [TOS]), Caspase-3 levels, NGAL, and histopathological injury scores were assessed.

Urea and creatinine levels significantly increased at 90 minutes of ischemia and partially decreased after reperfusion, without returning to baseline values. In the IR group, inflammatory cytokines, MDA, TOS, Caspase-3, and NGAL levels were elevated, while antioxidant enzyme activities and TAS levels were reduced. Both IR+Sirolimus and IR+Everolimus groups demonstrated partial improvement compared to the IR group. Although histopathological injury scores and apoptotic markers were reduced in treatment groups, complete normalization was not achieved. No statistically significant superiority was observed between sirolimus and everolimus.

In conclusion, mTOR inhibitors attenuate renal ischemia-reperfusion-induced organ injury by modulating inflammation, oxidative stress, and apoptosis; however, they do not provide complete tissue protection. These findings suggest that mTOR pathway inhibition exerts a multifaceted modulatory effect in acute kidney injury.

Keywords: Renal ischemia-reperfusion, mTOR inhibitors, sirolimus, everolimus, oxidative stress, apoptosis, NGAL, inflammation

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	ix
Kısaltmalar	xi
Şekiller	xiii
Çizelgeler	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Transplantasyonun Klinik Bağlamı ve Güncel İhtiyaç	4
1.1.1. Son dönem organ yetmezliği ve transplantasyonun yeri	4
1.1.2. Organ arz-talep dengesizliği ve organ kalitesi problemi	4
1.1.3. Marjinal organ kavramı ve risk sınıfları	5
1.1.4. Klinik sorunsal: IRI yükü ve farmakolojik hedefler	5
1.2. Donör Tipleri ve Sıcak İskemi Fenomeni	5
1.2.1. Canlı verici ve kadavra verici: temel farklar	5
1.2.2. DBD donörlerde (beyin ölümü sonrası donasyon) sıcak iskemiyle ilişkili riskler	6
1.2.3. DCD (dolaşım sonrası donasyon) donörlerde sıcak iskemi: cDCD/uDCD ve zaman parametreleri	6
1.2.4. Sıcak iskemi (WIT) – soğuk iskemi (CIT) – total iskemi: tanımlar	6
1.2.5. Erken greft fonksiyonu çıktıkları ve köprü hipotez	7
1.3. Organ Korunması: Statik soğuk saklamadan (SCS), Makine Perfüzyonuna ve Farmakolojik Modülasyona	7
	vi

1.3.1. SCS: prensipler ve sınırlılıklar	7
1.3.2. Makine perfüzyonu (MP): HMP/NMP ve bölgesel normotermik perfüzyon (NRP)	8
1.3.3. Graft reconditioning ve farmakolojik preconditioning/postconditioning kavramları	8
1.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarı (IRI): Patogenez ve Fizyopatoloji	9
1.4.1. İskemik faz: enerji krizi ve hücrel homeostaz bozulması	9
1.4.2. Reperfüzyon fazı: ROS artışı, mitokondri hasarı ve inflamasyon	9
1.4.3. Mikrodolaşım ve endotel disfonksiyonu: no-reflow fenomeni	10
1.4.4. Hücre ölümü yolları: apoptoz, nekroz ve regüle nekroz	10
1.5. Organ Spesifik IRI Fenotipleri ve Klinik Sonuçlar	11
1.5.1. Karaciğerde IRI: hepatosellüler hasar ve biliyer duyarlılık	11
1.5.2. Böbrekte IRI: tübüler hasar, fonksiyon kaybı ve DGF	11
1.5.3. IRI'nin transplant çıktılarıyla ilişkisi: DGF/PNF/EAD ve uzun dönem greft sağkalımı	13
1.6. mTOR: Metabolik Stres-Otofaji-İnflamasyon Düğümü	13
1.6.1. Metabolik Stres	13
1.6.2. Otofaji	14
1.6.3. İnflamasyon ve hücre ölümü yolları ile kesişim	15
1.7. mTOR İnhibitörleri: İmmüsupresyonun Ötesinde Organ Koruyucu Hipotez	17
1.7.1. Transplantasyonda mTOR inhibitörleri: yer, endikasyon ve rejim stratejileri	17
1.7.2. Sirolimus ve everolimus: sınıf içi farklılıklar ve olası fizyopatolojik yansımalar	17
1.7.3. Zamanlama paradigması: preconditioning ve postconditioning	18
1.8. Kanıt Boşluğu, Tezin Özgünlüğü ve Kavramsal Model	18
	vii

1.8.1. Kanıt Boşluğu: Literatürdeki Sınırlılıklar ve Açık Sorular	19
1.8.2. Tezin Özgünlüğü ve Doktora Düzeyinde Bilimsel Katkısı	20
1.8.3. Kavramsal Model Önerisi	21
2. GEREÇ ve YÖNTEM	23
2.1. Araştırmanın Tasarımı	23
2.2. Materyal	23
2.3. Deneysel Model ve Gruplar	25
2.4. Veri Toplama ve Ölçümler	29
2.5. Verilerin Analizi	35
2.6. Araştırma Soruları ve Hipotezler	37
3. BULGULAR	39
3.1. Biyokimyasal Bulgular (Böbrek Fonksiyon Parametreleri)	40
3.2. İnflamatuvar Bulgular	46
3.3. Oksidatif Stres Bulguları	50
3.4. Apoptozis Bulguları	54
3.5. Histopatolojik Bulgular	57
4. TARTIŞMA	61
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	73
EKLER	96
Ek – 1 Etik Kurul Raporu	96
Ek – 2. Etik Kurul Raporu Ek Belge	97
ÖZGEÇMİŞ	98

ÖNSÖZ

Organ nakli, son dönem organ yetmezliği olan hastalar için yaşam süresi ve yaşam kalitesini belirgin şekilde artıran, modern tıbbın en başarılı tedavi yaklaşımlarından biridir. Buna karşın greft fonksiyonunu ve uzun dönem sağ kalımı sınırlayan temel patofizyolojik süreçlerden biri iskemi-reperfüzyon hasarıdır (ischemia–reperfusion injury, IRI). IRI; hücresel enerji yıkımı, oksidatif stres, endotel disfonksiyonu, inflamatuvar yanıt ve mikrosirkülasyonda bozulma üzerinden özellikle böbrek gibi yüksek metabolik gereksinimi olan organlarda belirgin klinik sonuçlara yol açabilmektedir. Klinik pratiğe yansımaları ise erken dönemde gecikmiş greft fonksiyonu (DGF), fonksiyon kaybı ve uzun vadede kronik allogreft disfonksiyonu gibi olumsuz çıktılarla karşımıza çıkmaktadır.

Bu doktora tez çalışması, deneysel sıcak iskemi modeli üzerinden böbrekte IRI'ye bağlı gelişen biyokimyasal ve histopatolojik değişiklikleri ortaya koymayı; ayrıca immünsüpresyonda önemli bir yere sahip mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) inhibitörlerinin (everolimus ve sirolimus) IRI ile ilişkili doku hasarı ve fonksiyonel kayıp üzerindeki olası etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Çalışmanın, IRI patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasına ve klinikte greft fonksiyonunu korumaya yönelik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlamasını umuyorum.

Bu süreçte bilgi ve deneyimiyle yol gösteren, bilimsel yaklaşımı ve desteğiyle her aşamada katkı sunan tez danışmanım Prof. Dr. Nuray Yazıhan'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez izleme komitesinde değerli değerlendirme ve önerileriyle çalışmanın gelişmesine katkı sağlayan Prof. Dr. Nuray Yazıhan, Prof. Dr. Acar Tüzüner ve Prof. Dr. Murat Varlı'ya teşekkür ederim. Yapıcı eleştirileri, kapsamlı değerlendirmeleri ve yönlendirici önerileriyle tezimin bilimsel derinliğine sağladıkları katkı için değerli jüri üyeleri olan Prof. Dr. Nuray Yazıhan, Prof. Dr. Murat Varlı, Prof. Dr. Mehmet Deniz Aylı, Prof. Dr. Acar Tüzüner ve Doç. Dr. Elvan Onur Kırımker'e içtenlikle teşekkür ederim.

Çalışmanın etik değerlendirme sürecinde katkı ve emekleri için Kobay DHL Etik Kurul Üyeleri'ne, deneysel araştırmaların planlanması ve yürütülmesi aşamalarında destekleriyle katkı sağlayan Prof. Dr. Sertaç Çimen, Doç. Dr. Sanem Güler Çimen ve Gamze Yıldırım'a teşekkür ederim. Ayrıca Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyopatoloji Bilim Dalı'nın emekli öğretim üyelerinden Prof. Dr. Güzin Özelçi Kavas, Prof. Dr. İbrahim Ethem Akçıl ve Prof. Dr. Pelin Arıbal Ayrıl'a doktora eğitimim süresine değerli katkıları ve destekleri için şükranlarımı sunarım. Doktora yeterlilik komitesi sınavı sürecinde değerli katkı ve değerlendirmeleri için jüri üyeleri Prof. Dr. Erman Çakal ve Prof. Dr. Ülver Boztepe Derici'ye teşekkür ederim. Metnin akademik son okuması ve bilimsel anlatım bütünlüğünün güçlendirilmesine yönelik katkıları için Doç. Dr. İlknur Öztürk Ünsal'a, tez yazım kılavuzu doğrultusunda teknik düzenlemeler ve biçimsel uyumun sağlanmasına yönelik desteği için Deniz Ege Alkaya'ya ayrıca teşekkür ederim.

Son olarak, bu uzun ve yoğun süreç boyunca sabırları, anlayışları ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan eşim Gülnur Kahveci ve kızım Nisan Dora Kahveci'ye en derin teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla,

Eyüp Kahveci

Ankara, 31 Aralık 2025

KISALTMALAR

ESRD	: Son dönem böbrek yetmezliği
ESLD	: Son dönem karaciğer yetmezliği
ECD	: Genişletilmiş kriterli donör
DCD	: Dolaşım sonrası donasyon
IRI	: İskemi reperfüzyon hasarı
AKI	: Akut böbrek hasarı
DGF	: Gecikmiş greft fonksiyonu
ATP	: Adenozin Trifosfat
ROS	: Reaktif oksijen türleri
WIT	: Sıcak iskemi zamanı
CIT	: Soğuk iskemi zamanı
DAMP	: Hasar ilişkili moleküler paternler
EAD	: Erken allogreft disfonksiyonu
SCS	: Statik soğuk saklama
MP	: Makine perfüzyonu
HMP	: Hipotermik makine perfüzyonu
NMP	: Normotermik makine perfüzyonu
DNA	: deoksiribonükleik asit
ER	: Endoplazmik Retikulum
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
mTOR	: Mammalian Target of Rapamycin
PNF	: Primer non fonksiyone
AMPK	: Adenozin monofosfatla aktive olan protein kinaz
MTORC1	: Mekanistik rapamisin hedefi kompleks 1
MTORC2	: Mekanistik rapamisin hedefi kompleks 2
ULK1	: Unc-51 benzeri kinaz 1
RAT	: Reaktif Azot Türlerinin

ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
RNA	: Ribonükleik Asit
TLR	: Toll-like receptor
CNI	: Kalsinörin inhibitörleri
CMV	: Sitomegalovirüs
NGAL	: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin
NF-κB	: Nükleer Faktör kappa B
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü alfa
IL-1β	: İnterlökin-1 beta
IL-6	: İnterlökin-6
CASPASE-3	: Kaspaz-3
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksit dismutaz
GPx	: Glutasyon peroksidaz
CAT	: Katalaz
TAC/TAS	: Toplam antioksidan kapasite/status
TOS	: Toplam oksidan seviye/status

ŞEKİLLER

- Şekil 2.1.** Median laparotomi sonrası her iki böbreğe ait renal pediküllerin disseke edilerek bilateral klempaj öncesi hazırlanmış intraoperatif görünümü. 28
- Şekil 2.2.** Her iki renal pediküle bilateral vasküler klemp uygulanmasını takiben gelişen sıcak iskemi görünümü. 28
- Şekil 2.3.** Bilateral deklempaj sonrasında her iki böbrekte reperfüzyonun yeniden başlamasına ait intraoperatif görünüm. 29
- Şekil 3.1.** İnflamatuvar Sitokin Düzeylerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1) 49
- Şekil 3.2.** Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzim Düzeylerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1) 53
- Şekil 3.3.** Total Antioksidan Kapasite (TAC/TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOS) Değerlerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1) 53
- Şekil 3.4.** Apoptozis (Caspase-3) ve Erken Böbrek Hasar Belirteci (NGAL) Düzeylerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1) 57
- Şekil 3.5.** Deney gruplarına ait böbrek dokusunun histopatolojik görünümü (H&E boyama, ×400). 59
- Şekil 3.6.** Gruplara Göre Histopatolojik Hasar Skoru (0–4) 60

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Deney grupları, uygulanan işlemler ve örnekleme zamanları	26
Çizelge 2.2. Ölçülen parametreler, kullanılan kit/cihazlar, yöntemler, birimler ve ölçüm aralıkları	34
Çizelge 3.1. Deney Gruplarına Göre Hayvan Sayısı, Ölçüm Zamanı ve İlaç Dağılımı	39
Çizelge 3.2. Üre ve Kreatinin Değişkenlerine Ait Tanımlayıcı İstatistikler (N=48)	41
Çizelge 3.3. Üre ve Kreatinin Değişkenleri İçin Normallik Testi Sonuçları	41
Çizelge 3.4. Ölçüm Zamanına Göre Üre ve Kreatinin Değerleri	41
Çizelge 3.5. Gruplara Göre Üre ve Kreatinin Değerleri	42
Çizelge 3.6. Gruplara ve Zaman Noktalarına Göre Üre ve Kreatinin Değerleri	43
Çizelge 3.7. İR Grubuna Göre Reperfüzyon Sonrası Üre ve Kreatinin İyileşme Yüzdeleri	44
Çizelge 3.8. İlaç Türüne Göre Üre ve Kreatinin Değerleri	45
Çizelge 3.9. Hayvanlara Göre Üre ve Kreatinin Değerleri	45
Çizelge 3.10. Gruplara Göre İnflamatuvar, Oksidatif Stres ve Hasar Parametrelerinin Kat-Değişim Değerleri	46

Çizelge 3.11. Gruplara göre TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri ile istatistiksel karşılaştırmalar	48
Çizelge 3.12. Gruplara göre oksidatif stres parametreleri ve istatistiksel karşılaştırmalar	51
Çizelge 3.13. Gruplara göre Caspase-3 ve NGAL düzeyleri ile istatistiksel karşılaştırmalar	55
Çizelge 3.14. Gruplara göre histopatolojik hasar skorları ve istatistiksel karşılaştırmalar	58

1. GİRİŞ

Organ, doku ve hücre nakli; son dönem organ yetmezliğinde (özellikle son dönem böbrek yetmezliği [ESRD] ve son dönem karaciğer yetmezliği [ESLD]) yaşam süresi ve yaşam kalitesini anlamlı biçimde artıran, uzun vadede maliyet-etkinliği yüksek bir tedavi yaklaşımıdır (Wolfe vd., 1999; Tonelli vd., 2011). Buna karşın transplantasyonun klinik başarısı, yalnızca cerrahi ve immünolojik süreçlere değil, aynı zamanda donör kaynağına erişim ve nakledilen organın “kalitesi” olarak özetlenen biyolojik dayanıklılığına da bağlıdır. Bekleme listelerinin büyümesi ve donör arzının sınırlı kalması; organ temini, organ değerlendirme ve organın nakil öncesi–nakil sırası maruziyetlerinin (iskemi süreleri, hemodinamik instabilite, komorbidite yükü) klinik sonuçlar üzerindeki belirleyiciliğini artırmıştır (Summers vd., 2015).

Son yıllarda ölü donör havuzunu genişletmek amacıyla genişletilmiş kriterli donör (Extended Criteria Donor, ECD) ve dolaşım sonrası donasyon (Donation after Circulatory Death, DCD) gibi daha yüksek risk profiline sahip donörlerin kullanımının artması, sıcak iskemiye (warm ischemia) bağlı hasarı daha görünür kılmıştır. DCD donörler; kontrollü ve kontrolsüz alt tipleriyle geri dönüşümsüz dolaşım durması sonrası organ çıkarımı/korunumu süreçlerini içerir (Kootstra vd., 1995; Thuong vd., 2016). Klinik açıdan sıcak iskemi zamanı (Warm Ischemia Time, WIT) donör sürecindeki maruziyet ile alıcıda anastomoz dönemindeki yeniden ısınma döneminin birleşik etkisini yansıtan çok fazlı bir biyolojik yük olarak ele alınmalıdır (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

Transplantasyonda iskemi-reperfüzyon hasarı (ischemia–reperfusion injury, IRI) neredeyse kaçınılmazdır; organ çıkarımı, soğuk koruma ve yeniden perfüzyon basamaklarında hücrel stres birikir. IRI; erken dönemde akut böbrek hasarı (Acute Kidney Injury, AKI) ve greft fonksiyon gecikmesinin (Delayed Graft Function, DGF) temel zeminini oluştururken, geç dönemde fibrozis ve kronik greft kaybına katkıda bulunabilir (Eltzschig ve Eckle, 2011; Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

İskemik fazda oksijen ve substrat sunumunun kesilmesi, hızla adenozin trifosfat (ATP) azalmasına ve iyon pompalarının işlev kaybına yol açar; hücre içi kalsiyum yüklenmesi, ozmotik şişme ve sitoskeletal bozulma gelişir (Özşaker, 2012). Enerji krizine eşlik eden metabolik yeniden yapılanma sırasında mitokondride süksinat birikimi ve elektron taşıma zincirindeki redoks dengesizlikleri, reperfüzyonda reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) artışı için zemin hazırlar (Chouchani vd., 2014). Klinik karşılığı açısından, bu süreçler AKI tanı ve evrelemesinde kullanılan biyokimyasal parametrelerde bozulma ile seyreder. Serum üre ve kreatinin gibi göstergeler, deneysel modellerde fonksiyonel hasarın izlenmesinde temel araçlardır (KDIGO Acute Kidney Injury Work Group, 2012).

Reperfüzyon fazı, paradoksal biçimde dokuyu kurtarmak yerine hasarı derinleştirebilir. ROS üretimindeki artış; lipid peroksidasyonu, DNA/protein hasarı ve mitokondriyal geçirgenlik değişiklikleri üzerinden hücre ölümü programlarını tetikler. Ayrıca, hasar ilişkili moleküler kalıplar (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMPs) ve kompleman aktivasyonu; nötrofil-monosit göçü, sitokin salınımı ve endotel aktivasyonu ile güçlü bir doğal immün yanıtı başlatır (Eltzschig ve Eckle, 2011).

IRI'nin hücresel çıktısı yalnız apoptoz veya klasik nekroz ile sınırlı değildir. Son yıllarda “regüle nekroz” başlığı altında tanımlanan nekroptoz ve ferroptoz gibi yolların, özellikle renal tübüler epitelde hasarın yayılımı ve nekroinflamasyonun sürdürülmesinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Linkermann vd., 2012; Belavgeni vd., 2020). Dolayısıyla IRI, fonksiyonel bozulmanın ötesinde; oksidatif stres, inflamasyon ve hücre ölümü ekseninde çok katmanlı bir patofizyolojik düğüm olarak ele alınmalıdır.

Mevcut klinik uygulamada IRI yükünü azaltmak için; sıcak/soğuk iskemi sürelerinin kısaltılması, donör yönetiminin iyileştirilmesi ve makine perfüzyonu gibi organ koruma teknolojilerinin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bununla birlikte, özellikle DCD/ECD gibi “marjinal” organların artan kullanımında, yalnız lojistik ve teknik optimizasyonun tek başına yeterli olmadığı; farmakolojik ve moleküler hedeflere

yönelik tamamlayıcı yaklaşımlara ihtiyaç duyulduğu vurgulanmaktadır (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

mTOR sinyal yolu; hücre büyümesi, protein sentezi, metabolik yollar ve otofaji arasında merkezî bir entegratör olarak tanımlanır. mTORC1 ve mTORC2 kompleksleri; besin/enerji durumu ve stres sinyallerine yanıt yoluyla hücrel anabolizma–katabolizma dengesini ve bağışıklık hücresi fonksiyonlarını koordine eder (Laplane ve Sabatini, 2012; Saxton ve Sabatini, 2017).

Böbrekte mTORC1 sinyalleşimi, renal tübüler homeostazın korunması ve iskemik strese adaptif yanıtın sürdürülmesi açısından kritik önemdedir. Deneysel veriler, mTORC1'in tübül epitelinde enerji metabolizması, mitokondriyal biyogenez ve transsellüler taşıma süreçlerini düzenlediğini; eksikliğinde ise iskemi-reperfüzyon hasarının şiddetlendiğini göstermektedir (Grahammer vd., 2014).

mTOR inhibitörleri (sirolimus ve everolimus gibi); transplant alıcılarında yaygın kullanılan immünsupresif ajanlar olmakla birlikte, IRI'ye eşlik eden oksidatif stres ve inflamatuvar yanıt üzerinde de doğrudan etkiler gösterebilir. Deneysel böbrek IRI modellerinde everolimus ve sirolimusun sitokin profili ve oksidatif stres belirteçleri üzerinde iyileştirici etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir (Suyani vd., 2009; Esposito vd., 2011). Öte yandan sirolimusun doku iyileşmesini geciktirebileceği ve hücrel onarım fazını olumsuz etkileyebileceği de raporlanmıştır (Lieberthal vd., 2001).

Bu tez çalışması, sıcak iskemiye dayalı renal IRI modelinde sirolimus ve everolimusun erken dönem fonksiyonel (üre–kreatinin), biyokimyasal (oksidatif stres ve proinflamatuvar sitokin profili) ve histopatolojik çıktılar üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı biçimde değerlendirmeyi amaçlamaktadır (KDIGO Acute Kidney Injury Work Group, 2012; Belavgeni vd., 2020). Elde edilecek bulguların, marjinal organların kullanılabilirliğini artırmaya yönelik gelecekteki translayonel stratejiler için bilimsel bir zemin sağlaması hedeflenmektedir.

1.1. Transplantasyonun Klinik Bağlamı ve Güncel İhtiyaç

Son dönem organ yetmezliği (End Stage Renal Disease, ESRD / End Stage Liver Disease, ESLD) ve buna eşlik eden komplikasyonlar, mortaliteyi artıran ve sağlık sistemine uzun dönemli yüksek maliyet yükleyen bir klinik spektrum oluşturur. Bu klinik bağlamda transplantasyon, seçilmiş hasta gruplarında yalnızca yaşam süresini uzatan bir girişim değil; aynı zamanda fonksiyonel kapasiteyi ve yaşam kalitesini anlamlı biçimde iyileştiren, maliyet-etkin bir tedavi yaklaşımı olarak kabul edilmektedir (Wolfe vd., 1999; Tonelli vd., 2011).

1.1.1. Son dönem organ yetmezliği ve transplantasyonun yeri

Böbrek yetmezliğinde renal replasman tedavileri içinde transplantasyon, uygun hastalarda uzun dönem sağkalım ve yaşam kalitesi açısından diyalize kıyasla belirgin avantaj sağlar; bu üstünlük erken dönem perioperatif riskler dengelendikten sonra zaman içinde daha belirgin hale gelir (Wolfe vd., 1999; Tonelli vd., 2011). KDIGO rehberleri, ESRD’de transplantasyonu uygun adaylarda birincil/tercihli strateji olarak konumlandırmakta; pre-emptive transplantasyon ve bekleme listesi yönetimini klinik sonuçların kritik belirleyicileri arasında değerlendirmektedir (KDIGO CKD Work Group, 2013). Karaciğer yetmezliğinde ise transplantasyon, dekompanse siroz ve akut-karaciğer yetmezliği gibi tablolar için küratif potansiyeli olan temel tedavi seçeneğidir. MELD (model for end stage liver disease) temelli önceliklendirme ve uygun hasta seçimi burada belirleyici rol oynar.

1.1.2. Organ arz-talep dengesizliği ve organ kalitesi problemi

Transplantasyondaki en temel darboğaz, organ arzı ile organ gereksinimi arasındaki yapısal dengesizliktir. Bu dengesizlik, klinik pratiği ECD ve DCD gibi daha yüksek riskli donör havuzlarına yöneltmiş; buna paralel olarak “organ kalitesi” kavramı erken fonksiyon, iskemi yükü ve marjinal greft kullanımı bağlamında daha merkezi bir önem kazanmıştır. Organ kalitesi günümüzde yalnız donörün demografik ve klinik özellikleriyle değil, organın maruz kaldığı sıcak ve soğuk iskemi yükünün toplam

biyolojik etkisiyle birlikte değerlendirilmektedir (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020; Thuong vd., 2016).

1.1.3. Marjinal organ kavramı ve risk sınıfları

Marjinal organ kavramı; ileri yaş, komorbidite, hemodinamik instabilite, yağlanma, uzamış iskemi veya DCD gibi nedenlerle standart risk profilinin dışına çıkan greftleri ifade eder. Böbrekte kidney donör risk index (KDRI), karaciğerde ise çeşitli risk sınıflamaları (MELD, PELD gibi) ve donör-alıcı eşleştirme yaklaşımları, greft fonksiyonu ve dışlama eğilimini öngörmeye yardımcı olsa da; nihai biyolojik belirleyiciler arasında IRI yükü, merkezi önemini korumaktadır.

1.1.4. Klinik sorunsal: IRI yükü ve farmakolojik hedefler

Klinik düzeyde temel sorun, marjinal greft kullanımını artırırken IRI yükünü kabul edilebilir sınırlar içinde tutabilmektir. Bu nedenle transplantasyon biyolojisinde güncel yaklaşım, yalnızca cerrahi ve lojistik iyileştirmelere değil; aynı zamanda enerji metabolizması, oksidatif stres, otofaji, inflamasyon ve hücre ölümü yollarını hedefleyen farmakolojik stratejilere de yönelmektedir. mTOR eksenini bu bağlamda, metabolik stres ile inflamatuvar ve otofajik yanıtların kesişiminde yer alan aday biyolojik hedeflerden biri olarak öne çıkmaktadır.

1.2. Donör Tipleri ve Sıcak İskemi Fenomeni

Donör tipi, organın maruz kaldığı sıcak iskemi yükünü ve buna eşlik eden biyolojik stresi belirleyen temel değişkenlerden biridir. Canlı verici, DBD ve DCD senaryoları arasında sıcak iskemi süresi, hemodinamik stabilite ve reperfüzyon öncesi biyolojik hazırlık düzeyi bakımından önemli farklar bulunmaktadır.

1.2.1. Canlı verici ve kadavra verici: temel farklar

Canlı vericide cerrahi süreç planlı ve kontrollü ilerlediği için sıcak iskemi süresi daha kısa ve öngörülebilir olmakta; buna karşılık kadavra vericilerde, özellikle DCD pratiğinde, dolaşımın durması ile organ çıkartılması arasındaki dönem daha yüksek

biyolojik stres üretmektedir. Bu nedenle donör tipi, yalnızca lojistik değil, doğrudan greft biyolojisini etkileyen bir değişken olarak değerlendirilmelidir.

1.2.2. DBD donörlerde (beyin ölümü sonrası donasyon) sıcak iskemiyle ilişkili riskler

DBD donörlerde sıcak iskemi klasik anlamda DCD kadar belirgin olmasa da, beyin ölümü sonrasında gelişen katekolamin fırtınası, hormonal dengesizlik, endotel aktivasyonu ve inflamasyonun başlangıç fazı grefti reperfüzyon hasarına daha duyarlı hale getirebilir. Bu nedenle DBD organlarda da IRI, sadece intraoperatif iskemi süresiyle değil, donör kaynaklı biyolojik aktivasyonla birlikte değerlendirilmelidir.

1.2.3. DCD (dolaşım sonrası donasyon) donörlerde sıcak iskemi: cDCD/uDCD ve zaman parametreleri

DCD donörlerde sıcak iskemi, transplant sonuçlarını belirleyen en kritik parametrelerden biridir. Kontrollü DCD (cDCD) ve kontrolsüz DCD (uDCD) senaryolarında fonksiyonel sıcak iskemi süresi, dolaşımın durduğu an ile soğuk perfüzyonun veya bölgesel normotermik reperfüzyonun başladığı an arasındaki biyolojik pencereyi ifade eder. Bu sürenin uzaması, ATP tükenmesi, mitokondriyal stres, ROS üretimi ve regüle hücre ölümü eğilimini artırarak erken fonksiyon kaybı riskini yükseltir.

1.2.4. Sıcak iskemi (WIT) – soğuk iskemi (CIT) – total iskemi: tanımlar

WIT, organın fizyolojik sıcaklıkta kan akımından yoksun kaldığı dönemi; CIT ise organın soğuk koruma altında implantasyona kadar geçen süresini tanımlar. Klinik sonuçlar açısından belirleyici olan çoğu zaman bu iki yükün toplam biyolojik etkisidir. Bu nedenle toplam iskemi kavramı, greft kalitesini yorumlarken daha bütüncül bir değerlendirme sunar.

1.2.5. Erken greft fonksiyonu çıktıları ve köprü hipotez

Sıcak ve soğuk iskemi yükü, böbrekte DGF/PNF (gecikmiş greft fonksiyonu/primary nonfunction); karaciğerde ise EAD (erken allogreft disfonksiyonu)/PNF gibi erken klinik çıktılarıyla ilişkilidir. Özellikle DCD greftlerinde uzamış WIT, erken fonksiyon kaybı ve graft kaybı riskini artıran önemli bir parametredir (Tennankore vd., 2016). Bu tez bağlamında köprü hipotez; sıcak iskemiye bağlı IRI'nin, mitokondri temelli oksidatif stres ve regüle hücre ölümü yolları üzerinden böbrek dokusunda hasarı derinleştirdiği, mTOR yolak modülasyonunun ise enerji metabolizması, otofaji ve inflamatuvar yanıtı etkileyerek bu hasarı azaltabileceği varsayımına dayanmaktadır (Laplane ve Sabatini, 2012; Eltzhig ve Eckle, 2011).

1.3. Organ Korunması: Statik soğuk saklamadan (SCS), Makine Perfüzyonuna ve Farmakolojik Modülasyona

Organ korunması, greftin donörden alınıp alıcıya implante edilmesine kadar geçen sürede metabolik bütünlüğünün korunmasını, iskemi yükünün azaltılmasını ve reperfüzyona biyolojik olarak daha hazır bir durumun sürdürülmesini hedefler. Genişletilmiş kriterli donör ve DCD gibi daha yüksek riskli greftlerin kullanımının artmasıyla birlikte, korunma stratejileri yalnızca “taşıma” işlemi olmaktan çıkarak greft kalitesini belirleyen aktif bir müdahale alanına dönüşmüştür (Belzer ve Southard, 1988; Weissenbacher vd., 2019).

1.3.1. SCS: prensipler ve sınırlılıklar

SCS'nin temel prensibi, greft sıcaklığını hızlıca düşürerek enzimatik reaksiyonları ve oksijen tüketimini azaltmak, böylece ATP tüketimini yavaşlatmak ve hücresel yıkımı geciktirmektir. Bu amaçla organ koruma solüsyonları ile yıkama yapılır ve organ soğuk ortamda saklanır (Belzer ve Southard, 1988). Bununla birlikte SCS koşullarında oksijen sunumu olmadığı için anaerobik metabolizma tamamen durdurulamaz; zamanla ATP tükenmesi ve metabolit birikimi kaçınılmazdır (Chouchani vd., 2014; Eltzhig ve Eckle, 2011). Özellikle DCD/ECD greftlerde önceden biriken sıcak iskemi yükü, SCS sırasında gelişen soğuk iskemi ile birleşerek toplam iskemi yükünü

artırır ve erken greft disfonksiyonu riskini yükseltir (Mastrovangelis vd., 2024; Tennankore vd., 2016).

1.3.2. Makine perfüzyonu (MP): HMP/NMP ve bölgesel normotermik perfüzyon (NRP)

Makine perfüzyonu, greftin damar yatağından kontrollü perfüzat akımı geçirerek organın dinamik olarak korunmasını sağlar. Hipotermik makine perfüzyonu (HMP), düşük sıcaklıkta mikrodolaşımın açık kalmasını ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılmasını destekler; böbrek naklinde SCS'ye kıyasla DGF oranlarını azaltabildiği gösterilmiştir (Moers vd., 2009). Normotermik makine perfüzyonu (NMP) ise fizyolojik sıcaklıkta oksijen ve besin desteği ile organın fonksiyonel değerlendirilmesine olanak tanır ve özellikle marjinal greftlerde nakil öncesi viability değerlendirmesi için önemli bir platform sunar (Nasralla vd., 2018; Hosgood ve Nicholson, 2011; Nicholson ve Hosgood, 2013; Elliott vd., 2021). DCD bağlamında bölgesel normotermik perfüzyon (NRP), organ çıkartılmadan önce oksijenlenmiş dolaşımın yeniden kurulmasıyla sıcak iskemi yükünü azaltmayı hedefler ve uygun seçilmiş olgularda organ kullanımını artırabilir (Mastrovangelis vd., 2024).

1.3.3. Graft reconditioning ve farmakolojik preconditioning/postconditioning kavramları

Makine perfüzyonu teknolojilerinin en önemli katkılarından biri, korunmayı pasif bir zaman kazanma sürecinden aktif bir “greft iyileştirme (reconditioning)” alanına dönüştürmesidir. Bu yaklaşımda hedef; metabolik atıkların temizlenmesi, ATP depolarının desteklenmesi, mikrodolaşımın açılması ve reperfüzyon öncesi inflamatuvar yükün azaltılmasıdır (Xu vd., 2020; Weissenbacher vd., 2019). Farmakolojik preconditioning, iskemi başlamadan önce; farmakolojik postconditioning ise reperfüzyonun erken döneminde uygulanan ve IRI şiddetini azaltmayı hedefleyen müdahaleleri ifade eder. Transplantasyon sürecinde bu yaklaşımlar, donör yönetimi, koruma solüsyonuna ajan eklenmesi veya MP sırasında greft damar yatağına hedefe yönelik ilaç verilmesi şeklinde uygulanabilir; MP'nin kapalı devre yapısı, yüksek lokal konsantrasyon, düşük sistemik toksisite ve daha

kişiselleştirilmiş tedavi olanağı sunar (Xu vd., 2020; Niroomand vd., 2024). Tezin odağında yer alan mTOR ekseninin farmakolojik modülasyonu da bu çerçevede değerlendirilebilir. Sirolimus ve everolimus, otofaji, inflamasyon ve hücre ölümü yolları üzerinden IRI biyolojisini etkileyebilen aday ajanlar olarak deneysel modellerde araştırılmıştır (Suyani vd., 2009; Zhu vd., 2015).

1.4. İskemi-Reperfüzyon Hasarı (IRI): Patogenez ve Fizyopatoloji

İskemi-reperfüzyon hasarı, transplantasyon sürecinin kaçınılmaz bir biyolojik bileşenidir ve özellikle marjinal greftlerde erken fonksiyon kaybının başlıca mekanistik zeminini oluşturur. IRI; iskemi fazında gelişen enerji ve iyon homeostaz bozulması ile reperfüzyonda tetiklenen oksidatif stres, inflamasyon ve mikrodolaşım disfonksiyonunun birleşik etkisi sonucu ortaya çıkar (Eltzschig ve Eckle, 2011; Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

1.4.1. İskemik faz: enerji krizi ve hücrel homeostaz bozulması

İskemi sırasında oksijen sunumunun azalması, oksidatif fosforilasyonun baskılanmasına ve hücrede hızla ATP tükenmesine neden olur. ATP azalması; Na⁺/K⁺-ATPaz ve Ca²⁺ pompalarının yetersizliği ile hücre şişmesi, membran potansiyeli kaybı ve sitozolik Ca²⁺ birikimi gibi olayları tetikler (Eltzschig ve Eckle, 2011). Mitokondriyal solunum zinciri disfonksiyonu ve anaerobik glikolize geçiş, laktik asidoz ve redoks dengesizliği ile sonuçlanır; bu enerji krizi, reperfüzyon başladığında oksidan üretimi ve inflamasyon yanıtına duyarlılığı artıran bir zemin oluşturur (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

1.4.2. Reperfüzyon fazı: ROS artışı, mitokondri hasarı ve inflamasyon

Reperfüzyonla birlikte oksijenin yeniden sağlanması, paradoksal biçimde reaktif oksijen türlerinde (ROS) hızlı bir artışa yol açabilir. Mitokondride iskemi sırasında biriken metabolitlerin, özellikle süksinatın, reperfüzyonda hızlı oksidasyonu elektron kaçaklarını artırarak ROS üretimini tetikleyen önemli mekanizmalardan biridir (Chouchani vd., 2016). ROS birikimi; lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile

mitokondriyal geçirgenlik üzerinden hücresel hasarı derinleştirir. Aynı zamanda DAMP salınımı ve kompleman aktivasyonu gibi doğuştan bağışıklık yollarını uyarak nötrofil ve monosit infiltrasyonunu hızlandırır; bu inflamatuvar amplifikasyon organ düzeyinde fonksiyon kaybına katkı verir (Atkinson vd., 2010; Braza vd., 2016).

1.4.3. Mikrodolaşım ve endotel disfonksiyonu: no-reflow fenomeni

IRI'nin kritik bileşenlerinden biri, mikrodolaşım düzeyinde perfüzyonun heterojenleşmesi ve endotel bariyer fonksiyonunun bozulmasıdır. Endotel aktivasyonu, adezyon moleküllerinin artışı, glikokaliks kaybı ve interstisyel ödem; kapiller lümeni daraltarak organ içinde “no-reflow” olarak tanımlanan yetersiz reperfüzyon alanlarının oluşmasına neden olabilir (Maksimenko ve Turashev, 2012). No-reflow fenomeni, makroskopik olarak reperfüze görünen organda dahi hücrelerin oksijen ve substrat erişimini kısıtlayarak parankimal disfonksiyonun sürmesine yol açar. Bu nedenle endotelin korunması ve mikrodolaşımın stabilizasyonu, IRI'yi azaltmaya yönelik stratejilerde temel hedef alanlardan biridir (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

1.4.4. Hücre ölümü yolları: apoptoz, nekroz ve regüle nekroz

IRI'de hücre kaybı yalnızca pasif nekroz ile açıklanamaz; apoptozun yanı sıra nekroptozis, ferroptozis ve diğer regüle nekroz formları da patogeneze önemli rol oynar. Regüle nekroz, membran bütünlüğünün bozulmasıyla DAMP salınımını artırır ve inflamasyonu besleyerek “nekroinflamasyon” döngüsünü güçlendirir (Vanden Berghe vd., 2014; Pefanis vd., 2019). Böbrek IRI modellerinde nekroptozis ve ferroptozis yollarının aktivasyonu, tübüler hasar ve fonksiyon kaybı ile ilişkilendirilmiş; bu yolların farmakolojik veya genetik olarak modülasyonu deneysel düzeyde koruyucu etkiler göstermiştir (Linkermann vd., 2013; Belavgeni vd., 2020). Bu nedenle tek hedefli yaklaşımlar yerine patogeneze temelli çoklu hedef stratejiler daha rasyonel görünmektedir (Li vd., 2024).

1.5. Organ Spesifik IRI Fenotipleri ve Klinik Sonuçlar

İskemi-reperfüzyon hasarı, organın anatomik ve mikrovasküler özellikleri ile parankimal ve immün hücre kompozisyonuna bağlı olarak farklı fenotiplerle seyreder. Karaciğer ve böbrekte ortak çekirdek mekanizmalar bulunsa da, hedef hücre tipleri, biyobelirteç profili ve klinik sonuçlar organ-spesifik farklılıklar gösterir (Eltzschig ve Eckle, 2011; Braza vd., 2016).

1.5.1. Karaciğerde IRI: hepatosellüler hasar ve biliyer duyarlılık

Karaciğerde IRI'nin hepatosellüler bileşeni; sinüzoidal endotelial hücre hasarı, Kupffer hücresi aktivasyonu, mikrosirkülasyonda bozulma ve mitokondriyal ROS üretimi üzerinden şekillenir. Klinik pratikte bu tablo, transaminaz yüksekliği ve koagülasyon bozukluğu ile ilişkilidir; şiddetli olgularda erken allogreft disfonksiyonu veya PNF'ye uzanan bir spektrum görülebilir (Eltzschig ve Eckle, 2011; De Carlis vd., 2023). Biliyer sistem ise arteriyel ağırlıklı kanlanma nedeniyle iskemiye daha duyarlıdır; özellikle DCD karaciğer greftlerinde non-anastomotik striktür ve iskemik kolanjiyopati riski artar (De Carlis vd., 2023; Esser vd., 2025). Bu nedenle oksijenizasyon ve makine perfüzyonu temelli stratejiler, karaciğer IRI'sinde özellikle biliyer komplikasyonları azaltma amacı taşır (Nasralla vd., 2018; van Rijn vd., 2021).

1.5.2. Böbrekte IRI: tübüler hasar, fonksiyon kaybı ve DGF

Böbrekte IRI'nin ana hedefi proksimal tübül epiteli ve peritübüler mikrovasküler endoteldir; hasar sıklıkla “tübülo-endotelial” bir bütünlük içinde ilerler. İskemi sırasında ATP yetersizliği ile sitoskeletal yıkım ve polarite kaybı gelişir; tübül hücreleri lümene dökülerek tıkaçlar oluşturabilir ve filtratın geri kaçağı artabilir (Lasorsa vd., 2024).

1.5.2.1. Tübüler epitel kırılabilirliği ve metabolik yeniden programlama

Proksimal tübül hücrelerinin yüksek oksidatif metabolizma ve yağ asidi oksidasyonuna bağımlılığı, böbreğin IRI'ye duyarlılığının temel nedenlerindendir. İskemide glikolize kayış, mitokondriyal membran potansiyel kaybı ve ATP sentezinde

azalma; reperfüzyonda ise oksijenin geri gelişiyle birlikte artan ROS üretimi, hücresel hasarı derinleştirir (Lasorsa vd., 2024).

1.5.2.2. Mikrovasküler endotel disfonksiyonu ve ‘no-reflow’

Endotel aktivasyonu; vazokonstriksiyon, glikokaliks hasarı, lökosit adezyonu ve kapiller tıkanma ile peritübüler hipoperfüzyonu uzatabilir. Bu no-reflow durumu, parankimal hasarın uzamasına ve tübüler rejenerasyonun gecikmesine katkı sağlar; klinik düzeyde DGF riskini artıran önemli bir köprü mekanizma olarak kabul edilir (Barbosa vd., 2023; Lasorsa vd., 2024).

1.5.2.3. İnflamasyon, kompleman ve allo-immün yanıtın köprülenmesi

IRI sırasında açığa çıkan DAMP’lar, toll-benzeri reseptörler ve kompleman aktivasyonu üzerinden innate immün yanıtı tetikler; dendritik hücre maturasyonu ve endotel aktivasyonu, allo-immün yanıt eşiğini düşürerek akut rejeksiyon riskini artırabilir. Bu nedenle IRI, yalnızca akut doku hasarı değil, aynı zamanda greft immünojenisitesini artıran bir amplifikatör olarak da değerlendirilir (Braza vd., 2016; Barbosa vd., 2023).

1.5.2.4. Regüle hücre ölümü yolları ve doku remodelingi

Böbrek IRI’de apoptozun yanı sıra nekroptoz, ferroptoz ve piroptoz gibi regüle hücre ölümü yollarının aktivasyonu giderek daha fazla vurgulanmaktadır. Bu yollar yalnızca erken nekroinflamasyonu artırmakla kalmaz; interstisyel fibrozis-tübüler atrofi gelişimi ve uzun dönem fonksiyon kaybı için de patofizyolojik zemin oluşturabilir (Lasorsa vd., 2024).

1.5.2.5. Klinik fenotip: DGF, yavaş greft fonksiyonu ve PNF

Klinikte DGF en sık ilk hafta içinde diyaliz gereksinimi olarak tanımlansa da, tanım ve eşiklerde önemli heterojenite vardır (Yarlagadda vd., 2008). DGF’nin yanı sıra diyaliz olmaksızın gecikmiş kreatinin düşüşü ile seyreden yavaş greft fonksiyonu ve nadir olmak üzere PNF, aynı klinik spektrumun uçlarında yer alır (Barbosa vd., 2023;

Ahlmark vd., 2024). Erken dönemde serum kreatinin, idrar çıkışı ve diyaliz gereksinimi temel parametreler olmakla birlikte; NGAL, KIM-1 ve IL-18 gibi tübüler stres/hasar belirteçleri daha erken biyolojik öngörü sağlayabilir (Barbosa vd., 2023).

1.5.3. IRI'nin transplant çıktılarıyla ilişkisi: DGF/PNF/EAD ve uzun dönem greft sağkalımı

IRI şiddeti, erken dönemde böbrekte DGF/PNF ve karaciğerde EAD/PNF gibi uç noktalara yansır. Böbrek transplantasyonunda DGF, akut rejeksiyon ve uzun dönem greft kaybı ile ilişkilidir; meta-analizler DGF varlığının hem greft hem hasta sağkalımını olumsuz etkileyebildiğini göstermiştir (Perico vd., 2004; Li vd., 2023). DGF'nin şiddeti ve süresi uzadıkça, uzun dönem eGFR düşüşü ve kronik allogreft disfonksiyonu riski artmaktadır (Ahlmark vd., 2024). Karaciğerde EAD de IRI'nin klinik izdüşümlerinden biridir ve özellikle biliyer komplikasyonlarla ilişkili olgularda uzun dönem sonuçları etkileyebilir (Olthoff vd., 2010; van Rijn vd., 2021; De Carlis vd., 2023).

1.6. mTOR: Metabolik Stres-Otofaji-İnflamasyon Düğümü

mTOR yolu, hücrel yanıtın metabolik durumla eşgüdüm içinde biçimlenmesini sağlayan temel bir sinyal düğümüdür. Besin erişilebilirliği, büyüme faktörü uyarıları ve immün girdilerin tek bir ağ üzerinden bütünleştirilmesi, değişken mikroçevre koşullarına uyum sağlayabilen hücrel programların kurulmasına katkı sunar. Bu nedenle mTOR, metabolik stres yanıtları, otofajik süreç ve inflamatuvar sinyallemenin kesişiminde yer alan merkezi bir düzenleyici olarak değerlendirilmektedir.

1.6.1. Metabolik Stres

Metabolik stres, hücrenin enerji üretimi ve biyosentetik prekürsör arzı ile biyosentetik talep arasındaki dengenin bozulduğu; bu dengenin kaymasıyla redoks homeostazı, organel bütünlüğü ve proteostaz üzerinde birikimli bir yükün olduğu işlevsel bir durum olarak kavramsallaştırılabilir (Wellen ve Thompson, 2010; Hotamisligil, 2010).

Bu nedenle metabolik stres yalnızca enerji azalmasıyla değil, metabolik akışların yönü, yoğunluğu ve yeniden kullanımı ile birlikte değerlendirilmelidir.

mTOR eksenini bu sinyal düzeyindeki örgütlenmede merkezi konum taşır; mTOR, büyüme faktörleri ile besin ve enerji ipuçlarını bütünleştirerek anabolizma-katabolizma dengesinin yönünü belirleyen bir düğüm olarak tanımlanır (Lapante ve Sabatini, 2012). mTORC1, besin yeterliliğinde protein, lipid ve nükleotid sentezi gibi maliyetli anabolik süreçleri artırırken otofajiyi baskılar; mTORC2 ise hücre iskeleti düzenlenmesi ve metabolik sinyal entegrasyonu gibi tamamlayıcı rollere sahiptir (Lapante ve Sabatini, 2012).

Metabolik stres koşullarında düğüm noktası çoğu kez enerji sensörü AMPK ile mTORC1 arasındaki karşıt düzenleme ilişkisi üzerinden kurulur. Enerji stresi ile AMPK aktivasyonu, mTORC1'i baskılayarak anabolik harcamayı sınırlayan bir kontrol noktası işlevi görür; aynı anda ULK1 üzerinden otofajiyi ve mitofajiyi tetikleyerek dayanıklılık moduna geçişi kolaylaştırır (Gwinn vd., 2008; Egan vd., 2011; Kim vd., 2011; Hardie, 2014). Bu durum, enerji kıtlığı altında hücrenin hasarlı bileşenleri uzaklaştırıp kaynakları koruyarak daha sürdürülebilir bir yanıt geliştirmesine olanak tanır.

Metabolik stresin etkileri, organel bozulması, yanlış katlanmış protein yükü ve lipid dengesizliği üzerinden tehlike sinyallerinin birikmesini kolaylaştırmasıyla genişler. Otofaji, hasarlı bileşenlerin uzaklaştırılması ve inflamatuvar sinyal platformlarının düzenlenmesi yoluyla bu yükü dengeleyici bir tampon gibi davranabilir; mitokondriyal bütünlüğün bozulduğu durumlarda inflamazom aktivitesi ve IL-1 β /IL-18 gibi çıktılar artabilmektedir (Nakahira vd., 2011; Zhong vd., 2016; Deretic vd., 2013). Bu nedenle metabolik stres, otofaji ve inflamasyon birbirinden bağımsız değil; aynı biyolojik ağın karşılıklı etkileşen bileşenleri olarak görülmelidir.

1.6.2. Otofaji

Otofaji, hasarlı organellerin ve yanlış katlanmış proteinlerin lizozomal yolak üzerinden uzaklaştırılmasını sağlayan, çoğu durumda hücre yaşamını destekleyen

temel bir uyum mekanizmasıdır. Bu süreç yalnızca hücresel bileşenlerin temizlenmesiyle sınırlı kalmaz; enerji kıtlığı koşullarında hücreye substrat sağlayarak metabolik dengenin korunmasına, mitokondriyal kalite kontrolün sürdürülmesine ve inflamatuvar sinyallerin düzenlenmesine katkıda bulunur (Eminova, 2024).

Stresin dozu ile onarım kapasitesi arasında uyum bulunduğu otofaji, hasarı sınırlayan ve hayatta kalmayı kolaylaştıran bir program olarak belirginleşir. Buna karşılık otofajik akışın zayıflaması ya da yanlış yönlenebilirliği, hasarın temizlenmesini geciktirerek stresin daha da ağırlaşmasına neden olabilir. Otofaji ile programlı hücre ölümü arasındaki ilişkinin çift yönlü olması da bu bağlamda önemlidir. Bazı koşullarda otofaji apoptotik bileşenleri düzenleyebilir, bazı koşullarda ise aşırı ve kontrolsüz biçimde sürerek hücresel yıkımı hızlandırabilir (Gozuacik, 2007; Öz-Arslan vd., 2011).

Otofajik hücre ölümü kavramı, özellikle apoptozun baskılandığı veya adaptif yanıtların yetersiz kaldığı durumlarda tartışılmaktadır. Uzun süreli ve güçlü otofaji aktivasyonunun mitokondri sayısını azaltması, sitoplazma hacmini düşürmesi ve hücresel işlevlerin sürdürülebilirliğini zayıflatması, ölüm kararına katkı sağlayabilecek mekanizmalar arasında yer alır (Gözüaçık, 2011). Bu nedenle otofaji, koruyucu bir kalite kontrol programı ile hücresel yıkımı derinleştiren bir süreç arasında değişen çift yönlü bir işleve sahiptir.

1.6.3. İnflamasyon ve hücre ölümü yolları ile kesişim

Sıcak iskemi ve bunu izleyen reperfüzyon, patojen varlığı olmaksızın gelişen steril bir doku hasarı modelidir. Buna rağmen hızlı bir innate immün yanıt oluşturur ve greft fonksiyonu üzerindeki erken ve geç etkileri nedeniyle klinik açıdan belirleyicidir (Pefanis vd., 2019; Li vd., 2024). İskemik fazda ATP kaybı, iyon pompalarının yetmezliği ve hücresel şişme ile başlayan hasar, reperfüzyonda DAMP salınımı üzerinden pattern-recognition reseptörlerini aktive ederek proinflamatuvar bir transkripsiyon programını başlatır (Wu vd., 2010; Krüger vd., 2009). İnsan böbrek transplantasyonunda donör kaynaklı TLR4 sinyalinin IRI'ye katkısı gösterilmiş olup,

bu durum innate yanıtın organ kalitesi ve erken greft fonksiyon bozukluğu açısından merkezi rolüne işaret eder (Krüger vd., 2009).

HMGB1-TLR4 eksenini, reperfüzyonun ilk saatlerinde NF- κ B/MAPK aktivasyonunu güçlendirerek TNF- α ve IL-6 gibi sitokinlerin, ayrıca MCP-1/CCL2 gibi kemokinlerin artışına katkıda bulunur; sonuçta nötrofil ve makrofaj infiltrasyonu, tübüler epitel hasarı ve fonksiyonel bozulma derinleşir (Wu vd., 2010). Endotel düzeyinde gelişen aktivasyon, lökosit adezyonunu ve transmigrasyonunu kolaylaştırırken; mikrovasküler tıkaçlar, vazokonstriksiyon ve peritübüler kapiller akımın heterojenleşmesi dokuda ikincil hipoksi yaratarak hasarın sürmesine zemin hazırlar (Pefanis vd., 2019; Li vd., 2024).

İskemik parankimde hücre ölümü spektrumu tek bir yoldan ibaret değildir; apoptoz, nekroz ve farklı regüle nekroz biçimleri olan nekroptozis, ferroptozis ve piroptozis birlikte ve çoğu zaman birbirini tetikleyen biçimde işler (Li vd., 2024). Nekroptozis, TNF ailesi sinyalleri veya TLR uyaranları altında kaspaz-8 aktivitesinin baskılandığı koşullarda gelişen belirgin derecede proinflamatuvar bir regüle nekroz formudur (Linkermann vd., 2013; Li vd., 2024). Ferroptozis, demir-bağımlı lipid peroksidasyonu ile karakterizedir ve tübüler epitelde oksidatif stres koşullarında hızla tetiklenebilir; piroptozis ise inflamazom aktivasyonu ve gasdermin aracılı membran porlaşması ile yüksek derecede inflamatuvar bir hücre ölümü biçimi olarak öne çıkar (Belavgeni vd., 2020; Li vd., 2024).

Bu süreçlerin ortak çıktısı, hücre membranı bütünlüğünün bozulmasıyla ortaya çıkan DAMP salınımıdır ve bu durum inflamasyon ile regüle nekroz arasında pozitif geri beslemeli bir döngü oluşturur. Literatürde “nekroinflamasyon” olarak kavramsallaştırılan bu kompleks, transplantasyon IRI’sında hedeflenebilir biyolojik bir kırılma noktası olarak öne çıkmaktadır (Belavgeni vd., 2020; Pefanis vd., 2019). Böbrekte özellikle kortikomedüller bileşke ve dış medulla; yüksek metabolik gereksinim, sınırlı oksijen rezervi ve mikrodolaşım kırılabilirliği nedeniyle bu sarmalın anatomik olarak yoğunlaştığı bölgelerdir ve yamalı hasar paterni üretir (Li vd., 2024).

1.7. mTOR İnhibitörleri: İmmüsupresyonun Ötesinde Organ Koruyucu Hipotez

1.7.1. Transplantasyonda mTOR inhibitörleri: yer, endikasyon ve rejim stratejileri

mTOR yolu; hücresel büyüme, metabolizma, otofaji ve immün yanıtın entegrasyonunda merkezi bir serin/treonin kinaz kompleksidir. Transplant alıcılarında mTOR inhibitörleri, özellikle T-hücre proliferasyonu ve efektör farklılaşma üzerindeki baskılayıcı etkileri nedeniyle kalsinörin inhibitörleri, antimetabolitler ve kortikosteroidlerle birlikte rejimlerin önemli bir bileşenini oluşturur (KDIGO Transplant Work Group, 2009). Klinik pratikte bu ajanlar; CNI (kalsinörin inhibitörü) minimizasyonu, CNI ilişkili nefrotoksisite riskinin azaltılması, belirli malignite veya CMV senaryolarında immüsupresyon profilinin yeniden dengelenmesi gibi amaçlarla kullanılabilir (Pascual vd., 2018; Berger vd., 2019). Bununla birlikte yara iyileşme komplikasyonları, lenfösel, proteinüri, dislipidemi ve hematolojik toksisite gibi advers etkiler, özellikle erken cerrahi dönemde dikkatli zamanlama gerektirir (Nashan ve Citterio, 2012; Kaplan vd., 2014).

1.7.2. Sirolimus ve everolimus: sınıf içi farklılıklar ve olası fizyopatolojik yansımalar

Sirolimus ve everolimus aynı farmakolojik sınıf içinde yer alsa da; moleküler yapı, farmakokinetik profil ve doku düzeyindeki etkiler bakımından klinik olarak anlamlı ayrışmalar gösterebilir. Everolimus, sirolimusun 40-O-(2-hidroksietil) türevidir; daha kısa eliminasyon yarı ömrü ve daha hızlı denge düzeyi ile doz ayarlamalarında pratik avantaj sağlayabilir (Klawitter vd., 2015).

Sınıf içi farklılıkların fizyopatolojik yansıması, endotel ve düz kas hücreleri gibi immün-dışı hücrelerde mTOR sinyalinin baskılanmasının mikrodolaşım, vasküler inflamasyon ve fibrotik yeniden yapılanma süreçlerini etkilemesi üzerinden tartışılabilir. Ayrıca mTORC1/mTORC2 dinamikleri ve geri-besleme döngüleri, metabolik stres yanıtı ve otofaji akışını modüle ederek iskemi-reperfüzyon gibi akut

streslerde hücre kaderini belirleyen eşiklere yansıyabilir (Klawitter vd., 2015). Bu nedenle sirolimus ve everolimus, tek bir sınıf etkisi çerçevesinde değil, hedef popülasyon, eşlik eden tedavi ve amaçlanan klinik strateji bağlamında bireyselleştirilmiş olarak değerlendirilmelidir (KDIGO Transplant Work Group, 2009; Kaplan vd., 2014).

1.7.3. Zamanlama paradigması: preconditioning ve postconditioning

İskemi-reperfüzyon hasarı bağlamında mTOR inhibitörlerine ilişkin organ koruyucu hipotez, yalnızca immünsupresyona indirgenemeyen hücrel stres yanıtı modülasyonu üzerinden kurulmaktadır. Preconditioning; iskemi öncesi farmakolojik uyarılarla hücrelerin enerji krizi, oksidatif stres ve inflamatuvar dalgaya karşı hazırlanması olarak tanımlanırken, postconditioning; reperfüzyon sonrası erken fazda zararlı sinyal kaskadının baskılanması ve hasar-onarım dengesinin yeniden kurulmasını hedefler (Khan vd., 2006).

Deneyisel çalışmalarda rapamisin/rapalogların; mitokondriyal stabilite, antioksidan yanıt ve özellikle otofaji aktivasyonu üzerinden I/R hasarını sınırlayabileceği gösterilmiştir. Otofaji, hasarlı organellerin uzaklaştırılması ve enerji homeostazının yeniden kurulmasında kritik bir adaptasyon mekanizmasıdır; rapamisinin otofaji indüksiyonu ile akut böbrek hasarında fonksiyonel iyileşmeyi desteklediği bildirilmektedir (Su vd., 2018; Li vd., 2018). Bununla birlikte zamanlama, klinik translasyonun temel kırılma noktasıdır. Erken postoperatif dönemde mTOR inhibitörleri yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu üzerinde olumsuz etkiler yaratabilirken, seçilmiş koşullarda greft fonksiyonunu korumaya yönelik avantajlar sağlayabilir (Nashan ve Citterio, 2012; Pascual vd., 2018).

1.8. Kanıt Boşluğu, Tezin Özgünlüğü ve Kavramsal Model

Sıcak iskemiye bağlı organ hasarı, transplantasyon cerrahisi başta olmak üzere akut dolaşım bozuklukları, travmatik organ yaralanmaları ve kritik bakım uygulamalarında klinik önemi yüksek bir patofizyolojik problem alanı olarak değerlendirilmektedir (Eltzschig ve Eckle, 2011). Organ dokusunun fizyolojik sıcaklık koşullarında kan

akımından yoksun kalması; ATP üretiminde hızlı düşüş, iyon homeostazı bozulması, mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stres ve hücre ölüm programlarının devreye girmesi ile sonuçlanır (Eltzschig ve Eckle, 2011; Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020; Ponticelli, 2014). Reperfüzyonla birlikte bu biyolojik kırılma alanı inflamasyonun, mikrodolaşım bozukluğunun ve uzak organ etkilerinin eklendiği çok katmanlı bir hasar modeline dönüşmektedir (Zhai vd., 2013). Bu nedenle sıcak iskemiye bağlı organ hasarının sınırlandırılması, yalnızca cerrahi başarının değil, uzun dönem greft sürdürülebilirliğinin de stratejik hedeflerinden biridir (Ponticelli, 2014; Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

Mitokondri, iskemi sürecinde hücresel enerji üretiminin merkezinde yer almakta ve sıcak iskemiye bağlı organ hasarının biyolojik temelinde belirleyici rol oynamaktadır. ATP kaybı, iyon pompalarının işlevsel bütünlüğünü zayıflatarak kalsiyum aşırı yüklenmesini kolaylaştırmakta; reperfüzyonun başlamasıyla birlikte elektron taşıma zincirinin yeniden devreye girmesi, uygun redoks dengesi kurulamadığında ROT'un aşırı üretimiyle sonuçlanabilmektedir (Bernardi ve Di Lisa, 2015; Chouchani vd., 2016; Eltzschig ve Eckle, 2011). Tanımlanan patofizyolojik olaylar, IRI'nin tek bir mekanizma ile açıklanamayacağını; metabolik stres, inflamasyon, oksidatif stres ve hücre ölümü süreçlerinin birbirini besleyen çok katmanlı bir düzenek oluşturduğunu göstermektedir (Eltzschig ve Eckle, 2011; Zhai vd., 2013). Bu çerçevede mTOR sinyal yolu, metabolik stres yanıtlarının, otofajik sürecin ve inflamatuvar programların düzenlenmesinde merkezi bir düğüm noktası olarak öne çıkmakta; mTOR inhibitörleri ise organ korunmasına yönelik potansiyel biyolojik modülatörler olarak değerlendirilmektedir (Saxton ve Sabatini, 2017; Zhu vd., 2015).

1.8.1. Kanıt Boşluğu: Literatürdeki Sınırlılıklar ve Açık Sorular

Son yıllarda mTOR inhibitörlerinin sıcak IRI'de koruyucu etkiler gösterebileceğine işaret eden deneysel ve preklinik çalışmaların sayısında artış gözlenmektedir. Bununla birlikte mevcut literatür, bulguların klinik uygulamaya aktarılmasını güçleştiren belirgin bir kanıt boşluğuna işaret etmektedir. Bu boşluk yalnızca sonuç sayısının sınırlı olmasıyla değil; metodolojik heterojenlik, organ modelleri arasındaki

farklılıklar, mekanistik belirsizlikler ve ölçüm parametrelerindeki değişkenlikle ilişkilidir.

Organ modelleri arasındaki tutarsızlık, temel sınırlılıklardan biridir. Böbrek, karaciğer, kalp ve akciğer modellerinde organ-spesifik mikrodolaşım ve immün hücre kompozisyonu nedeniyle sonuçlar heterojenlik göstermektedir; bu durum belirli bir organda gözlenen koruyucu etkinin başka bir dokuda aynı şiddet ve mekanizma ile ortaya çıkıp çıkmadığı sorusunu açık bırakmaktadır (Polat, 2010; Kaca, 2009). Buna ek olarak mTOR inhibitörlerinin koruyucu etkisinin baskın olarak inflamasyon baskılanması, mitofaji aktivasyonu, oksidatif stresin sınırlandırılması veya hücre ölümü programlarının modülasyonu üzerinden mi geliştiği net biçimde aydınlatılamamıştır. Farklı çalışmalarda kullanılan doz, uygulama zamanı ve sonlanım ölçütleri arasındaki belirgin farklılıklar; optimal terapötik pencere, preconditioning/postconditioning üstünlüğü ve klinik uygulanabilirlik konularını açık bırakmaktadır. Erken dönem hasar belirteçlerinin, özellikle NGAL ve apoptotik/oksidatif belirteçlerin, klasik fonksiyon parametreleriyle birlikte sistematik kullanılmaması da bu translasyonel boşluğu derinleştirmektedir (Bozkaya, 2015).

Bu sınırlılıklar birlikte değerlendirildiğinde, sıcak iskemi koşullarında mTOR inhibitörlerinin organ düzeyindeki etkilerinin çok parametrelili, zaman bağımlı ve karşılaştırmalı tasarımlarla incelenmesi gerektiği anlaşılmaktadır. Organ-spesifik modellerin standardizasyonu, mekanistik eksenlerin eş zamanlı analizi, doz ve zamanlama optimizasyonu ile erken biyobelirteçlerin entegrasyonu, translasyonel güvenilirliği artıracak temel adımlar arasında yer almaktadır.

1.8.2. Tezin Özgünlüğü ve Doktora Düzeyinde Bilimsel Katkısı

Bu çalışma, sıcak renal iskemi-reperfüzyon modelinde mTOR inhibitörlerinin organ hasarı üzerindeki etkilerini biyokimyasal, inflamatuvar, oksidatif stres, apoptotik ve histopatolojik parametreleri tek bir deneysel çerçeve içinde eş zamanlı olarak incelemesi bakımından özgün bir katkı üretmektedir. Böyle bir bütüncül tasarım, sıcak İR hasarının çok katmanlı patofizyolojisini yalnızca tek bir sonlanım noktası üzerinden

değil; birbirini besleyen mekanistik eksenler üzerinden birlikte değerlendirmeye olanak tanımaktadır.

Sirolimus ve everolimusun aynı sıcak renal İR modelinde karşılaştırmalı olarak incelenmesi, mTOR inhibitör sınıfının iki önemli üyesinin olası organ koruyucu etkilerinin ayrıştırılmasına olanak sağlamaktadır. Bu yaklaşım, farklı çalışma protokollerinden kaynaklanan heterojenlikten bağımsız olarak ajanların görelî etkinlik profillerini daha güvenilir biçimde tartışabilmeyi mümkün kılar.

İnflamasyon-oksidatif stres-apoptozis ekseninin bütüncül biçimde analiz edilmesi, iskemi-reperfüzyon hasarının çok boyutlu doğasıyla uyumlu bir değerlendirme zemini oluşturmaktadır. Buna erken dönem biyobelirteçlerden NGAL'in dâhil edilmesi ve histopatolojik skorlamanın biyokimyasal bulgularla entegre edilmesi, renal hasarın yalnızca geç fonksiyon parametreleri üzerinden değil; erken tübüler zedelenme ve yapısal doku hasarı düzeyinde de duyarlı biçimde değerlendirilmesini sağlamaktadır.

Bu yönleriyle çalışma, mTOR inhibitörlerinin sıcak iskemi koşullarında yalnızca immüsupresif ajanlar olarak değil, aynı zamanda organ koruyucu biyolojik modölatörler olarak da ele alınabileceğini destekleyen özgün deneysel kanıt üretmektedir. Ayrıca bu yaklaşım, literatürde vurgulanan mekanistik belirsizlik, zamanlama/doz heterojenliği ve erken belirteç eksikliği gibi boşlukların bir bölümüne metodolojik düzeyde yanıt verebilecek bir çerçeve sunmaktadır.

1.8.3. Kavramsal Model Önerisi

Bu çalışmanın kavramsal modeli, sıcak iskemi-reperfüzyon sürecinde gelişen organ hasarının temel biyolojik mekanizmalarını ve mTOR inhibitörlerinin bu mekanizmalar üzerindeki modölatör etkilerini bütüncül bir çerçeve içinde açıklamaktadır. Modelin ayırt edici yönü, sıcak İR hasarını tek bir patolojik olayla sınırlı görmemesi; metabolik stres, oksidatif yük, inflamasyon ve hücre ölümü eksenlerinin birbirini besleyen ardışık bir zincir oluşturduğunu vurgulamasıdır.

Modelin temel patolojik dizgesi, sıcak iskemiyle başlayan metabolik çöküşün reperfüzyonla birlikte genişleyen inflamatuvar ve oksidatif yanıtlarla derinleştiğini göstermektedir. Süreç; fizyolojik sıcaklıkta kan akımının kesilmesiyle hipoksi ve ATP tükenmesi, bunu izleyen mitokondriyal disfonksiyon, reperfüzyonda ROT artışı, lipid peroksidasyonu, DAMP salınımı, TLR/NF- κ B aktivasyonu, proinflamatuvar sitokin yanıtı, apoptotik yolak aktivasyonu ve tübüler hasar ekseninde ilerlemektedir.

Bu ardışık patolojik zincir aşağıdaki biçimde özetlenebilir:

Sıcak iskemi → hipoksi ve ATP tükenmesi

Mitokondriyal disfonksiyon → ROT üretiminin artması

Oksidatif stres → lipid peroksidasyonu (MDA artışı)

DAMP salınımı → TLR/NF- κ B aktivasyonu

Proinflamatuvar sitokin yanıtı → TNF- α , IL-1 β , IL-6 artışı

Apoptotik yolak aktivasyonu → Caspase-3 artışı

Tübüler hasar → NGAL yükselmesi ve histolojik skor artışı

Bu patolojik zincir içerisinde mTOR inhibitörleri, çoklu biyolojik eksen üzerinden modülatör bir rol üstlenmektedir. Modelin önerdiği çerçeveye göre mTOR inhibisyonu; otofaji ve mitofaji süreçlerini destekleyerek mitokondriyal kalite kontrolü güçlendirebilmekte, inflamatuvar sitokin yanıtını baskılayarak steril inflamasyonu azaltabilmekte, oksidan-antioksidan dengesini iyileştirerek lipid peroksidasyonunu sınırlandırabilmekte ve apoptotik aktivasyonu azaltarak hücre ölüm süreçlerini modüle edebilmektedir. Böylece mTOR hedeflemesi, sıcak renal iskemi-reperfüzyon hasarında metabolik stres, oksidatif yük, inflamasyon ve hücre ölümü eksenlerinin kesişiminde organ koruyucu bir potansiyel taşıyan bütüncül bir modülasyon stratejisi olarak kavramsallaştırılmaktadır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Araştırmanın Tasarımı

Bu çalışma, KOBAY DHL A.Ş. Yerel Etik Kurulu'nun 03.11.2020 tarih ve 509 sayılı kararı ile etik açıdan uygun bulunmuş; deneysel uygulamaların tamamı, ilgili mevzuat kapsamında çalışma iznine sahip ruhsatlı Kobay DHL A.Ş. laboratuvarlarında yürütülen, kontrollü, prospektif ve in vivo nitelikte deneysel bir araştırma olarak planlanmıştır. Araştırmada, renal sıcak iskemi ve bunu izleyen reperfüzyon sürecinin böbrek dokusunda yol açtığı biyokimyasal, inflamatuvar, oksidatif, apoptotik ve histopatolojik değişikliklerin bütüncül düzeyde ortaya konulması ile mTOR inhibitörleri olan sirolimus ve everolimusun söz konusu patofizyolojik süreç üzerindeki muhtemel koruyucu ve düzenleyici etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Renal iskemi-reperfüzyon (İ/R) modeli, akut böbrek hasarının deneysel olarak oluşturulmasında yaygın olarak kullanılan bir yaklaşımdır. İskemi ve reperfüzyon sürecinde vazokonstriktör mediatörlerin ve endotelin sisteminin aktive olduğu, bunun mikrosirkülatuvar perfüzyon bozukluğu ve doku hasarına katkı sağladığı bildirilmektedir (Simard vd., 2009).

mTOR sinyal yolunun hücrel proliferasyon ve inflamatuvar yanıt üzerindeki düzenleyici rolü dikkate alındığında, bu yolun farmakolojik baskılanmasının iskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu etkiler gösterebileceği öngörülmektedir. Sirolimusun mTOR baskılanması yoluyla proliferatif ve inflamatuvar süreçleri modüle edebildiği gösterilmiştir (Bissler vd., 2008).

2.2. Materyal

Bu çalışmanın biyolojik materyalini, 250–300 g ağırlığında toplam 36 adet erkek Sprague-Dawley sıçan oluşturmuştur. Deneysel değişkenliğin en aza indirilmesi, gruplar arasında karşılaştırılabilirliğin sağlanması ve biyolojik yanıtın daha homojen bir zeminde değerlendirilmesi amacıyla aynı cinsiyet ve benzer ağırlık aralığındaki

hayvanlar tercih edilmiştir. Deney hayvanları standart laboratuvar koşullarında barındırılmış; tüm deneysel girişimler, fizyolojik stresin ve işlem ilişkili değişkenlerin kontrol altında tutulabilmesi amacıyla genel anestezi altında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada farmakolojik materyal olarak sirolimus [1 mg/mL Rapamune® (60 mL, oral solüsyon), Pfizer, NY, USA] ve everolimus [0.25 mg suda çözünür tablet Certican®, Novartis, Basel, Switzerland] kullanılmıştır. Her iki ajan da mTOR sinyal yolunu hedefleyen immünsüpresif ilaçlar olup, bu çalışmada yalnızca klasik immünsüpresif etkileri açısından değil, aynı zamanda iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında ortaya çıkan hücresel stres yanıtı, inflamasyon, oksidatif dengesizlik ve doku hasarı üzerindeki olası düzenleyici etkileri bakımından değerlendirilmiştir. Rat modellerinde mTOR inhibitörlerinin deneysel kullanımına ilişkin çalışmalarda sirolimusun çoğunlukla yaklaşık 1 mg/kg oral doz, everolimusun ise 2–3 mg/kg/gün oral doz aralığında uygulandığı bildirilmektedir (Wacher vd., 2002; Simler vd., 2002). Bu literatür verileri doğrultusunda, mevcut çalışmada sirolimus 1 mg/kg/gün ve everolimus 2 mg/kg/gün dozunda oral yoldan uygulanmıştır. Sirolimusun oral solüsyon formunda hızlı absorbe olarak yaklaşık 1–2 saat içinde doruk konsantrasyona ulaşması, everolimusun ise oral kullanım sonrası benzer şekilde 1–2 saat içinde pik kan düzeylerine erişmesi, bu ajanların iskemi öncesi dönemde uygulanmasını farmakokinetik açıdan da desteklemektedir. Bu yönüyle sirolimus ve everolimusun seçimi, çalışmanın mTOR eksenli koruyucu ve modülatör etki hipotezi ile uyumlu biçimde yapılandırılmıştır (Bissler vd., 2008).

Deneysel cerrahi uygulamalarda anestezi sağlamak amacıyla ketamin [Ketalar®; Parke Davis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye] ve xylazine [Rompun®; Bayer AG, Leverkusen, Germany] kullanılmıştır. Ketamin-xylazine kombinasyonu, deney hayvanlarında yeterli anestezi derinliği, analjezi ve kas relaksasyonu sağlayabilmesi nedeniyle deneysel cerrahi modellerde yaygın biçimde tercih edilen bir yaklaşım olup, bu çalışmada da renal iskemi-reperfüzyon modelinin standardize koşullarda yürütülmesine olanak sağlayan temel anestezi protokol olarak benimsenmiştir. Böylece hem cerrahi işlemlerin güvenli biçimde uygulanması hem de işlem kaynaklı fizyolojik yanıtların olabildiğince denetlenmesi amaçlanmıştır.

2.3. Deneysel Model ve Gruplar

Bu çalışmada renal iskemi-reperfüzyon modeli, in vivo sıcak iskemi yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Genel anestezi altında median laparotomi yapılarak her iki böbreğe ait renal pediküller dikkatli biçimde disseke edilmiş ve gerçeğe daha yakın, tam ve global bir renal iskemi oluşturabilmek amacıyla her iki renal pediküle bilateral vasküler klempaj uygulanmıştır. Böylece toplam renal kitlenin eş zamanlı olarak iskekiye maruz bırakıldığı deneysel bir model oluşturulmuş; sıcak iskemi süresi 90 dakika olarak sürdürülmüştür. İskemik dönem sonunda klempaj bilateral olarak kaldırılarak her iki böbrekte reperfüzyon başlatılmış ve reperfüzyon süreci 120 dakika boyunca devam ettirilmiştir. Sirolimus ve everolimus uygulanan gruplarda ilgili ajanlar iskemi indüksiyonundan 2 saat önce oral yolla verilmiştir.

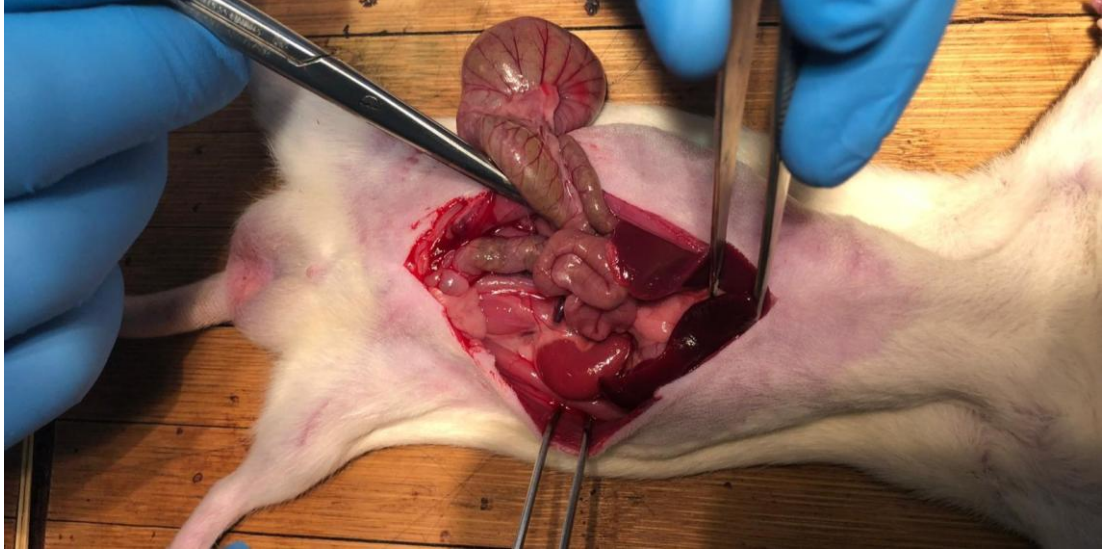
Çalışma toplam 36 deney hayvanı ile yürütülmüş ve hayvanlar altı gruba (n=6) ayrılmıştır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1.Deney grupları, uygulanan işlemler ve örnekleme zamanları

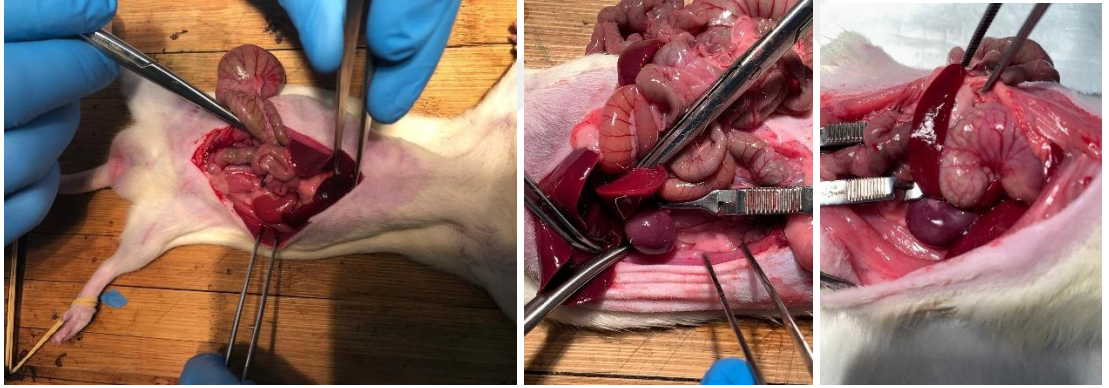
Grup	n	Uygulama	Deneysel işlem	Örnekleme / değerlendirme zamanı
Sham	6	İlaç uygulanmadı	Median laparotomi yapıldı; renal pediküller ortaya konuldu, klempaj uygulanmadı.	Bazal değerlendirme sonrası 30. dakikada kan örnekleri alındı ve böbrek dokuları çıkarıldı. Alınan serum, plazma ve doku örnekleri analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de saklandı (n=6).
Sirolimus	6	Sirolimus, oral, laparotomiden / iskemiden 2 saat önce	İlaç uygulamasını takiben laparotomi yapıldı; iskemi oluşturulmadı.	Bazal dönemde kan örnekleri alındı ve böbrek dokuları çıkarıldı. Alınan serum, plazma ve doku örnekleri analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de saklandı (n=6).
Everolimus	6	Everolimus, oral, laparotomiden / iskemiden 2 saat önce	İlaç uygulamasını takiben laparotomi yapıldı; iskemi oluşturulmadı.	Bazal dönemde kan örnekleri alındı ve böbrek dokuları çıkarıldı. Alınan serum, plazma ve doku örnekleri analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de saklandı (n=6).
İskemi / Reperfüzyon (IR)	6	İlaç uygulanmadı	Median laparotomi sonrası her iki renal pediküle bilateral klempaj uygulandı; 90 dakika sıcak iskemi ve ardından bilateral deklempaj ile 120 dakika reperfüzyon gerçekleştirildi.	T0: bazal; T1: iskemi sonrası 90. dakika; T2: reperfüzyon sonrası 120. dakika. Alınan serum, plazma ve doku örnekleri analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de saklandı (n=6).
IR + Sirolimus	6	Sirolimus, oral, iskemiden 2 saat önce	İlaç uygulamasını takiben median laparotomi yapıldı; bilateral renal pedikül klempajı ile 90 dakika iskemi ve ardından bilateral deklempaj ile 120 dakika reperfüzyon uygulandı.	Reperfüzyon sonrası 120. dakikada kan örnekleri alındı ve böbrek dokuları çıkarıldı. Alınan serum, plazma ve doku örnekleri analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de saklandı (n=6).
IR + Everolimus	6	Everolimus, oral, iskemiden 2 saat önce	İlaç uygulamasını takiben median laparotomi yapıldı; bilateral renal pedikül klempajı ile 90 dakika iskemi ve ardından bilateral deklempaj ile 120 dakika reperfüzyon uygulandı.	Reperfüzyon sonrası 120. dakikada kan örnekleri alındı ve böbrek dokuları çıkarıldı. Alınan serum, plazma ve doku örnekleri analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de saklandı (n=6).

Sham, sirolimus ve everolimus gruplarında yalnızca bazal döneme ait değerlendirmeler yapılmış; iskemi/reperfüzyon grubunda ise her bir hayvandan bazal (T0), iskemi sonrası 90. dakika (T1) ve reperfüzyon sonrası 120. dakika (T2) olmak üzere üç ayrı zaman noktasında ölçüm alınmıştır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında ise ilaç uygulamasını takiben bilateral renal pedikül klempajı ile 90 dakikalık iskemi ve ardından 120 dakikalık reperfüzyon uygulanmış, değerlendirmeler reperfüzyon sonundaki zaman noktasında gerçekleştirilmiştir. Deneysel tasarımın bu biçimde kurgulanması, bir yandan sıcak renal iskemi-reperfüzyon hasarının böbrek dokusunda oluşturduğu akut değişikliklerin zamansal olarak izlenmesine, diğer yandan mTOR inhibitörleri olan sirolimus ve everolimusun bu süreç üzerindeki muhtemel modülatör etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesine olanak sağlamıştır.

Araştırmada toplam deney hayvanı sayısı 36 olmasına karşın, istatistiksel değerlendirmeye esas alınan toplam gözlem sayısı 48'dir. Bu durumun temel nedeni, yalnızca İskemi/Reperfüzyon grubunda yer alan her bir hayvandan bazal dönem (T0) (Şekil 2.1), iskemi sonrası 90. dakika (T1) (Şekil 2.2) ve reperfüzyon sonrası 120. dakika (T2) (Şekil 2.3) olmak üzere üç ayrı zaman noktasında tekrarlı ölçüm elde edilmiş olması; diğer gruplarda ise her bir hayvan için tek zaman noktasına ait ölçüm/değerlendirme yapılmış olmasıdır.



Şekil 2.1. Median laparotomi sonrası her iki böbreğe ait renal pediküllerin disseke edilerek bilateral klempaj öncesi hazırlanmış intraoperatif görünümü.



Şekil 2.2. Her iki renal pediküle bilateral vasküler klemp uygulanmasını takiben gelişen sıcak iskemik görünümü.



Şekil 2.3. Bilateral deklempaj sonrasında her iki böbrekte reperfüzyonun yeniden başlamasına ait intraoperatif görünüm.

2.4. Veri Toplama ve Ölçümler

Deney sürecinde elde edilen kan örneklerinden serum ve/veya plazma fraksiyonları ayrılmış, böbrek doku örnekleri ise biyokimyasal, immünolojik ve histopatolojik incelemeler için hazırlanmıştır. Kan örnekleri uygun tüplere alındıktan sonra santrifüj edilerek serum ve plazma fazları ayrılmış; doku örnekleri ise fazla kandan arındırıldıktan sonra tartılmış, soğuk tampon ortamında homojenize edilmiş ve elde edilen süpernatantlar analizlerde kullanılmıştır. ELISA temelli ölçümlerde, üretici protokollerine uygun olarak önceden kaplanmış 96 kuyucuklu mikropalaklar, 37 °C inkübasyon basamakları, yıkama tamponu, biyotinli deteksiyon reaktifleri, HRP-konjugat sistemi, TMB substratı ve stop solüsyonu kullanılmış; optik yoğunluk ölçümleri 450 ± 10 nm filtreli mikropalaka okuyucuda gerçekleştirilmiştir. Analizler için ayrılan serum, plazma ve doku örnekleri ölçüm gününe kadar -80 °C’de muhafaza edilmiştir. (Kalogeris vd., 2016).

Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla serum üre ve kreatinin düzeyleri ölçülmüştür. Bu ölçümler Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan tam otomatik biyokimya otoanalizöründe

(Roche, Cobas 6000, Japonya) gerçekleştirilmiştir. Üre tayininde üreaz–glutamat dehidrogenaz (GLDH) kinetik UV yöntemi, kreatinin tayininde ise kinetik Jaffé kolorimetrik yöntem esas alınmıştır. Ureaz–GLDH yönteminde üre, ureaz aracılığıyla amonyuma hidrolize edilmekte; ardından GLDH eşliğinde gerçekleşen reaksiyonda NADH'nin NAD⁺'a oksidasyonuna bağlı absorbans değişimi izlenmektedir. Kinetik Jaffé yönteminde ise kreatinin, alkali ortamda pikrat ile reaksiyona girerek renkli kompleks oluşturmakta ve absorbans artışı kinetik olarak değerlendirilmektedir. Çalışma protokolünde üre için 12–24 mg/dL, kreatinin için ise 0,10–0,80 mg/dL aralığı başlangıç/izlem aralığı olarak kabul edilmiştir. Bilateral renal iskemi-reperfüzyon modellerinde serum üre/BUN ve kreatinin düzeyleri, total renal kitlenin fonksiyonel etkilenmesini yansıtan temel biyokimyasal göstergeler arasında yer almaktadır (Lerink vd., 2021; Özbilgin vd., 2016).

İnflamatuvar yanıtın değerlendirilmesi amacıyla TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenmiştir. TNF- α için Cloud-Clone/USCN Rat TNF- α ELISA kiti (SEA133Ra), IL-1 β için Cloud-Clone/USCN Rat IL-1 β ELISA kiti (SEA563Ra), IL-6 için ise Cloud-Clone Rat IL-6 ELISA kiti (SEA079Ra) esas alınmıştır. Bu kitler temelde sandwich ELISA prensibine dayanmaktadır. Standart ve örneklerden uygun hacimlerde mikropłaka kuyucuklarına ekleme yapılmış, üretici protokolüne uygun biçimde 37 °C'de inkübasyon uygulanmış, ardından Detection Reagent A ve Detection Reagent B basamakları yürütölmüş, TMB substratı ile renk reaksiyonu oluşturulmuş ve reaksiyon stop solösyonu ile sonlandırıldıktan sonra optik yoğunluk 450 $\pm$ 10 nm'de okunmuştur. Ölçüm sonuçları standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır. TNF- α için ölçüm birimi pg/mL, ölçüm aralığı 15,6–1000 pg/mL, duyarlılık yaklaşık <6 pg/mL; IL-1 β için ölçüm birimi pg/mL, ölçüm aralığı 15,6–1000 pg/mL, duyarlılık <5,9 pg/mL; IL-6 için ise ölçüm birimi pg/mL, ölçüm aralığı 7,8–500 pg/mL, duyarlılık <3,3 pg/mL olarak kabul edilmiştir. Bu tip araştırma amaçlı ELISA kitlerinde “standart aralık”, klinik referans aralığından ziyade kitin ölçüm/detection range'i olarak değerlendirilmiştir. TNF- α , IL-1 β ve IL-6, renal iskemi-reperfüzyon hasarında gelişen proinflamatuvar yanıtın ve doku hasarına eşlik eden immün aktivasyonun temel göstergeleri arasında yer almaktadır (Güler vd., 2022; Zhang vd., 2022).

Oksidatif stresin değerlendirilmesi amacıyla MDA, SOD, GPx, CAT, TAC/TAS ve TOS parametreleri analiz edilmiştir. MDA, Cloud-Clone/USCN Malondialdehyde ELISA kiti (CEA597Ge) ile yarışmalı inhibisyon ELISA prensibine göre ölçülmüş; bu kitte örnek ve standart kuyucuklara eklendikten sonra deteksiyon reaktifi ile birlikte inkübasyon yapılmış ve reaksiyon sonunda optik yoğunluk 450 nm’de okunmuştur. MDA için ölçüm birimi ng/mL, ölçüm aralığı 24,69–2000 ng/mL, duyarlılık <9,15 ng/mL’dir. SOD için SES134Ra, GPx1 için SEA295Ra, CAT için SEC418Ra kodlu rat ELISA kitleri kullanılmış olup bu kitler sandwich ELISA esasına göre değerlendirilmiştir. Buna göre SOD için ölçüm birimi ng/mL, ölçüm aralığı 0,156–10 ng/mL, duyarlılık <0,069 ng/mL; GPx1 için ölçüm birimi ng/mL, ölçüm aralığı 1,56–100 ng/mL, duyarlılık <0,63 ng/mL; CAT için ölçüm birimi ng/mL, ölçüm aralığı 1,56–100 ng/mL, duyarlılık <0,61 ng/mL olarak kabul edilmiştir. Total antioksidan kapasite için SunRed Rat T-AOC/TAS kiti (201-11-1187), total oksidan durum için ise SunRed Rat TOS kiti (201-11-1669) kullanılmıştır. T-AOC/TAS için ölçüm birimi U/mL, assay range 0,4–60 U/mL, duyarlılık 0,255 U/mL; TOS için ölçüm birimi nmol/mL, assay range 0,1–20 nmol/mL, duyarlılık 0,073 nmol/mL’dir. SunRed kitlerinde optik yoğunluk 450 nm’de okunmuş ve konsantrasyonlar standart eğri üzerinden hesaplanmıştır. MDA düzeyi lipid peroksidasyonunu, SOD-GPx-CAT eksenli enzimatik antioksidan savunmayı, TAS/T-AOC ve TOS ise toplam oksidan-antioksidan dengesi yansıtan parametreler olarak değerlendirilmiştir. Bu parametreler, renal iskemi-reperfüzyon hasarında oksidatif stresin ve antioksidan savunma sistemindeki bozulmanın ortaya konulmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Kalogeris vd., 2016; Granata vd., 2022).

Apoptozisin değerlendirilmesi amacıyla Caspase-3, erken dönem tübüler hasarın değerlendirilmesi amacıyla ise NGAL düzeyleri ölçülmüştür. Caspase-3 tayininde Cloud-Clone/USCN Rat Caspase-3 ELISA kiti (SEA626Ra), NGAL tayininde ise Cloud-Clone/USCN Rat NGAL ELISA kiti (SEB388Ra) kullanılmıştır. Her iki analiz de sandwich ELISA esasına göre yürütülmüş; örnekler mikropalakalara eklendikten sonra 37 °C’de inkübasyon, yıkama, deteksiyon reaktifi ve substrat basamakları uygulanmış, absorbans 450 ± 10 nm’de okunmuştur. Caspase-3 için ölçüm birimi ng/mL, ölçüm aralığı 0,156–10 ng/mL, duyarlılık <0,060 ng/mL; NGAL için ölçüm

birimi ng/mL, ölçüm aralığı 0,78–50 ng/mL, duyarlılık <0,34 ng/mL olarak kabul edilmiştir. Caspase-3 düzeyleri apoptotik aktivasyonun biyokimyasal göstergesi olarak değerlendirilmiş; NGAL ise erken dönem tübüler hasarın duyarlı bir biyobelirteci olarak yorumlanmıştır. NGAL'nin akut böbrek hasarında serum ve/veya idrar düzeylerinde kreatininden daha erken yükselbildiği ve erken böbrek hasarının belirlenmesinde değerli bir gösterge olduğu daha önce bildirilmiştir (Yang vd., 2009; Devarajan, 2010). Ayrıca kaspaz-3 aracılı apoptotik aktivasyonun, renal iskemi-reperfüzyon hasarının önemli patobiyolojik bileşenlerinden biri olduğu kabul edilmektedir (Kalogeris vd., 2016).

Histopatolojik inceleme amacıyla böbrek doku örnekleri %10 nötral tamponlu formalin içinde fikse edilmiş, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömülmüş ve parafin bloklardan yaklaşık 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanmış ve preparatlar ışık mikroskobu (Nikon, Eclipse, Ci-L Plus, Japonya) altında değerlendirilmiştir. H&E incelemesinde renal korteks ve medullada özellikle tübüler dilatasyon, tübüler epitel hücre şişmesi, vakuolizasyon, fırçamsı kenar kaybı, hücresel dökülme/deskuamasyon, intratübüler cast oluşumu, konjesyon, hemoraji, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve nekroz gibi bulgular dikkate alınmıştır. Histopatolojik hasar yarı kantitatif olarak 0–4 arasında skorlanmıştır; buna göre 0 = normal histolojik görünüm, 1 = minimal/hafif hasar (<%25), 2 = hafif-orta derecede hasar (%25–50), 3 = belirgin hasar (%50–75) ve 4 = yaygın/ağır hasar (>%75) olarak değerlendirilmiştir. Histopatolojik değerlendirme, preparatların ait olduğu deney grupları değerlendiriciden gizlenerek körleme esasına göre gerçekleştirilmiştir. H&E ile yapılan yarı kantitatif tübüler hasar skorum ve 0–4 dereceli renal hasar değerlendirmesi, deneysel renal iskemi-reperfüzyon modellerinde yaygın olarak kullanılan yöntemler arasındadır (Lee vd., 2013; Rao vd., 2017).

Bu çalışmada kullanılan veri toplama yaklaşımı; böbrek fonksiyonu (üre, kreatinin), inflamasyon (TNF- α , IL-1 β , IL-6), oksidatif stres ve antioksidan savunma (MDA, SOD, GPx, CAT, TAS/T-AOC, TOS), apoptozis (Caspase-3), erken tübüler hasar (NGAL) ve histopatolojik doku hasarı eksenlerini birlikte değerlendirmeye olanak

sağlamıştır. Böylece renal iskemi-reperfüzyon hasarının fonksiyonel, biyokimyasal, moleküler ve morfolojik boyutları çok yönlü olarak analiz edilmiştir (Kalogeris vd., 2016; Granata vd., 2022).

Bu çalışmada analiz edilen parametrelerin örnek tipleri, kullanılan kit ve cihazlar, yöntemsel yaklaşımlar ile ölçüm birimi ve aralıklarına ilişkin ayrıntılar “Çizelge 2.2’de” gösterilmiştir.



Çizelge 2.2. Ölçülen parametreler, kullanılan kit/cihazlar, yöntemler, birimler ve ölçüm aralıkları

Parametre	Örnek Tipi	Cihaz / Kit	Yöntem / Teknik	Ölçüm Birimi	Standart / Assay Range	Duyarlılık / Not
Üre	Serum	Tam otomatik biyokimya otoanalizörü	Üreaz–GLDH kinetik UV yöntemi	mg/dL	12–24 mg/dL (izlem aralığı)	Böbrek fonksiyon göstergesi
Kreatinin	Serum	Tam otomatik biyokimya otoanalizörü	Kinetik Jaffé kolorimetrik yöntem	mg/dL	0,10–0,80 mg/dL (izlem aralığı)	Böbrek fonksiyon göstergesi
TNF- α	Serum / plazma / doku homojenatı	Cloud-Clone / USCN SEA133Ra	Sandwich ELISA	pg/mL	15,6–1000 pg/mL	<6,1 pg/mL
IL-1 β	Serum / plazma / doku homojenatı	Cloud-Clone / USCN SEA563Ra	Sandwich ELISA	pg/mL	15,6–1000 pg/mL	<5,9 pg/mL
IL-6	Serum / plazma / doku homojenatı	Cloud-Clone SEA079Ra	Sandwich ELISA	pg/mL	7,8–500 pg/mL	<3,3 pg/mL*
MDA	Serum / plazma	Cloud-Clone / USCN CEA597Ge	Competitive inhibition ELISA	ng/mL	24,69–2000 ng/mL	<9,15 ng/mL
SOD	Serum / plazma / doku homojenatı	Cloud-Clone / USCN SES134Ra	Sandwich ELISA	ng/mL	0,156–10 ng/mL	<0,069 ng/mL
GPx1	Serum / plazma	Cloud-Clone / USCN SEA295Ra	Sandwich ELISA	ng/mL	1,56–100 ng/mL	<0,63 ng/mL
CAT	Serum / plazma / doku homojenatı	Cloud-Clone / USCN SEC418Ra	Sandwich ELISA	ng/mL	1,56–100 ng/mL	<0,61 ng/mL
TAC / T-AOC / TAS	Serum / plazma / ilgili doku sıvısı	SunRed 201-11-1187 Rat T-AOC ELISA Kit	Double-antibody sandwich ELISA	U/mL	0,4–60 U/mL	0,255 U/mL
TOS	Serum / plazma / ilgili doku sıvısı	SunRed 201-11-1669 Rat TOS ELISA Kit	Double-antibody sandwich ELISA	nmol/mL	0,1–20 nmol/mL	0,073 nmol/mL
Caspase-3	Doku homojenatı / biyolojik sıvılar	Cloud-Clone / USCN SEA626Ra	Sandwich ELISA	ng/mL	0,156–10 ng/mL	<0,060 ng/mL
NGAL	Serum / plazma / idrar / doku homojenatı	Cloud-Clone / USCN SEB388Ra	Sandwich ELISA	ng/mL	0,78–50 ng/mL	<0,34 ng/mL
H&E histopatoloji	Parafine gömülmüş böbrek dokusu kesitleri	Işık mikroskobu	%10 nötral tamponlu formalin fiksasyonu, rutin doku takibi, parafin blok, 5 μ m kesit, HE boyama	Skor	0–4 yarı kantitatif hasar skoru	0=normal; 1=<%25; 2=%25–50; 3=%50–75; 4=>%75 hasar

2.5. Verilerin Analizi

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 27.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde öncelikle tanımlayıcı istatistiklerden yararlanılmış; sürekli değişkenler için örneklem sayısı (n), minimum ve maksimum değerler, aritmetik ortalama ve standart sapma hesaplanmıştır. Verilerin dağılım özelliklerinin belirlenmesi amacıyla uygun olduğu durumlarda çarpıklık (skewness), basıklık (kurtosis) ve normallik incelemeleri yapılmış; böylece her bir değişken için en uygun istatistiksel test yaklaşımının seçilmesi hedeflenmiştir. Tüm istatistiksel değerlendirmelerde anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesinde kullanılan serum üre ve kreatinin düzeyleri, hem deney grupları arasındaki farklılıklar hem de ölçüm zamanlarına bağlı değişimler açısından analiz edilmiştir. Çalışmada toplam 36 deney hayvanı yer almakla birlikte, deney tasarımının yapısı gereği bazı gruplarda aynı hayvandan birden fazla zaman noktasında ölçüm elde edilmiştir. Özellikle İskemi/Reperfüzyon (IR) grubunda her bir hayvandan bazal dönem, iskemi sonrası 90. dakika ve reperfüzyon sonrası 120. dakika olmak üzere üç farklı zaman noktasında veri toplanmış olması nedeniyle, üre ve kreatinin değişkenlerine ilişkin bazı analizlerde toplam gözlem sayısı hayvan sayısından farklı olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle söz konusu parametrelerin analizinde, ölçüm yapısının niteliği ve verilerin dağılım özellikleri birlikte dikkate alınmıştır.

Üre ve kreatinin düzeylerine ilişkin verilerde parametrik test varsayımlarının tam olarak sağlanmadığı durumlarda non-parametrik analiz yöntemleri tercih edilmiştir. Bu kapsamda hem ölçüm zamanlarına göre hem de deney gruplarına göre yapılan karşılaştırmalarda Kruskal–Wallis testi kullanılmıştır. Böylece böbrek fonksiyon parametrelerindeki değişimin yalnızca grup temelli değil, aynı zamanda zamana bağlı dinamik seyri de istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ilgili tablolarda sıra ortalamaları, test istatistikleri ve p değerleri ile birlikte sunulmuştur.

İnflamatuvar yanıtın değerlendirilmesinde TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri; oksidatif stres ve antioksidan savunma sisteminin incelenmesinde MDA, SOD, GPx, CAT, TAC/TAS ve TOS düzeyleri; apoptozisin değerlendirilmesinde Caspase-3 düzeyi; erken dönem böbrek hasarının ortaya konulmasında ise NGAL düzeyi analiz edilmiştir. Bu parametrelerde her bir deney grubundan elde edilen bağımsız ölçümler esas alınmış; verilerin dağılım özellikleri ile grup varyanslarının genel yapısı değerlendirildikten sonra parametrik test koşullarının sağlandığı değişkenlerde gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Tek yönlü varyans analizinde genel farkın istatistiksel olarak anlamlı bulunması halinde, anlamlılığın hangi gruplar arasındaki farklılıktan kaynaklandığını belirlemek amacıyla Tukey post-hoc testi uygulanmıştır. Parametrik varsayımların karşılanmadığı durumlarda yapılan çoklu ikili karşılaştırmalarda ise Tip I hata oranını kontrol etmek amacıyla Holm–Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.

Bu yaklaşım sayesinde çoklu grup karşılaştırmalarında ortaya çıkabilecek Tip I hata olasılığının kontrol altında tutulması ve gruplar arasındaki ikili farklılıkların daha ayrıntılı biçimde ortaya konulması amaçlanmıştır. Parametrik yöntemlerin kullanılabildiği değişkenlere ait sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma biçiminde sunulmuş; ilgili çizelge ve şekillerde gruplar arası dağılım ve değişim örüntüsü gösterilmiştir. Parametrik varsayımların karşılanmadığı durumlarda ise verinin yapısına uygun non-parametrik değerlendirme yaklaşımı esas alınmıştır. Bu suretle, istatistiksel yöntem seçiminin verinin özelliklerine dayandırılması ve sonuçların metodolojik açıdan daha güvenilir hale getirilmesi amaçlanmıştır.

Histopatolojik incelemede böbrek doku örnekleri, önceden tanımlanmış yarı kantitatif bir skora sistemi doğrultusunda değerlendirilmiştir. Bu kapsamda histolojik hasar şiddeti 0 ile 4 arasında puanlanmış; tübüler dejenerasyon, tübüler dilatasyon, epitel hasarı, hücresel şişme, interstisyel inflamasyon ve genel doku bütünlüğündeki bozulma gibi morfolojik özellikler dikkate alınmıştır. Elde edilen histopatolojik skorlar, gruplar arasındaki doku hasar düzeyini karşılaştırmak amacıyla değerlendirilmiş; ayrıca ışık mikroskopik bulgular biyokimyasal ve fonksiyonel veriler ile yorumlanmıştır. Böylece histopatolojik inceleme yalnızca nitel morfolojik

gözlemler üzerinden değil, aynı zamanda yarı kantitatif skorlama ile desteklenen sistematik bir değerlendirme çerçevesi içinde ele alınmıştır.

İstatistiksel analiz sürecinde temel amaç, deney grupları arasında saptanan farklılıkları yalnızca sayısal düzeyde ortaya koymak değil; aynı zamanda bu farklılıkların biyolojik, fonksiyonel ve patofizyolojik anlamını bütüncül bir yaklaşımla değerlendirmektir. Bu doğrultuda böbrek fonksiyonu, inflamasyon, oksidatif stres, antioksidan yanıt, apoptozis ve histopatolojik doku hasarı eksenlerinde elde edilen tüm veriler birlikte ele alınmış; fonksiyonel, biyokimyasal ve histomorfolojik bulgular arasındaki ilişkilerin daha sağlıklı biçimde yorumlanmasına olanak sağlayacak bir analitik çerçeve oluşturulmuştur. Bu yaklaşımın, çalışmanın iç tutarlılığını güçlendirdiği ve sonuçların bilimsel güvenilirliğini artırdığı düşünülmektedir.

2.6. Araştırma Soruları ve Hipotezler

Bu çalışma kapsamında sıcak iskemi modeli oluşturularak mTOR inhibitörlerinin renal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Araştırmada aşağıdaki hipotezler test edilmek üzere planlanmıştır:

Birincil hipotez: Sıcak iskemi öncesinde uygulanan mTOR inhibitörlerinin (sirolimus ve everolimus), reperfüzyon sonrası organ hasar belirteçlerini (serum üre, kreatinin, NGAL düzeyleri ve histopatolojik hasar skoru) azaltacağı öngörülmüştür.

İkincil hipotez 1: mTOR inhibitörlerinin, iskemi-reperfüzyon sürecinde artış gösteren proinflamatuvar sitokin yanıtını (TNF- α , IL-1 β ve IL-6) baskılayacağı varsayılmıştır.

İkincil hipotez 2: mTOR inhibitörü uygulamasının oksidatif stres yükünü azaltacağı; lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeylerinde azalma ve antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, GPx, katalaz) korunma veya artış sağlayacağı öngörülmüştür. Ayrıca total antioksidan ve total oksidan kapasite parametrelerinde oksidan–antioksidan dengenin iyileşeceği varsayılmıştır.

İkincil hipotez 3: mTOR inhibitörlerinin apoptotik yolak aktivasyonunu azaltacağı; bu doğrultuda Caspase-3 düzeylerinde düşüş ve histopatolojik hasar skorlarında iyileşme görüleceği öngörülmüştür.

Karşılaştırmalı hipotez: Sirolimus ve everolimusun renal iskemi-reperfüzyon hasarı üzerindeki etkilerinin büyüklüğü bakımından farklılık gösterebileceği değerlendirilmiştir.

Bu hipotezler doğrultusunda biyokimyasal, immünolojik, oksidatif stres ve histopatolojik parametreler karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir.



3. BULGULAR

Bu bölümde çalışmaya dahil edilen deney gruplarına ait biyokimyasal, inflamatuvar, oksidatif stres, apoptozis ve histopatolojik bulgular sistematik olarak sunulmuştur. Analizler, belirlenen deney grupları arasında karşılaştırmalı olarak gerçekleştirilmiş; elde edilen sonuçlar istatistiksel değerlendirmeler doğrultusunda çizelge ve şekiller eşliğinde raporlanmıştır. Öncelikle böbrek fonksiyon göstergeleri olan serum üre ve kreatinin düzeyleri değerlendirilmiş, ardından inflamatuvar sitokinler, oksidatif stres parametreleri, apoptotik belirteçler ve histopatolojik skorlar ayrı başlıklar altında incelenmiştir. Bulgular, gruplar arası farklılıkların yönü ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri dikkate alınarak sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Deney Gruplarına Göre Hayvan Sayısı, Ölçüm Zamanı ve İlaç Dağılımı

Değişken	Alt Kategori	Sham (n=6)	Sirolimus (n=6)	Everolimus (n=6)	IR (n=6)	IR+Sirolimus (n=6)	IR+Everolimus (n=6)
Hayvan	Hayvan 1–6	1 (%16,7)	1 (%16,7)	1 (%16,7)	3 (%16,7)	1 (%16,7)	1 (%16,7)
	Bazal (T0)	6 (%100)	6 (%100)	6 (%100)	6 (%33,3)	0	0
Ölçüm Zamanı	İskemi sonrası 90 dk (T1)	0	0	0	6 (%33,3)	0	0
	Reperfüzyon sonrası 120 dk (T2)	0	0	0	6 (%33,3)	6 (%100)	6 (%100)
İlaç	Sirolimus	0	6 (%100)	0	0	6 (%100)	0
	Everolimus	0	0	6 (%100)	0	0	6 (%100)

“Çizelge 3.1’de” deney gruplarına ait hayvan dağılımı, ölçüm zaman noktaları ve ilaç uygulama bilgileri ayrıntılı olarak sunulmuştur. Çalışma toplam 36 deney hayvanı ile yürütülmüş ve her grup altı hayvandan (n=6) oluşturulmuştur. Sham, Sirolimus ve Everolimus gruplarında her bir hayvandan yalnızca bazal zaman noktasında (T0) ölçüm alınmıştır. Bu nedenle söz konusu gruplarda ölçüm sayısı grup başına 6’dır ve ölçümlerin tamamı bazal döneme aittir (%100).

İskemi/Reperfüzyon (IR) grubunda ise her bir hayvandan üç ayrı zaman noktasında ölçüm yapılmıştır: bazal (T0), iskemi sonrası 90. dakika (T1) ve reperfüzyon sonrası 120. dakika (T2). Bu nedenle IR grubunda 6 hayvan bulunmasına rağmen toplam ölçüm sayısı 18'e ulaşmıştır. Zaman noktalarına göre dağılım incelendiğinde, bazal ölçümler 6 (%33,3), iskemi sonrası 90. dakika ölçümleri 6 (%33,3) ve reperfüzyon sonrası 120. dakika ölçümleri 6 (%33,3) olarak gerçekleşmiştir. Dolayısıyla IR grubunda sütun yüzdeleri ölçüm zamanlarına eşit olarak dağılmıştır.

IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında her biri altı hayvandan oluşmakta olup değerlendirme yalnızca reperfüzyon sonrası 120. dakika zaman noktasında yapılmıştır. Bu nedenle her iki grupta da toplam ölçüm sayısı 6'dır ve ölçümlerin %100'ü T2 zaman noktasına aittir.

Bu dağılım nedeniyle biyolojik örneklem büyüklüğü 36 hayvan olmakla birlikte, IR grubunda aynı hayvandan üç farklı zaman noktasında ölçüm alınması veri setindeki toplam gözlem sayısını artırmıştır. Dolayısıyla bazı analizlerde raporlanan N değeri hayvan sayısını değil, analiz edilen toplam ölçüm sayısını ifade etmektedir. Bu durum deney tasarımının tekrarlı ölçüm yapısından kaynaklanmaktadır.

3.1. Biyokimyasal Bulgular (Böbrek Fonksiyon Parametreleri)

Böbrek fonksiyonunun değerlendirilmesinde serum üre ve kreatinin düzeyleri temel biyokimyasal parametreler olarak ele alınmıştır. Bu değişkenler, deneysel gruplar arasındaki farklılıkların ve iskemi-reperfüzyon sürecine bağlı fonksiyonel değişimlerin ortaya konulması amacıyla değerlendirilmiştir. Üre ve kreatinin verilerine ilişkin istatistiksel analiz sürecine geçilmeden önce, değişkenlerin genel dağılım özellikleri ve tanımlayıcı istatistikleri incelenmiştir. Bu kapsamda elde edilen tanımlayıcı istatistikler aşağıda sunulmuştur. Deneysel tasarım gereği bazı gruplarda aynı hayvandan farklı zaman noktalarında ölçüm alınmış olması nedeniyle, tabloda verilen toplam gözlem sayısı biyolojik örneklem sayısından farklılık gösterebilmektedir.

Çizelge 3.2. Üre ve Kreatinin Değişkenlerine Ait Tanımlayıcı İstatistikler (N=48)

Değişken	N	Min.	Maks.	Ort.	Ö	Çarpıklık	Basıklık
Üre (mg/dL)	48	14,70	55,50	27,2771	10,80414	0,771	-0,309
Kreatinin (mg/dL)	48	0,22	4,10	1,4721	1,23652	0,580	-1,118

Üre ve kreatinin değişkenlerine ait verilerin hangi istatistiksel yöntemlerle değerlendirileceğinin belirlenebilmesi amacıyla, dağılım özellikleri ayrıca normallik testleri ile incelenmiştir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen Kolmogorov–Smirnov ve Shapiro–Wilk testlerine ait sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

Çizelge 3.3. Üre ve Kreatinin Değişkenleri İçin Normallik Testi Sonuçları

Değişken	Kolmogorov-Smirnov	p	Shapiro-Wilk	p
Üre (mg/dL)	0,183	<0,001	0,904	0,001
Kreatinin (mg/dL)	0,239	<0,001	0,851	<0,001

Normallik analizi sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, üre ve kreatinin değişkenlerinde parametrik test varsayımlarının tam olarak sağlanmadığı görülmüştür. Bu nedenle söz konusu parametrelerin ileri istatistiksel değerlendirilmesinde non-parametrik yöntemler tercih edilmiştir. Bu kapsamda, gruplar arası karşılaştırmalar ile ölçüm zamanlarına bağlı değişimlerin analizinde Kruskal–Wallis testi kullanılmıştır. Elde edilen bulgular aşağıda ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Ölçüm zamanına göre yapılan analizde hem üre hem de kreatinin değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (üre: $H=38,116$; $p<0,001$; kreatinin: $H=36,311$; $p<0,001$). Sıra ortalamaları incelendiğinde her iki parametre için de en düşük değerlerin bazal dönemde (üre: 12,50; kreatinin: 12,50) olduğu görülmektedir. İskemi sonrası 90. dakikada sıra ortalamaları belirgin şekilde artmış (üre: 44,83; kreatinin: 41,50) ve en yüksek düzeye ulaşmıştır. Reperfüzyon sonrası 120. dakikada ise sıra ortalamaları iskemi sonrası döneme göre azalmış (üre: 33,72; kreatinin: 34,83) ancak bazal düzeylerin üzerinde kalmıştır. Bu dağılım, iskemi ile belirgin artış ve reperfüzyon sonrası kısmi gerileme paterni göstermektedir.

Çizelge 3.4. Ölçüm Zamanına Göre Üre ve Kreatinin Değerleri

Değişken	Ölçüm Zamanı	N	Sıra Ortalaması	p
Üre (mg/dL)	Bazal	24	12,50	<0,001
	İskemi sonrası 90. dk	6	44,83	
	Reperfüzyon sonrası 120. dk	18	33,72	
	Toplam	48		

Kreatinin (mg/dL)	Bazal	24	12,50	<0,001
	İskemi sonrası 90. dk	6	41,50	
	Reperfüzyon sonrası 120. dk	18	34,83	
	Toplam	48		

Deney gruplarına göre yapılan karşılaştırmalarda da üre ve kreatinin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. İskemi/Reperfüzyon (IR) grubunda böbrek fonksiyon parametrelerinin belirgin biçimde yükseldiği, buna karşılık IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında bu yükselişin daha sınırlı düzeyde kaldığı görülmüştür. Sham, yalnız sirolimus ve yalnız everolimus gruplarında ise üre ve kreatinin düzeylerinin fizyolojik sınırlara yakın seyrettiği izlenmiştir. Bu bulgular, iskemi-reperfüzyon hasarının böbrek fonksiyonları üzerinde belirgin bozucu etkisi olduğunu; mTOR inhibitörü uygulanan tedavi gruplarında ise bu bozulmanın kısmen hafiflediğini düşündürmektedir.

Çizelge 3.5. Gruplara Göre Üre ve Kreatinin Değerleri

Değişken	Grup	N	Bazal Değerler	p
Üre (mg/dL)	Sham	6	6,92	0,002
	Sirolimus	6	16,17	
	Everolimus	6	18,75	
	IR	18	30,33	
	IR+Sirolimus	6	32,17	
	IR+Everolimus	6	31,00	
	Toplam	48		
Kreatinin (mg/dL)	Sham	6	4,67	<0,001
	Sirolimus	6	16,50	
	Everolimus	6	17,42	
	IR	18	30,14	
	IR+Sirolimus	6	34,25	
	IR+Everolimus	6	32,75	
	Toplam	48		

Gruplar arasında yapılan karşılaştırmada üre değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (H=18,828; p=0,002). Sıra ortalamaları incelendiğinde en düşük değer Sham grubunda (6,92), en yüksek değerin ise IR+Sirolimus (32,17) ve IR+Everolimus (31,00) gruplarında olduğu görülmektedir. IR grubunda da yüksek sıra ortalaması (30,33) dikkat çekmektedir.

Kreatinin değerleri açısından da gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (H=23,467; p<0,001). En düşük sıra ortalaması Sham grubunda (4,67), en yüksek sıra

ortalaması IR+Sirolimus grubunda (34,25) saptanmıştır. IR (30,14) ve IR+Everolimus (32,75) gruplarında da yüksek değerler gözlenmiştir. Bu bulgular, özellikle iskemi ve reperfüzyon uygulanan gruplarda renal fonksiyon parametrelerinde belirgin artış olduğunu göstermektedir.

Gruplar ve zaman noktaları birlikte değerlendirildiğinde, üre ve kreatinin düzeylerindeki değişimin özellikle IR grubunda daha belirgin olduğu görülmüştür. IR grubunda bazal dönemde düşük seyreden değerlerin, iskemi sonrası 90. dakikada belirgin biçimde arttığı, reperfüzyon sonrası 120. dakikada ise azalma eğilimi göstermekle birlikte başlangıç düzeylerine inmediği saptanmıştır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında da iskemi sonrası artış izlenmekle birlikte, reperfüzyon sonrası değerlerin IR grubuna kıyasla daha düşük düzeylerde olduğu gözlenmiştir. Bu durum, her iki ilacın da iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı fonksiyonel bozulmayı azaltıcı yönde etki gösterebileceğine işaret etmektedir.

Çizelge 3.6. Gruplara ve Zaman Noktalarına Göre Üre ve Kreatinin Değerleri

Grup	Zaman Noktası	n	Üre (Ortalama $\pm$ SS)	Kreatinin (Ortalama $\pm$ SS)
Sham	Bazal	6	16,32 $\pm$ 1,84	0,26 $\pm$ 0,03
Sirolimus	Bazal	6	19,58 $\pm$ 0,79	0,45 $\pm$ 0,09
Everolimus	Bazal	6	20,13 $\pm$ 2,11	0,48 $\pm$ 0,14
IR	Bazal	6	16,95 $\pm$ 1,56	0,36 $\pm$ 0,11
IR	Iskemi Sonrası 90 dakika	6	46,40 $\pm$ 6,44	3,17 $\pm$ 0,93
IR	Reperfüzyon Sonrası 120 dakika	6	36,92 $\pm$ 4,30	2,61 $\pm$ 0,82
IR+Sirolimus	Reperfüzyon Sonrası 120 dakika	6	31,25 $\pm$ 4,41	2,27 $\pm$ 0,64
IR+Everolimus	Reperfüzyon Sonrası 120 dakika	6	30,67 $\pm$ 4,42	2,18 $\pm$ 0,58

“Çizelge 3.6’da” üre ve kreatinin değerlerinin grup ve zaman noktasına göre ortalama $\pm$ standart sapma değerleri sunulmuştur. IR grubunda bazal dönemde üre 16,95 $\pm$ 1,56 mg/dL iken iskemi sonrası 90. dakikada 46,40 $\pm$ 6,44 mg/dL’ye yükselmiş, reperfüzyon sonrası 120. dakikada 36,92 $\pm$ 4,30 mg/dL’ye gerilemiştir. Kreatinin değerleri de benzer bir eğilim göstermiş; bazal dönemde 0,36 $\pm$ 0,11 mg/dL iken iskemi sonrası 3,17 $\pm$ 0,93 mg/dL’ye yükselmiş ve reperfüzyon sonrası 2,61 $\pm$ 0,82 mg/dL olarak ölçülmüştür.

IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında reperfüzyon sonrası üre ve kreatinin değerlerinin IR grubuna göre daha düşük olduğu görülmektedir. Kontrol ve yalnız ilaç uygulanan gruplarda ise değerler bazal düzeylerde seyretmiştir.

Reperfüzyon sonrası dönemde IR grubuna kıyasla elde edilen iyileşme yüzdeleri incelendiğinde, hem sirolimus hem de everolimus uygulanan gruplarda üre ve kreatinin düzeylerinde görece düzelme olduğu görülmüştür. Özellikle everolimus uygulanan grupta üre düzeyi açısından daha yüksek oranda iyileşme izlenirken, kreatinin açısından her iki ilacın da benzer doğrultuda koruyucu etki gösterdiği değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, ilaç grupları arasındaki farkın sınırlı olduğu ve bu farklılığın istatistiksel düzeyde belirginleşmediği anlaşılmaktadır.

Çizelge 3.7. IR Grubuna Göre Reperfüzyon Sonrası Üre ve Kreatinin İyileşme Yüzdeleri

Grup	Zaman Noktası	n	Üre (Ortalama $\pm$ SS)	Kreatinin (Ortalama $\pm$ SS)	Üre İyileşme (%)	Kreatinin İyileşme (%)
IR*	Reperfüz Sonrası 120 dakika	6	36,92 $\pm$ 4,30	2,61 $\pm$ 0,82	0	0
IR*+ Everolimus	Reperfüz Sonrası 120 dakika	6	30,67 $\pm$ 4,42	2,18 $\pm$ 0,58	16,93	16,24
IR*+ Sirolimus	Reperfüz Sonrası 120 dakika	6	31,25 $\pm$ 4,41	2,27 $\pm$ 0,64	15,35	12,79

IR grubunda reperfüzyon sonrası 120. dakikada üre ortalaması 36,92 $\pm$ 4,30 mg/dL, kreatinin ortalaması 2,61 $\pm$ 0,82 mg/dL olarak belirlenmiştir. IR+Everolimus grubunda üre düzeyinde %16,93, kreatinin düzeyinde %16,24 oranında azalma hesaplanmıştır. IR+Sirolimus grubunda ise üre düzeyinde %15,35 ve kreatinin düzeyinde %12,79 oranında azalma gözlenmiştir. Bu veriler, her iki ilaç grubunda da IR grubuna kıyasla oransal düşüş olduğunu göstermektedir.

İlaç türüne göre yapılan karşılaştırmada sirolimus ve everolimus grupları arasında üre ve kreatinin değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bu bulgu, çalışmanın erken dönem sonuçları açısından değerlendirildiğinde, her iki mTOR inhibitörünün böbrek fonksiyon parametreleri üzerindeki etkilerinin benzer düzeyde olduğunu düşündürmektedir. Ancak sayısal eğilimler dikkate alındığında, everolimus grubunda bazı parametrelerde daha belirgin düzelme gözlenmesi, bu ilacın

potansiyel etkilerinin daha geniş örneklemlili çalışmalarda ayrıca araştırılabileceğini göstermektedir.

Çizelge 3.8. İlaç Türüne Göre Üre ve Kreatinin Değerleri

Değişken	İlaç	N	Bazal Değerler	p
Üre (mg/dL)	Sirolimus	12	12,08	0,773
	Everolimus	12	12,92	
	Toplam	24		
Kreatinin (mg/dL)	Sirolimus	12	12,58	0,954
	Everolimus	12	12,42	
	Toplam	24		

Sirolimus ve everolimus grupları karşılaştırıldığında üre ($p=0,773$) ve kreatinin ($H=0,003$; $p=0,954$) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sıra ortalamalarının birbirine oldukça yakın olması, iki ilaç arasında renal fonksiyon parametreleri bakımından belirgin bir ayrışma olmadığını göstermektedir.

Çizelge 3.9. Hayvanlara Göre Üre ve Kreatinin Değerleri

Değişken	Hayvan	N	Bazal Değerler	p
Üre (mg/dL)	Hayvan 1	8	22,38	0,881
	Hayvan 2	8	27,81	
	Hayvan 3	8	27,94	
	Hayvan 4	8	22,63	
	Hayvan 5	8	21,06	
	Hayvan 6	8	25,19	
	Toplam	48		
Kreatinin (mg/dL)	Hayvan 1	8	20,44	0,719
	Hayvan 2	8	19,69	
	Hayvan 3	8	24,50	
	Hayvan 4	8	25,75	
	Hayvan 5	8	28,06	
	Hayvan 6	8	28,56	
	Toplam	48		

Hayvan bazlı analizde üre ($H=1,760$; $p=0,881$) ve kreatinin ($H=2,876$; $p=0,719$) değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Sıra ortalamaları hayvanlar arasında belirgin bir dağılım göstermemiştir. Bu bulgu, ölçümlerin bireysel hayvan farklılıklarından bağımsız olarak grup ve zaman etkisiyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, iskemi sonrası dönemde serum üre ve kreatinin düzeylerinde belirgin artış meydana geldiği, reperfüzyon sonrasında ise kısmi bir düzelme izlenmekle birlikte değerlerin bazal düzeye tam olarak dönmediği görülmüştür. Benzer şekilde, IR grubunda tüm inflamatuvar sitokin düzeylerinde belirgin artış saptanmış, bu artışın en belirgin olarak IL-6 düzeyinde ortaya çıktığı gözlenmiştir. Renal fonksiyon parametreleri ve inflamatuvar belirteçler birlikte değerlendirildiğinde, iskemi-reperfüzyon hasarının böbrekte hem fonksiyonel bozulmaya hem de belirgin bir inflamatuvar yanıtı yol açtığı anlaşılmaktadır. Buna karşılık, sirolimus ve everolimus uygulanan tedavi gruplarında gerek üre ve kreatinin düzeylerindeki artışın gerekse inflamatuvar sitokin yanıtının IR grubuna kıyasla daha sınırlı kaldığı, ancak bu iyileşmenin bazal düzeylere tam dönüş sağlayamadığı saptanmıştır. Bu bulgular, mTOR inhibitörlerinin sıcak iskemiye bağlı erken dönem böbrek hasarını ve buna eşlik eden inflamatuvar yanıtı azaltıcı yönde etkili olabileceğini, ancak hasarın tamamen ortadan kaldırılmasında tek başına yeterli olmadığını düşündürmektedir.

3.2. İnflamatuvar Bulgular

İskemi-reperfüzyon hasarının önemli patofizyolojik bileşenlerinden biri inflamatuvar yanıtıdır. Bu kapsamda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri değerlendirilmiş ve Sham grubuna göre kat-değişim oranları hesaplanmıştır. Parametreler gruplar arasında karşılaştırmalı olarak analiz edilmiş ve inflamatuvar yanıtın şiddeti ortaya konmuştur.

Çizelge 3.10. Gruplara Göre İnflamatuvar, Oksidatif Stres ve Hasar Parametrelerinin Kat-Değişim Değerleri

Grup	TNF- α	IL-1 β	IL-6	MDA	SOD	GPx	CAT	TAC/TAS	TOS	Caspase-3	NGAL	Histoloji Skoru (0-4)
Sham	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,5
Sirolimus	1,05	1,05	1,05	1	1	1	1	1	1	1	1	0,6
Everolimus	1,05	1,05	1,05	1	1	1	1	1	1	1	1	0,6
IR (T2 120 dk)	3	2,5	3,5	2,8	0,6	0,65	0,6	0,6	2,6	2,8	4	3,5
IR+Sirolimus	2,55	2,15	2,95	2,35	0,7	0,74	0,7	0,7	2,15	2,35	3,3	2,85
IR+Everolimus	2,5	2,1	2,85	2,3	0,72	0,76	0,72	0,72	2,1	2,3	3,2	2,8

IR grubunda TNF- α (3 kat), IL-6 (3,5 kat) ve IL-1 β (2,5 kat) düzeylerinde artış gözlenmiştir. Aynı grupta MDA düzeyi 2,8 kat artarken, antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, GPx, CAT) azalma saptanmıştır. TOS değeri artmış (2,6 kat), TAC/TAS değeri azalmıştır (0,6 kat). Ayrıca Caspase-3 (2,8 kat) ve NGAL (4 kat) düzeylerinde belirgin artış ile birlikte histopatolojik hasar skoru 3,5 olarak ölçülmüştür.

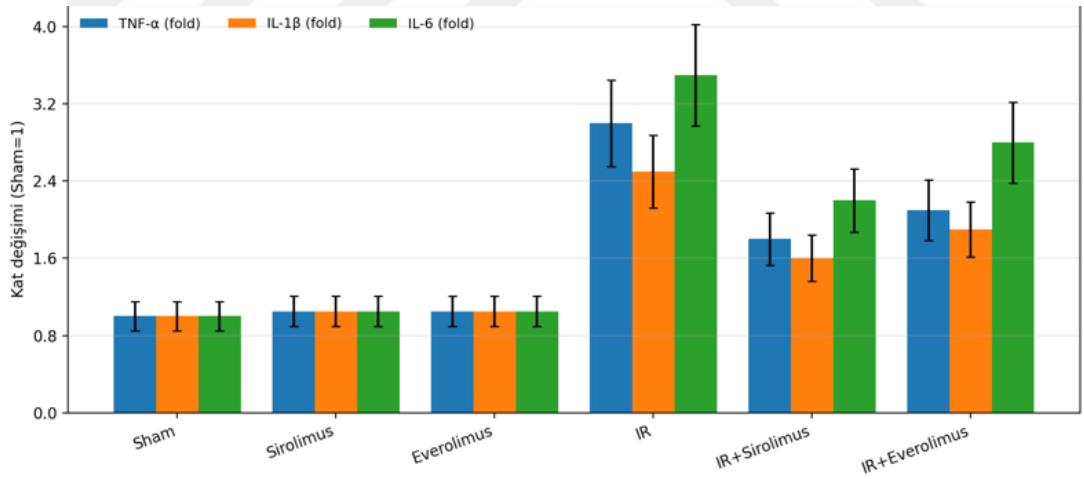
IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında inflamatuvar sitokinler, MDA, TOS, Caspase-3 ve NGAL düzeylerinde IR grubuna kıyasla daha düşük değerler; antioksidan enzimler ve TAC/TAS düzeylerinde ise kısmi artış gözlenmiştir. Bununla birlikte değerler tamamen bazal düzeylere dönmemiştir.

İncelenen tüm inflamatuvar belirteçlerde ölçülen değerlerin, 2.4. bölümünde belirtilen kit ölçüm aralıkları içinde kaldığı görülmüştür. Grup ortalamaları, standart sapma değerleri ve istatistiksel karşılaştırmalar “Çizelge 3.11’de” sunulmuştur.

Çizelge 3.11. Gruplara göre TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri ile istatistiksel karşılaştırmalar

Parametre	Sham (n=6)	Sirolimus (n=6)	Everolimus (n=6)	IR (n=6)	IR+Sirolimus (n=6)	IR+Everolimus (n=6)	Genel p	Sham-IR p	IR- IR+Sirolimus p	IR- IR+Everolimus p	IR+Sirolimus- IR+Everolimus p
TNF-α (pg/mL)	251.2 $\pm$ 29.5	262.5 $\pm$ 10.6	262.6 $\pm$ 10.5	751.0 $\pm$ 20.3	637.5 $\pm$ 16.7	624.8 $\pm$ 13.4	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.825
IL-1β (pg/mL)	299.0 $\pm$ 9.9	314.3 $\pm$ 14.4	315.1 $\pm$ 10.1	749.6 $\pm$ 20.3	645.1 $\pm$ 15.8	630.2 $\pm$ 15.8	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.517
IL-6 (pg/mL)	110.0 $\pm$ 8.1	115.4 $\pm$ 4.4	115.5 $\pm$ 4.3	385.2 $\pm$ 11.4	324.5 $\pm$ 9.5	313.6 $\pm$ 9.8	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.241

“Çizelge 3.11’de görüldüğü üzere”, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri açısından tüm parametrelerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı genel fark saptanmıştır (her biri için $p<0,001$). IR grubunda üç inflamatuvar belirtecin de sham grubuna göre belirgin olarak arttığı görülmüştür (tüm karşılaştırmalarda $p<0,001$). IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında ise TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin IR grubuna kıyasla anlamlı biçimde azaldığı saptanmıştır (tüm karşılaştırmalarda $p<0,001$); ancak bu azalma sham düzeylerine tam dönüş sağlamamıştır. Buna karşılık, sham grubu ile yalnız sirolimus veya yalnız everolimus uygulanan gruplar arasında inflamatuvar belirteçler bakımından anlamlı fark izlenmemiştir (TNF- α için $p=0,883$ ve $p=0,881$; IL-1 β için $p=0,486$ ve $p=0,433$; IL-6 için $p=0,869$ ve $p=0,860$). Benzer şekilde, IR+Sirolimus ile IR+Everolimus grupları arasında da TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,825$; $p=0,517$; $p=0,241$). Bu bulgular, her iki mTOR inhibitörünün de iskemi-reperfüzyona bağlı inflamatuvar yanıtı anlamlı ölçüde azalttığını, ancak iki tedavi arasında belirgin bir üstünlük ortaya konulamadığını düşündürmektedir.



Şekil 3.1. İnflamatuvar Sitokin Düzeylerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1)

“Şekil 3.1.’de” gruplara göre TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin Sham grubuna göre kat değişimi gösterilmektedir. İskemi/Reperfüzyon (IR) grubunda tüm sitokin düzeylerinde belirgin artış izlenmiştir. En yüksek artış IL-6 düzeyinde gözlenmiş, bunu TNF- α ve IL-1 β izlemiştir. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında sitokin

düzeylerinde IR grubuna kıyasla azalma eğilimi görülmekle birlikte değerler bazal düzeylerin üzerinde seyretmiştir. Sham, Sirolimus ve Everolimus gruplarında sitokin düzeyleri birbirine yakın olup anlamlı bir artış gözlenmemiştir.

IR grubunda tüm inflamatuvar sitokin düzeylerinde belirgin artış gözlenmiş olup en yüksek artış IL-6 düzeyinde saptanmıştır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında sitokin düzeylerinde IR grubuna kıyasla azalma eğilimi izlenmiş, ancak değerler bazal seviyelere tamamen dönmemiştir. Bu durum, mTOR inhibitörlerinin inflamatuvar yanıtı baskılayıcı yönde etki gösterebileceğini ancak hasarın tamamen ortadan kalkmadığını düşündürmektedir.

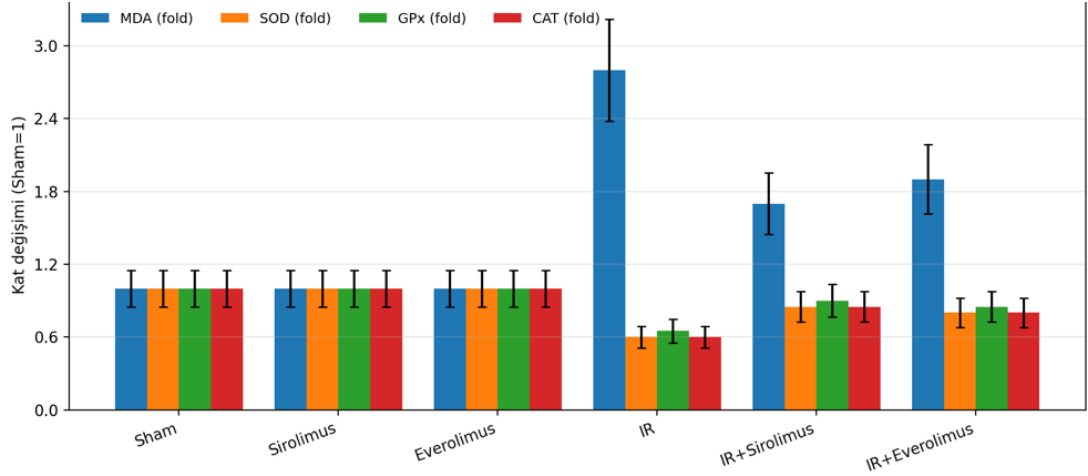
3.3. Oksidatif Stres Bulguları

İskemi-reperfüzyon sürecinde reaktif oksijen türlerinin artışı oksidatif stres gelişimine yol açmaktadır. Bu doğrultuda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeyi ile antioksidan savunma sistemini temsil eden SOD, GPx, CAT, total antioksidan kapasite (TAC/TAS) ve total oksidan kapasite (TOS) parametreleri değerlendirilmiştir. MDA, SOD, GPx1, CAT, TAC/TAS ve TOS düzeylerinin tamamının 2.4. bölümünde belirtilen ölçüm birimleri ve kit ölçüm aralıkları içinde kaldığı görülmüş; grup ortalamaları, standart sapma değerleri ve istatistiksel karşılaştırmalar “Çizelge 3.12’de” sunulmuştur.

Çizelge 3.12. Gruplara göre oksidatif stres parametreleri ve istatistiksel karşılaştırmalar

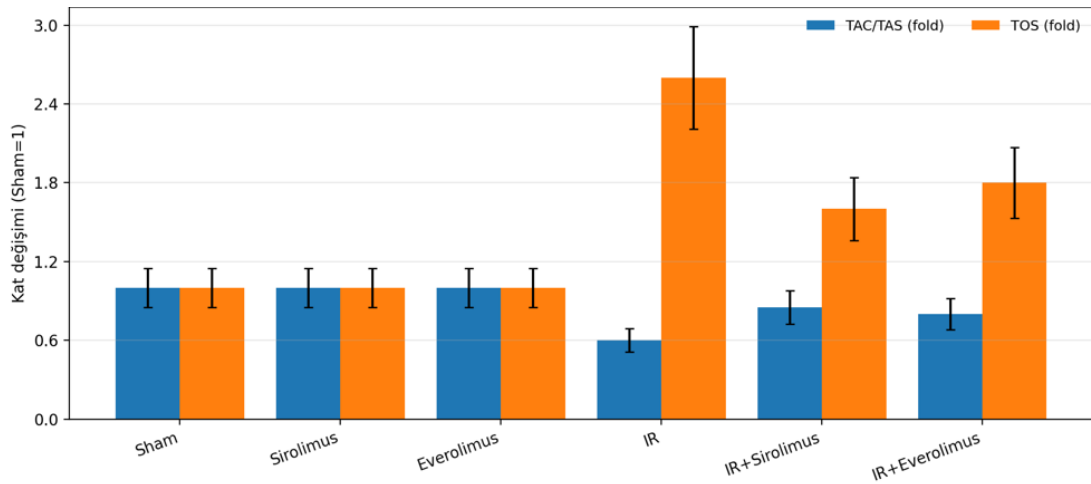
Parametre	Sham (n=6)	Sirolimus (n=6)	Everolimus (n=6)	IR (n=6)	IR+Sirolimus (n=6)	IR+Everolimus (n=6)	Genel p	Sham- IR p	IR- IR+Sirolimus p	IR- IR+Everolimus p	IR+Sirolimus- IR+Everolimus p
MDA (ng/mL)	249,50 ± 11,04	253,00 ± 10,20	252,60 ± 9,57	706,50 ± 18,45	587,50 ± 21,27	573,83 ± 18,60	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,655
SOD (ng/mL)	5,10 ± 0,84	5,00 ± 0,86	5,00 ± 0,88	3,10 ± 0,68	3,55 ± 0,57	3,60 ± 0,54	<0,001	<0,001	0,897	0,849	1,000
GPx1 (ng/mL)	40,40 ± 2,94	41,40 ± 2,54	39,70 ± 2,57	26,40 ± 1,61	29,50 ± 2,15	30,40 ± 1,82	<0,001	<0,001	0,219	0,056	0,984
CAT (ng/mL)	51,00 ± 2,77	50,80 ± 2,13	51,80 ± 2,43	29,90 ± 1,73	35,20 ± 2,76	35,73 ± 1,99	<0,001	<0,001	0,006	0,002	0,999
TAC/TAS (U/mL)	30,90 ± 2,03	30,50 ± 2,66	30,50 ± 2,82	18,10 ± 1,57	21,10 ± 1,52	21,60 ± 2,06	<0,001	<0,001	0,190	0,086	0,999
TOS (nmol/mL)	4,90 ± 0,87	5,10 ± 0,89	5,50 ± 1,10	13,30 ± 1,16	10,75 ± 1,38	10,50 ± 1,28	<0,001	<0,001	0,006	0,002	0,999

“Çizelge 3.12’de görüldüğü üzere”, MDA, SOD, GPx1, CAT, TAC/TAS ve TOS parametrelerinin tamamında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı genel fark saptanmıştır (tüm parametreler için $p<0,001$). IR grubunda sham grubuna kıyasla MDA ve TOS düzeylerinin belirgin biçimde arttığı, buna karşılık SOD, GPx1, CAT ve TAC/TAS düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür (tüm sham–IR karşılaştırmalarında $p<0,001$). Bu bulgular, bilateral renal iskemi-reperfüzyon modelinin belirgin oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında MDA, CAT ve TOS düzeyleri bakımından IR grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzelme izlenmiştir. MDA düzeyi her iki tedavi grubunda da IR grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (her iki karşılaştırmada $p<0,001$). Benzer şekilde CAT düzeyi IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında IR grubuna göre anlamlı biçimde daha yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0,006$ ve $p=0,002$). TOS düzeyi de her iki tedavi grubunda IR grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (sırasıyla $p=0,006$ ve $p=0,002$). Buna karşılık SOD, GPx1 ve TAC/TAS parametrelerinde tedavi gruplarında IR grubuna göre iyileşme yönünde bir eğilim izlenmekle birlikte bu farklar istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır (SOD için $p=0,897$ ve $p=0,849$; GPx1 için $p=0,219$ ve $p=0,056$; TAC/TAS için $p=0,190$ ve $p=0,086$). Sham grubu ile yalnız sirolimus veya yalnız everolimus uygulanan gruplar arasında oksidatif stres parametreleri bakımından anlamlı fark saptanmamıştır. Ayrıca IR+Sirolimus ve IR+Everolimus grupları arasında MDA, SOD, GPx1, CAT, TAC/TAS ve TOS düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. Bu bulgular, her iki mTOR inhibitörünün de iskemi-reperfüzyona bağlı oksidatif stres yanıtını kısmen düzelttiğini, ancak antioksidan savunma parametrelerinin tümünde tam ve eşit düzeyde bir restorasyon sağlamadığını düşündürmektedir.



Şekil 3.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzim Düzeylerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1)

“Şekil 3.2.’de” MDA düzeyi ile antioksidan enzimler (SOD, GPx ve CAT) Sham grubuna göre kat değişimi açısından karşılaştırılmıştır. IR grubunda lipid peroksidasyon göstergesi olan MDA düzeyinde belirgin artış gözlenirken, antioksidan enzim aktivitelerinde azalma izlenmiştir. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında MDA düzeylerinde IR grubuna göre düşüş, antioksidan enzim aktivitelerinde ise kısmi artış görülmüştür. Sham, Sirolimus ve Everolimus gruplarında oksidatif stres parametreleri bazal düzeylere yakın seyretmiştir.



Şekil 3.3. Total Antioksidan Kapasite (TAC/TAS) ve Total Oksidan Kapasite (TOS) Değerlerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1)

“Şekil 3.3.’te” total antioksidan kapasite (TAC/TAS) ve total oksidan kapasite (TOS) değerlerinin gruplar arası dağılımı sunulmuştur. IR grubunda total oksidan kapasitede artış, total antioksidan kapasitede ise azalma gözlenmiştir. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında TOS değerlerinde azalma ve TAC/TAS düzeylerinde artış eğilimi izlenmiş, ancak değerler tamamen bazal düzeye dönmemiştir. Kontrol ve yalnız ilaç gruplarında parametreler bazal seviyelerde seyretmiştir.

IR grubunda MDA ve TOS düzeylerinde artış, antioksidan enzim aktivitelerinde ve total antioksidan kapasitede azalma saptanmıştır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında oksidatif stres parametrelerinde kısmi düzelme izlenmiş, ancak değerler tam olarak bazal seviyelere ulaşmamıştır. Bu bulgular, mTOR inhibitörlerinin oksidatif hasarı sınırlayıcı etkisinin inflamatuvar yanıt ile paralel seyrettiğini göstermektedir.

3.4. Apoptozis Bulguları

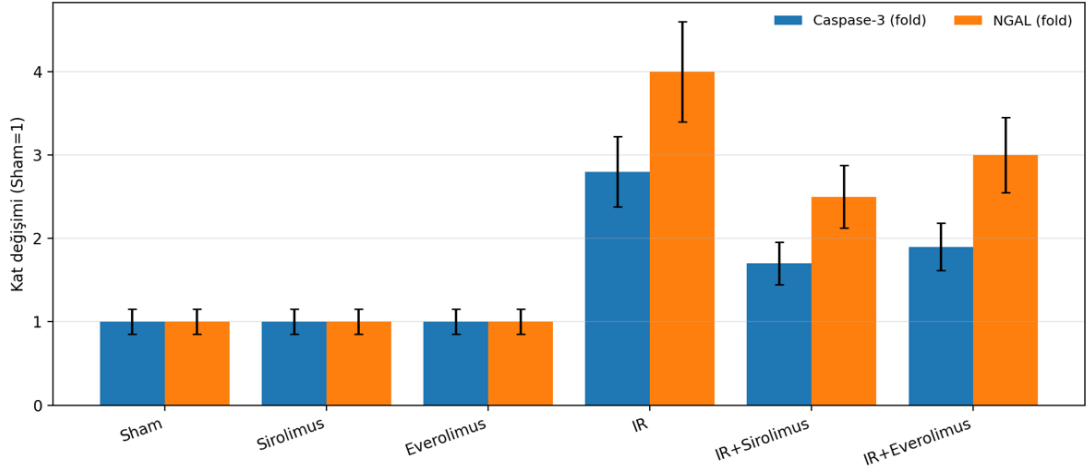
İskemi-reperfüzyon hasarının hücresel düzeydeki önemli sonuçlarından biri artmış apoptotik aktivitedir. Bu bağlamda apoptotik sürecin göstergesi olan Caspase-3 ile erken böbrek hasar belirteci NGAL düzeyleri değerlendirilmiştir. Her iki parametreye ait analizler, her grupta n=6 olacak şekilde laboratuvar protokol dosyasında yer alan gerçek ölçüm değerleri üzerinden yapılmıştır. Caspase-3 için kullanılan kitin ölçüm aralığı 0,156–10 ng/mL, NGAL için kullanılan kitin ölçüm aralığı ise 0,78–50 ng/mL olup, çalışmada elde edilen tüm değerlerin bu analitik aralıklar içinde kaldığı görülmüştür ve “Çizelge 3.13’te” sunulmuştur.

Çizelge 3.13. Gruplara göre Caspase-3 ve NGAL düzeyleri ile istatistiksel karşılaştırmalar

Parametre	Sham (n=6)	Sirolimus (n=6)	Everolimus (n=6)	IR (n=6)	IR+Sirolimus (n=6)	IR+Everolimus (n=6)	Genel p	Sham– IR p	IR– IR+Sirolimus p	IR– IR+Everolimus p	IR+Sirolimus– IR+Everolimus p
Caspase-3 (ng/mL)	2,50 ± 0,60	2,50 ± 0,53	2,50 ± 0,51	7,10 ± 0,93	5,88 ± 0,90	5,75 ± 0,69	<0,001	<0,001	0,061	0,030	1,000
NGAL (ng/mL)	10,10 ± 1,73	10,10 ± 1,73	10,00 ± 1,63	39,90 ± 3,18	33,20 ± 2,55	31,90 ± 2,82	<0,001	<0,001	0,0004	<0,001	0,928

“Çizelge 3.13’te görüldüğü üzere”, Caspase-3 ve NGAL düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı genel fark saptanmıştır (her iki parametre için $p<0,001$). IR grubunda hem Caspase-3 hem de NGAL düzeylerinin sham grubuna kıyasla belirgin biçimde arttığı görülmüştür (her iki karşılaştırma için $p<0,001$). Bu bulgular, bilateral renal iskemi-reperfüzyon modelinin hem apoptotik aktivasyonu hem de erken tübüler hasarı anlamlı düzeyde artırdığını göstermektedir. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında NGAL düzeylerinin IR grubuna göre anlamlı biçimde azaldığı saptanmıştır (sırasıyla $p=0,0004$ ve $p<0,001$). Caspase-3 açısından ise IR+Everolimus grubunda IR grubuna göre anlamlı azalma izlenirken ($p=0,030$), IR+Sirolimus grubundaki azalma istatistiksel anlamlılık sınırına yakın olmakla birlikte anlamlı bulunmamıştır ($p=0,061$). Buna karşın, sham grubu ile yalnız sirolimus veya yalnız everolimus uygulanan gruplar arasında Caspase-3 ve NGAL düzeyleri bakımından anlamlı fark saptanmamıştır (her iki parametre için $p=1,000$). Ayrıca IR+Sirolimus ile IR+Everolimus grupları arasında da her iki parametre açısından anlamlı fark izlenmemiştir (Caspase-3 için $p=1,000$; NGAL için $p=0,928$). Bu bulgular, her iki mTOR inhibitörünün de iskemi-reperfüzyona bağlı apoptotik ve tübüler hasar yanıtını azalttığını, ancak NGAL üzerindeki düzelmenin her iki tedavide daha belirgin, Caspase-3 üzerindeki etkinin ise everolimus lehine biraz daha güçlü görüldüğünü düşündürmektedir.

Parametreler Sham grubuna göre kat-değişim şeklinde analiz edilmiştir.



Şekil 3.4. Apoptozis (Caspase-3) ve Erken Böbrek Hasar Belirteci (NGAL) Düzeylerinin Gruplara Göre Kat-Değişimi (Sham=1)

“Şekil 3.4’te” Caspase-3 ve NGAL düzeylerinin gruplara göre kat değişimleri gösterilmektedir. IR grubunda hem apoptotik aktivitenin göstergesi olan Caspase-3 hem de erken böbrek hasar belirteci olan NGAL düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında her iki parametrede IR grubuna göre azalma eğilimi izlenmiş, ancak değerler bazal seviyelerin üzerinde kalmıştır. Kontrol ve yalnız ilaç uygulanan gruplarda anlamlı artış gözlenmemiştir.

IR grubunda Caspase-3 ve NGAL düzeylerinde belirgin artış saptanmıştır. mTOR inhibitörleri uygulanan gruplarda bu parametrelerde IR grubuna kıyasla azalma gözlenmiş, ancak değerler kontrol düzeylerine ulaşmamıştır. Bu sonuçlar, mTOR inhibitörlerinin apoptotik aktiviteyi ve erken böbrek hasarını kısmen azaltabileceğini göstermektedir.

3.5. Histopatolojik Bulgular

Histopatolojik değerlendirme, 2.4. bölümünde tanımlandığı üzere hematoksilin-eozin (H&E) ile boyanmış parafine gömülü böbrek kesitlerinde yarı kantitatif 0–4 hasar skorum sistemi kullanılarak yapılmıştır. Buna göre 0 = normal histolojik görünüm, 1 = minimal/hafif hasar (<%25), 2 = hafif-orta derecede hasar (%25–50), 3 = belirgin hasar (%50–75) ve 4 = yaygın/ağır hasar (>%75) olarak kabul edilmiştir.

Histopatolojik skorlar her grupta n=6 olacak şekilde değerlendirilmiş; değişkenin yarı kantitatif/ordinal niteliği nedeniyle gruplar arası genel karşılaştırmada Kruskal–Wallis testi, ikili karşılaştırmalarda ise Mann–Whitney U testi kullanılmış ve çoklu karşılaştırmalarda Holm–Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. Sonuçlar “Çizelge 3.14’te” sunulmuştur.

Çizelge 3.14. Gruplara göre histopatolojik hasar skorları ve istatistiksel karşılaştırmalar

Parametre	Sham (n=6)	Sirolimus (n=6)	Everolimus (n=6)	IR (n=6)	IR+Sirolimus (n=6)	IR+Everolimus (n=6)	Genel p	Sham–IR p	IR– IR+Sirolimus p	IR– IR+Everolimus p	IR+Sirolimus– IR+Everolimus p
HE Histopatoloji skoru (0–4)	0,50 ± 0,24	0,60 ± 0,37	0,60 ± 0,24	3,50 ± 0,66	2,00 ± 0,65	2,40 ± 0,57	<0,001	0,032	0,032	0,130	1,000

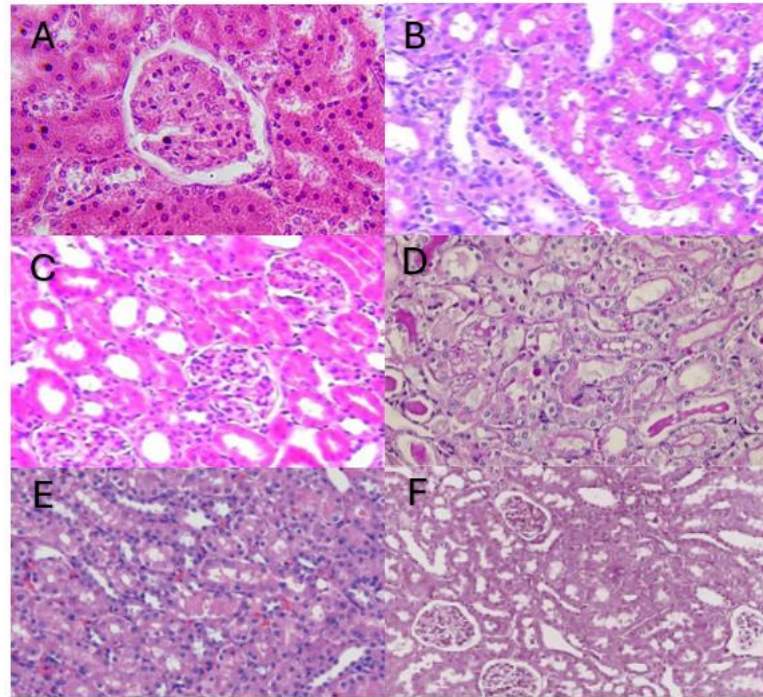
Grupların IQR (çeyrekler arası aralık) değerleri sırasıyla Sham için 0,50 (IQR:0,33–0,67), Sirolimus için 0,55 (IQR:0,43–0,75), Everolimus için 0,60 (IQR:0,43–0,78), IR için 3,50 (IQR:2,98–4,03), IR+Sirolimus için 2,10 (IQR:1,53–2,53) ve IR+Everolimus için 2,50 (IQR:2,00–2,78) olarak hesaplanmıştır.

“Çizelge 3.14’te görüldüğü üzere”, histopatolojik hasar skorları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı genel fark saptanmıştır ($p<0,001$). En yüksek histopatolojik hasar skoru IR grubunda gözlenmiş olup bu grubun skorları sham grubuna göre anlamlı derecede daha yüksektir ($p=0,032$). Ortalama $3,50\pm0,66$ puanlık skor, kullanılan 0–4 skora sistemine göre böbrek dokusunda belirgin–yaygın düzeyde tübüler ve interstisyel hasara karşılık gelmektedir. Buna karşılık sham, yalnız sirolimus ve yalnız everolimus gruplarında skorların 0,50–0,60 aralığında kalması, histolojik mimarinin büyük ölçüde korunduğunu ve iskemi-reperfüzyon uygulanmayan koşullarda her iki ilacın da tek başına anlamlı yapısal hasar oluşturmadığını düşündürmektedir.

IR+Sirolimus grubunda histopatolojik skorların IR grubuna göre anlamlı biçimde daha düşük bulunması ($2,00\pm0,65$; $p=0,032$), sirolimus tedavisinin iskemi-reperfüzyona bağlı morfolojik böbrek hasarını azaltıcı yönde etkili olduğunu düşündürmektedir.

IR+Everolimus grubunda da skorlar IR grubuna göre daha düşük izlenmiş olmakla birlikte ($2,40 \pm 0,57$), bu fark çoklu karşılaştırma düzeltilmesi sonrasında istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p=0,130$). Tedavi gruplarının kendi aralarında karşılaştırılmasında IR+Sirolimus ile IR+Everolimus arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1,000$); bununla birlikte numerik olarak daha düşük skorların sirolimus grubunda görülmesi, histomorfolojik korunmanın sirolimus lehine bir miktar daha belirgin olabileceğini, ancak mevcut örneklem büyüklüğünde bunun istatistiksel olarak gösterilemediğini düşündürmektedir.

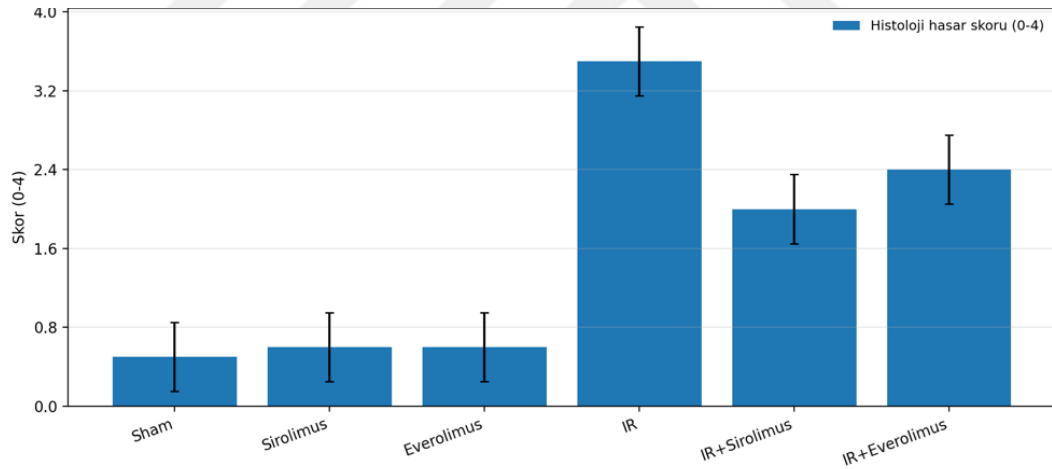
Tedavi uygulanan iskemi-reperfüzyon gruplarının skorları sham grubuna göre hâlâ yüksek seyretmektedir; bu durum, her iki mTOR inhibitörünün de doku hasarını tamamen ortadan kaldırmadığını, ancak orta derecede düzeye doğru kısmi bir iyileşme sağladığını göstermektedir. Dolayısıyla histopatolojik düzeyde elde edilen sonuçlar, renal iskemi-reperfüzyon hasarının multifaktöriyel doğası ile uyumlu biçimde, farmakolojik müdahalenin koruyucu ancak tam restoratif olmayan bir etki oluşturduğunu düşündürmektedir.



Şekil 3.5. Deney gruplarına ait böbrek dokusunun histopatolojik görünümü (H&E boyama, $\times 400$).

(A) Sham grubunda renal kortekste glomerüler ve tübüler yapının korunduğu izlenmektedir. (B) Everolimus grubunda böbrek histolojisinin korunmuş olduğu görülmektedir. (C) Sirolimus grubunda renal mimarinin genel olarak korunduğu dikkati çekmektedir. (D) İskemi-reperfüzyon (IRI) grubunda belirgin tübüler epitel hasarı, tübüler dilatasyon ve doku mimarisinde bozulma izlenmektedir. (E) IRI + Everolimus grubunda, IRI grubuna göre histopatolojik hasarın daha sınırlı olduğu görülmektedir. (F) IRI + Sirolimus grubunda ise tübüler hasarın azaldığı ve renal yapının kısmen korunduğu izlenmektedir.

“Şekil 3.5’te” yer alan mikrograflar, bu çalışmada değerlendirilen böbrek doku örneklerine ait olup, sham, iskemi-reperfüzyon ve tedavi gruplarında gözlenen histopatolojik paternlerin morfolojik karşılıklarını ortaya koymaktadır. Bu çerçevede IR grubunda (D) beklenen baskın patern; tübüler dejenerasyon, epitel deskuamasyonu, intratübüler debris/cast oluşumu ve interstisyel inflamatuvar infiltrasyon iken, sirolimus ve everolimus uygulanan gruplarda (E, F) bu lezyonların daha sınırlı ve fokal dağılım gösterdiği, kortikal mimarinin kısmen korunduğu bir görünüm beklenmektedir. Skorlama sonuçlarının 3,50 düzeyinden 2,00–2,40 düzeyine gerilemesi de bu morfolojik iyileşmenin nicel karşılığı olarak yorumlanabilir.



Şekil 3.6. Gruplara Göre Histopatolojik Hasar Skoru (0–4)

“Şekil 3.6” histopatolojik hasar skorlarının gruplara göre dağılımını görsel olarak özetlemektedir. Grafik, IR grubunda belirgin yükselişi; sirolimus ve everolimus tedavi gruplarında ise bu artışın kısmen gerilediğini açık biçimde göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıcak renal iskemi-reperfüzyon modelinde mTOR inhibitörleri olan sirolimus ve everolimusun böbrek hasarı üzerindeki etkileri fonksiyonel, inflamatuvar, oksidatif, apoptotik ve histopatolojik parametreler üzerinden çok boyutlu olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, bilateral sıcak iskemi-reperfüzyon modelinin böbrekte belirgin bir akut hasar tablosu oluşturduğunu; sirolimus ve everolimusun ise bu hasarı tamamen ortadan kaldırmaksızın, inflamasyon–oksidatif stres–apoptozis ekseninde kısmi fakat biyolojik açıdan anlamlı bir modülasyon sağladığını göstermektedir. Bu yönüyle çalışma, mTOR yolak inhibisyonunun yalnız immünsupresif bir yaklaşım olarak değil, aynı zamanda organ koruyucu potansiyeli bulunan farmakolojik bir conditioning stratejisi olarak da değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmanın fonksiyonel bulguları, deneysel modelin başarıyla kurulduğunu açık biçimde ortaya koymaktadır. IR grubunda üre düzeyinin bazalde $16,95 \pm 1,56$ mg/dL iken iskemi sonrası 90. dakikada $46,40 \pm 6,44$ mg/dL'ye yükselmesi ve reperfüzyon sonrası 120. dakikada $36,92 \pm 4,30$ mg/dL'ye gerilemesine rağmen bazal düzeye dönmemesi; kreatininin ise $0,36 \pm 0,11$ mg/dL'den $3,17 \pm 0,93$ mg/dL'ye yükselip daha sonra $2,61 \pm 0,82$ mg/dL düzeyinde kalması, sıcak iskemi sonrası gelişen akut fonksiyonel bozulmanın reperfüzyon ile tam düzelmediğini göstermektedir. Bu patern, deneysel renal iskemi-reperfüzyon modellerinde tarif edilen erken tübüler hasar ve fonksiyon kaybı çerçevesi ile uyumludur. İskemik fazda oksijen sunumunun kesilmesiyle ATP tükenmesi, iyon pompalarının işlev kaybı, hücrel şişme ve sitozolik kalsiyum birikimi gelişmekte; reperfüzyonla birlikte ise oksidatif yük, inflamatuvar aktivasyon ve mikrodolaşım bozukluğu eklenerek hasar derinleşmektedir (Eltzschig ve Eckle, 2011; Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020; Chouchani vd., 2016). Çalışmada IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında reperfüzyon sonrası üre ve kreatinin değerlerinin IR grubuna göre daha düşük seyretmesi, her iki ajanın akut fonksiyonel kaybı azaltıcı yönde etkili olabildiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte tam normalizasyon sağlanmamış olması, etkinin koruyucu fakat sınırlı düzeyde olduğunu göstermektedir.

Bu bulgu transplantasyon biyolojisi açısından ayrıca önem taşımaktadır. Organ kalitesi günümüzde yalnız donörün demografik ve klinik özellikleriyle değil, organın maruz kaldığı sıcak ve soğuk iskemi yükünün toplam biyolojik etkisiyle tanımlanmaktadır. Özellikle marjinal greftlerde ve DCD/ECD benzeri daha yüksek riskli senaryolarda sıcak iskemi, erken greft fonksiyonunu belirleyen temel patofizyolojik yüklerden biridir (Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020; Thuong vd., 2016). Bu nedenle çalışmadaki sıcak iskemi modeli, klinik transplantasyondaki “organ kalitesi–IRI yükü–erken fonksiyon” üçgeninin deneysel bir yansıması olarak yorumlanabilir. mTOR inhibitörleri ile gözlenen kısmi iyileşme, bu açıdan marjinal organ kullanımını artırmaya yönelik farmakolojik destek stratejileri bakımından translasyonel değer taşımaktadır.

İnflamatuvar bulgular, renal IRI’nin steril inflamasyon doğasını doğrulamaktadır. IR grubunda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde sham grubuna göre belirgin artış saptanmıştır. Özellikle TNF- α düzeyindeki yükseliş, iskemi sırasında başlayan metabolik ve mitokondriyal stresin reperfüzyonla birlikte DAMP salınımı, TLR aracılı sinyalizasyon ve NF- κ B/MAPK eksenini üzerinden proinflamatuvar bir yanıtı tetiklediğini düşündürmektedir (Wu vd., 2010; Krüger vd., 2009; Pefanis vd., 2019; Li vd., 2024). Genel bilgiler bölümünde de vurgulandığı üzere, reperfüzyonla aktive olan doğuştan immün yanıt yalnız biyokimyasal bir değişim değil; aynı zamanda tübüler hasarı derinleştiren ve mikrovasküler disfonksiyonu sürdüren aktif bir hasar ağı oluşturmaktadır. IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin IR grubuna göre anlamlı ölçüde azalması, mTOR baskılanmasının inflamatuvar amplifikasyonu zayıflatabildiğini göstermektedir. Bununla birlikte sitokin düzeylerinin sham grubundaki değerlere dönmemesi, inflamasyonun tek başına mTOR üzerinden yürüyen doğrusal bir süreç olmadığını; oksidatif yük, hücrel stres ve doku yıkımı ile karşılıklı olarak beslenen daha karmaşık bir ağ olduğunu düşündürmektedir.

Oksidatif stres bulguları da bu görüşü desteklemektedir. Çalışmada IR grubunda MDA ve TOS düzeylerinde belirgin artış; buna karşılık SOD, GPx1, CAT ve TAC/TAS düzeylerinde azalma saptanmıştır. Bu tablo, reperfüzyon sonrası gelişen aşırı oksidan

yük ile antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalmasını yansıtan klasik IRI paternidir. Reperfüzyonla birlikte oksijenin yeniden sağlanması, iskemi sırasında birikmiş metabolitlerin hızla oksidasyonuna ve elektron kaçağına bağlı olarak reaktif oksijen türlerinde artışa yol açmakta; lipid peroksidasyonu, protein ve DNA hasarı ile mitokondriyal geçirgenlik bozukluğu üzerinden hücresel hasarı derinleştirmektedir (Bernardi ve Di Lisa, 2015; Chouchani vd., 2016; Eltzschig ve Eckle, 2011). Sirolimus ve everolimus uygulanan gruplarda MDA ve TOS düzeylerinde azalma, CAT düzeylerinde ise anlamlı iyileşme saptanması, bu ajanların yalnız inflamasyonu değil, oksidatif hasarın biyokimyasal çıktısını da kısmen baskılayabildiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte SOD, GPx1 ve TAC/TAS gibi antioksidan savunmanın tüm bileşenlerinde tam restorasyon sağlanamamış olması, mTOR inhibisyonunun özellikle “oksidan üretimini azaltma” yönünde daha belirgin; “antioksidan kapasiteyi bütünüyle yeniden kurma” yönünde ise daha sınırlı bir etkisi olabileceğine işaret etmektedir.

Apoptozis ve erken tübüler hasar belirteçleri de bu çok katmanlı biyolojik modeli desteklemektedir. IR grubunda Caspase-3 düzeyinin belirgin biçimde yükselmesi, iskemi-reperfüzyonun hücre ölüm programlarını aktive ettiğini göstermektedir. Benzer şekilde NGAL düzeyindeki artış, böbrekte gelişen hasarın glomerüler filtrasyon bozukluğunun ötesinde, erken dönemde tübüler epitel düzeyinde oluştuğunu desteklemektedir. NGAL, akut böbrek hasarında erken tübüler zedelenmenin duyarlı biyobelirteçlerinden biri olarak kabul edilmekte ve klasik fonksiyon göstergeleri olan üre-kreatinine göre daha erken biyolojik sinyal verebilmektedir (Barbosa vd., 2023). IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında Caspase-3 ve NGAL düzeylerinin azalması, mTOR inhibitörlerinin apoptotik aktivasyon ve tübüler stres yanıtı üzerinde kısmi koruyucu etki gösterebildiğini düşündürmektedir. Özellikle everolimus grubunda Caspase-3 açısından daha belirgin bir düzelme izlenmiş olması, bu ajanın bazı parametrelerde apoptotik yollar üzerinde daha görünür bir etki oluşturabileceğini düşündürse de, iki ilaç arasında genel bir üstünlükten söz etmek mümkün değildir.

“Şekil 3.6” ve “Çizelge 3.14” birlikte değerlendirildiğinde, sham ile yalnız ilaç verilen grupların minimal hasar bandında kümелendiğı, IR grubunun ise belirgin/ağır hasar bandına kaydığı görülmektedir. Bu bulgu, IR grubunda histopatolojik skorun $3,50 \pm 0,66$ düzeyine yükselmesiyle uyumlu olup; IR+Sirolimus ($2,00 \pm 0,65$) ve IR+Everolimus ($2,40 \pm 0,57$) gruplarında skorların orta düzeye gerilemesi, biyokimyasal ve moleküler parametrelerde saptanan kısmi iyileşmenin histomorfolojik düzeyde de karşılık bulduğunu göstermektedir. Ancak özellikle everolimus grubunda IR’ye göre azalma izlenmesine rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşılabilmesi, histolojik düzelmenin daha heterojen olabileceğini ve örneklem büyüklüğünün bu farkı saptamada sınırlayıcı rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Histopatolojik bulgular, inflamatuvar sitokinlerdeki artış, oksidatif stres belirteçlerindeki bozulma ve Caspase-3/NGAL düzeylerindeki yükselişle birlikte yorumlandığında, bilateral sıcak iskemi-reperfüzyon modelinin böbrek dokusunda fonksiyonel bozulmanın ötesine geçen çok katmanlı bir hasar oluşturduğunu ortaya koymaktadır. Tübüler nekroz, epitel dejenerasyonu ve interstisyel inflamasyonun baskın olması; bu hasarın özellikle tübülo-interstisyel kompartımda yoğunlaştığını düşündürmektedir. Bu görünüm, böbrek IRI’sinde proksimal tübül epiteli ile peritübüler mikrovasküler endotelin birlikte etkilendiğı “tübülo-endotelyal” yaralanma modeli ve mikrodolaşım düzeyinde ‘no-reflow’ fenomeni ile uyumludur (Lasorsa vd., 2024; Maksimenko ve Turashev, 2012; Nieuwenhuijs-Moeke vd., 2020).

Genel olarak değerlendirildiğinde, bu çalışmada elde edilen histopatolojik bulgular, sirolimusun renal iskemi-reperfüzyon hasarına bağılı gelişen morfolojik böbrek hasarını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığını, everolimusun ise benzer doğrultuda bir iyileşme eğilimi oluşturmakla birlikte bu etkinin histopatolojik skorlar açısından daha sınırlı düzeyde kaldığını göstermektedir. Özellikle sirolimus grubunda saptanan skor azalması, tübüler epitel bütünlüğünün görece korunması, hücresel şişme, vakuolizasyon, deskuamasyon ve intratübüler cast oluşumu gibi hasar parametrelerinde daha hafif morfolojik değişikliklerin izlendiğine işaret etmektedir. Everolimus grubunda da hasarın şiddetinde azalma yönünde bir eğilim gözlenmekle birlikte, bu etkinin sirolimusa kıyasla daha düşük düzeyde yansması, iki ajan arasında

renal doku üzerindeki histomorfolojik koruyuculuk bakımından kantitatif farklılıklar bulunabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte, her iki tedavi grubunda da histopatolojik skorların sham grubundaki değerlere tam olarak ulaşmaması, mTOR inhibitörlerinin renal iskemi-reperfüzyon hasarında tam bir yapısal korunma sağlamadığını ve gelişen doku hasarını bütünüyle geri çeviremediğini ortaya koymaktadır. Bu bulgu, iskemi-reperfüzyon hasarının yalnızca tek bir sinyal yolunun baskılanmasıyla açıklanamayacak ölçüde kompleks, çok basamaklı ve çok faktörlü bir süreç olduğu gerçeğiyle uyumludur. Nitekim bu süreçte mikrosirkülatuar bozulma, oksidatif stres artışı, inflamatuvar hücre aktivasyonu, mitokondriyal disfonksiyon, tübüler hücre hasarı ve apoptozis birbirini besleyen patofizyolojik halkalar şeklinde ilerlemektedir. Bu nedenle mTOR yolunun inhibisyonu, söz konusu hasar mekanizmalarının tümünü tamamen ortadan kaldırmaktan çok, bunların şiddetini azaltan ve doku yanıtını modüle eden kısmi bir koruyucu etki olarak değerlendirilmektedir.

Bu çerçevede histopatolojik veriler, sirolimusun daha belirgin olmak üzere her iki mTOR inhibitörünün de renal iskemi-reperfüzyon hasarında mutlak bir doku koruması sağlamadığını, ancak hasarın morfolojik şiddetini azaltarak anlamlı bir histolojik modülasyon oluşturabildiğini düşündürmektedir. Ayrıca bu bulguların, çalışmada inflamasyon, oksidatif stres ve apoptozis eksenlerinde gözlenen biyokimyasal ve moleküler iyileşme eğilimleriyle birlikte değerlendirilmesi, mTOR inhibitörlerinin böbrek dokusunda yapısal ve işlevsel düzeyde parsiyel fakat biyolojik açıdan anlamlı bir koruyucu potansiyel taşıdığına işaret etmektedir. Sonuç olarak, histopatolojik değerlendirme sirolimusun renal iskemi-reperfüzyon hasarında daha güçlü bir doku koruyucu profil sergilediğini, everolimusun ise aynı yönde ancak daha sınırlı bir etki oluşturduğunu ortaya koymakta; bu durum mTOR inhibitörlerinin böbrek hasarını tamamen önleyen ajanlar olmaktan ziyade, hasarın şiddetini azaltan yardımcı modülatör tedavi seçenekleri olarak ele alınmasının daha uygun olacağını düşündürmektedir.

Çalışmanın bu çok katmanlı bulgu paterni, mTOR'un metabolik stres–otofaji–inflamasyon ekseninde oynadığı merkezi rol ile açıklanabilir. mTOR yolu, hücrel büyüme, protein sentezi, enerji metabolizması ve otofajinin koordinasyonunda temel bir sinyal düğümüdür (Laplane ve Sabatini, 2012; Saxton ve Sabatini, 2017). Enerji stresi altında AMPK aktivasyonu ile mTORC1 baskılanması arasındaki karşıt ilişki, hücreyi anabolik süreçlerden uzaklaştırıp daha koruyucu katabolik programlara yönlendirebilmektedir. Otofajik akının mTOR üzerinden düzenlenmesi, hasarlı organellerin uzaklaştırılması ve mitokondriyal kalite kontrolün sürdürülmesi açısından özel önem taşımaktadır; bu mekanizma, reperfüzyonla artan oksidatif yükün sınırlandırılmasına katkı sağlayabilmektedir (Zhu vd., 2015; Saxton ve Sabatini, 2017). Ayrıca mTOR'un immün hücre aktivasyonu ve inflamatuvar sitokin yanıtları üzerindeki düzenleyici etkileri, IRI sonrası gelişen doku inflamasyonunun şiddetini belirleyebilecek parametreler arasında yer almaktadır (Zhai vd., 2013; Saxton ve Sabatini, 2017). Bu bağlamda sirolimus ve everolimus ile inflamasyon, oksidatif stres, Caspase-3 ve NGAL üzerinde saptanan eşzamanlı iyileşme, mTOR ekseninin bu çoklu biyolojik ağ üzerinde modülatör rol oynadığını düşündürmektedir.

Ancak mTOR yolunun renal IRI'deki rolünün doğrusal ve tek yönlü olmadığı da göz önünde bulundurulmalıdır. mTOR baskılanması bazı koşullarda koruyucu bir preconditioning etkisi oluşturabilirken, bazı bağlamlarda hücrel proliferasyon ve onarım fazını geciktirebilir. Literatürde rapamisin doku iyileşmesini geciktirebileceği ve hücrel onarım sürecini olumsuz etkileyebileceği bildirilmiştir (Lieberthal vd., 2001). Bu nedenle çalışmada gözlenen “kısmi koruma” paterni, mTOR inhibisyonunun etkili fakat tek başına yeterli olmayan bir müdahale olduğunu düşündürmektedir. Özellikle reperfüzyonun yalnızca 120 dakikalık erken fazının değerlendirilmiş olması, geç dönem rejeneratif süreçler ile fibrozis/remodeling boyutunun çalışmaya yansımamasına neden olmuştur. Histopatolojik skorların ve antioksidan parametrelerin tam düzelmemesi de bu biyolojik gerçeği desteklemektedir.

Sirolimus ve everolimusun karşılaştırmalı değerlendirilmesi, çalışmanın önemli yönlerinden biridir. Bulgular genel olarak her iki ilacın benzer biyolojik doğrultuda

etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Everolimus grubunda üre, kreatinin, NGAL ve Caspase-3 gibi bazı parametrelerde sayısal olarak daha iyi sonuçlar gözlenirken; sirolimus grubunda histopatolojik skor açısından daha belirgin bir düzelme izlenmiştir. Bununla birlikte bu farklılıkların çoğu istatistiksel üstünlüğe dönüşmemiştir. Bu durum, iki ajanın aynı sınıf içinde yer almakla birlikte moleküler yapı, farmakokinetik profil ve doku düzeyindeki etkiler bakımından tam olarak özdeş olmadığını düşündürmektedir (Klawitter vd., 2015; Kaplan vd., 2014). Sirolimus ve everolimusun bazı parametrelerde farklı biyolojik eğilimler göstermesi, sınıf etkisi ile molekül-özellik etkinin ayrıştırılması bakımından dikkat çekicidir; ancak mevcut örneklem büyüklüğü ile bu farkların kesin biçimde yorumlanması mümkün görünmemektedir.

Çalışmanın translasyonel açıdan önemli bir diğer yönü, ilaçların iskemi indüksiyonundan önce verilmiş olmasıdır. Bu nedenle elde edilen bulgular esas olarak bir farmakolojik preconditioning modeli içinde yorumlanmalıdır. Preconditioning, iskemi başlamadan önce hücrenin enerji krizi, oksidatif stres ve inflamatuvar dalgaya karşı hazırlanması olarak tanımlanırken; postconditioning reperfüzyonun erken döneminde gelişen zararlı sinyal şelalelerini baskılamayı hedeflemektedir (Khan vd., 2006). Bizim modelimizde sirolimus ve everolimusun iskemi öncesi uygulanmış olması, mTOR inhibitörlerinin özellikle canlı verici veya planlı DCD benzeri öngörülebilir iskemi senaryolarında farmakolojik bir koruma yaklaşımı olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte klinik uygulamada mTOR inhibitörlerinin erken postoperatif dönemde doku rejenerasyonu ve yara iyileşmesi üzerindeki olası olumsuz etkileri nedeniyle zamanlama, doz ve hasta seçiminin dikkatle optimize edilmesi gerekecektir (Nashan ve Citterio, 2012; Pascual vd., 2018).

IRI'nin transplant çıktılıyla ilişkisi dikkate alındığında, çalışmamızın translasyonel önemi daha da artmaktadır. IRI şiddeti böbrekte DGF ve PNF gibi erken uç noktalara, uzun vadede ise kronik greft disfonksiyonu ve düşük eGFR ile ilişkili sonuçlara yansımaktadır (Perico vd., 2004; Li vd., 2023; Ahlmark vd., 2024). Erken dönemde hasarın azaltılması yalnız akut fonksiyon kaybını sınırlamakla kalmayıp, alloimmün yanıtın amplifikasyonunu azaltarak greft immünojenisitesi üzerinde dolaylı olumlu

etkiler de oluşturabilir (Braza vd., 2016; Zhai vd., 2013). Bu nedenle çalışmada mTOR inhibitörleri ile saptanan inflamasyon, oksidatif stres, NGAL, Caspase-3 ve histopatolojik skor düzeyindeki kısmi iyileşme; yalnız erken biyokimyasal düzelme olarak değil, greft kalitesinin korunmasına yönelik çok eksenli bir biyolojik modülasyon olarak yorumlanmalıdır. Güncel koruma stratejilerinin statik soğuk saklama ile sınırlı kalmayıp makine perfüzyonu, oksijenasyon, reperfüzyon optimizasyonu ve organ-üzerinde tedavi yaklaşımları ile birlikte geliştiği düşünüldüğünde, mTOR inhibitörleri bu bütüncül koruma paradigması içinde tamamlayıcı ajanlar olarak değerlendirilebilir (Nasralla vd., 2018; van Rijn vd., 2021; Xu vd., 2020; Niroomand vd., 2024).

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. İlk olarak reperfüzyon süresinin 120 dakika ile sınırlı tutulmuş olması, erken hasarı göstermede güçlü olmakla birlikte geç dönem tübüler rejenerasyon, fibrozis ve fonksiyonel kalıcılık hakkında yorum yapmayı kısıtlamaktadır. İkinci olarak örneklem büyüklüğünün sınırlı olması, sirolimus ve everolimus arasındaki küçük farkların istatistiksel olarak ortaya konmasını güçleştirmiş olabilir. Üçüncü olarak mTOR yolunun doğrudan aktivasyon durumunu gösterecek fosfo-mTOR, p70S6K, 4E-BP1, AMPK, ULK1 veya LC3/p62 gibi yolak belirteçleri çalışılmamıştır; bu nedenle mekanistik yorumlar dolaylı biyolojik göstergeler üzerinden yapılmaktadır. Dördüncü olarak necroptosis, ferroptosis ve pyroptosis gibi regüle hücre ölümü yollarına ait özgül belirteçler değerlendirilmemiştir. Oysa güncel literatür, böbrek IRI'de bu yolların özellikle necroinflammation döngüsünün sürdürülmesinde önemli rol oynadığını göstermektedir (Belavgeni vd., 2020; Li vd., 2024). Bu nedenle gelecekteki çalışmaların daha uzun reperfüzyon süreleri, farklı uygulama zamanlamaları, daha geniş örneklem büyüklükleri ve daha rafine yolak belirteçleri ile desteklenmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma, sıcak renal iskemi-reperfüzyon modelinde sirolimus ve everolimusun böbrek dokusunda gelişen hasarı çoklu biyolojik düzlemlerde kısmen azaltabildiğini göstermektedir. Fonksiyonel bozulma, inflamatuvar sitokin artışı, oksidatif stres yükü, apoptotik aktivasyon, NGAL yükselişi ve histopatolojik hasar;

mTOR inhibitörleri ile aynı yönde ve tutarlı biçimde hafiflemiştir. Bununla birlikte hiçbir parametrede tam bazal normalizasyon sağlanmamış olması, mTOR inhibisyonunun tek başına yeterli olmayan fakat anlamlı bir destek stratejisi olduğunu göstermektedir. Bulgular, mTOR ekseninin akut böbrek hasarında önemli fakat karmaşık bir düzenleyici rol oynadığını; sıcak iskemî yükü yüksek greftlerde ise özellikle kombine koruma stratejileri içinde değerlendirilmesi gereken umut verici bir farmakolojik hedef olduğunu ortaya koymaktadır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada sıcak renal iskemi-reperfüzyon modelinde mTOR inhibitörleri olan sirolimus ve everolimusun organ hasarı üzerindeki etkileri biyokimyasal, inflamatuvar, oksidatif stres, apoptotik ve histopatolojik parametreler üzerinden değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular deneysel modelin patofizyolojik olarak başarılı biçimde oluşturulduğunu ve iskemi-reperfüzyon sürecinin renal hasara yol açtığını göstermiştir.

Ölçüm zamanına göre yapılan analizlerde iskemi sonrası 90. dakikada üre ve kreatinin düzeylerinde belirgin artış saptanmış, reperfüzyon sonrası 120. dakikada kısmi bir gerileme gözlenmiş ancak değerler bazal düzeylere dönmemiştir. Bu bulgu, modelin beklenen akut böbrek hasarı paternini oluşturduğunu göstermektedir.

Birincil hipotez kapsamında değerlendirildiğinde, sıcak iskemi öncesi uygulanan mTOR inhibitörlerinin reperfüzyon sonrası organ hasar belirteçlerinde azalma sağladığı görülmüştür. IR grubuna kıyasla IR+Sirolimus ve IR+Everolimus gruplarında üre ve kreatinin düzeylerinde oransal düşüş, NGAL düzeylerinde azalma ve histopatolojik hasar skorlarında iyileşme saptanmıştır. Ancak bu parametrelerin tamamında değerler bazal düzeye ulaşmamıştır. Bu nedenle birincil hipotez kısmen kabul edilmiştir; mTOR inhibitörleri tam koruma sağlamamakla birlikte hasar şiddetini azaltıcı etki göstermiştir.

İkincil hipotez 1 kapsamında inflamatuvar yanıt değerlendirilmiştir. IR grubunda TNF- α , IL-1 β ve IL-6 düzeylerinde belirgin artış gözlenmiş; her iki mTOR inhibitörü uygulanan grupta bu sitokin düzeylerinde azalma eğilimi saptanmıştır. Ancak değerler kontrol seviyelerine tam olarak dönmemiştir. Bu doğrultuda sitokin yanıtının mTOR inhibitörleri ile baskılandığı görülmüş ve ikinci hipotez desteklenmiştir.

İkincil hipotez 2 çerçevesinde oksidatif stres parametreleri incelendiğinde IR grubunda MDA düzeyinin arttığı, antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD, GPx, CAT) azaldığı, TOS değerinin yükseldiği ve TAC/TAS düzeyinin düştüğü belirlenmiştir. mTOR

inhibitörü uygulanan gruplarda lipid peroksidasyon göstergelerinde azalma ve antioksidan savunma sisteminde kısmi iyileşme gözlenmiştir. Bu bulgular oksidan–antioksidan dengenin tedavi ile kısmen düzeldiğini göstermektedir. Bu nedenle ikinci hipotez büyük ölçüde kabul edilmiştir.

İkincil hipotez 3 kapsamında apoptotik aktivite ve histopatolojik değişiklikler değerlendirilmiştir. IR grubunda Caspase-3 düzeylerinde artış ve histopatolojik hasar skorlarında belirgin yükselme saptanmıştır. mTOR inhibitörleri uygulanan gruplarda apoptotik belirteçlerde ve histolojik hasar skorlarında azalma gözlenmiştir. Bu sonuçlar apoptotik yolak aktivasyonunun kısmen baskılandığını göstermekte olup ilgili hipotez kabul edilmiştir.

Karşılaştırmalı hipotez açısından sirolimus ve everolimus grupları arasında renal fonksiyon parametreleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sitokin, oksidatif stres ve apoptotik parametreler incelendiğinde de iki ilaç arasında belirgin bir üstünlük gösterilememiştir. Bu nedenle “iki mTOR inhibitörünün farklı büyüklükte etki oluşturacağı” yönündeki karşılaştırmalı hipotez reddedilmiştir. Bulgular, her iki ajanın benzer biyolojik profil sergilediğini düşündürmektedir.

mTOR inhibitörlerinin sıcak iskemi modelinde inflamasyon, oksidatif stres ve apoptotik aktivite üzerinden organ hasarını azaltıcı yönde etki gösterdiği; ancak tam doku korunması sağlamadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Bu çalışma, mTOR yolak inhibisyonunun yalnızca immünomodülatör değil, aynı zamanda inflamasyon–oksidatif stres–apoptozis ekseninde organ hasarını modüle edebileceğini göstermektedir. Elde edilen bulgular, mTOR inhibitörlerinin renal iskemi-reperfüzyon hasarında çoklu mekanizma üzerinden etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışma ayrıca, organ hasarının tek bir biyobelirteç üzerinden değil; biyokimyasal, immünolojik ve histopatolojik bütüncül değerlendirme ile ele alınması gerektiğini desteklemektedir.

Öneriler

- mTOR inhibitörlerinin uzun dönem böbrek fonksiyonu üzerindeki etkilerini değerlendiren takip çalışmaları yapılmalıdır.
- mTOR sinyal yolunun moleküler aktivasyon düzeyi doğrudan incelenmelidir.
- Farklı doz ve uygulama zamanlamalarının karşılaştırıldığı deneysel tasarımlar planlanmalıdır.
- Klinik translasyon potansiyelini değerlendirmek amacıyla farklı organ iskemi modellerinde benzer analizler gerçekleştirilmelidir.
- mTOR inhibitörlerinin diğer antioksidan veya antiinflamatuvar ajanlarla kombinasyon etkileri araştırılmalıdır.

Sıcak iskemi-reperfüzyon modelinde mTOR inhibitörleri, inflamatuvar yanıtı baskılayan, oksidatif stres yükünü azaltan, apoptotik aktiviteyi sınırlayan ve histopatolojik hasarı kısmen iyileştiren bir biyolojik profil sergilemiştir. Bununla birlikte tam doku korunması sağlanamamış ve sirolimus ile everolimus arasında belirgin bir üstünlük gösterilememiştir.

Bu bulgular mTOR yolunun renal iskemi-reperfüzyon hasarında terapötik hedef olarak potansiyel taşıdığını göstermekte, ancak optimal etki için daha ileri deneysel ve klinik araştırmalara ihtiyaç bulunduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdallah, H. M. (2021). New trends in pharmacological treatment of acute kidney injury. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 11(7), 285-297.
- Adin, C. A., Gregory, C. R., Kyles, A. E., ve Cowgill, L. (2001). Diagnostic predictors of complications and survival after renal transplantation in cats. *Veterinary Surgery*, 30(6), 515-521.
- Adin, C. A. (2008). Renal transplantation. In J. D. Bonagura ve D. C. Twedt (Eds.), *Kirk's current veterinary therapy XIV* (pp. 901-906). Saunders Elsevier.
- Ahlmark, A., vd. (2024). Characteristics of delayed graft function and long-term outcomes after kidney transplantation from brain-dead donors: A single-center and multicenter registry-based retrospective study. *Transplant International*, 37, 12309.
- Akinoğlu, A., ve Alabaz, Ö. (1992). Pankreas organ transplantasyonu. *Arşiv*, 1, 41-52.
- Alegre, M. L., Lakkis, F. G., & Morelli, A. E. (2016). Antigen presentation in transplantation. *Trends in immunology*, 37(12), 831-843.
- Altaş, U. D. Ö. F. (2021). Bölüm 4. Covid-19'un Sistemik Etkileri ve Bağışıklığın Önemi, 53.
- Araki, K., Turner, A. P., Shaffer, V. O., Gangappa, S., Keller, S. A., Bachmann, M. F., Larsen, C. P., & Ahmed, R. (2009). mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. *Nature*, 460, 108-112.
- Arslan, D. Ö., Korkmaz, G., & Gözüaçık, D. (2011). Otofaji: Bir hücresel stres yanıtı ve ölüm mekanizması.
- Atkinson, C., He, S.-Q., Morris, K., Qiao, F., Casey, S., Goddard, M., vd. (2010). Targeted complement inhibitors protect against posttransplant cardiac ischemia and reperfusion injury and reveal an important role for the alternative pathway of complement activation. *Journal of Immunology*, 185, 7007-7013.
- Aybek, H. (2021). 5-Florourasil ve C60 Nanopartikülünün MCF-7 Hücre Hattı Üzerindeki Sinerjik Etkisinin Apoptotik ve Otofajik Hücre Ölüm Yolakları Üzerine Etkisinin Araştırılması.

- Aydođdu, N., Kaymak, K., & Yalçın, Ö. (2005). Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında nasetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(4), 151-155.
- Aziz, T., Burgess, M., Khafagy, R., Wynn Hann, A., Campbell, C., Rahman, A., vd. (1999). Bicaval and standard techniques in orthotopic heart transplantation: Medium term experience in cardiac performance and survival. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 118(1), 115–122.
- Bakan, A., A., ve Karakoç, E., (2015). Endometriyozis, <https://turkradyolojiseminerleri.org/pdf/2c83d69a-dc5a-476c-9385-2d943ca48693/articles/trs.2015.213/Trd%20Sem-3-71.pdf>. Erişim Tarihi: 15.12.2025.
- Barbosa, A. C. S., Mauroner, L. G., Kumar, J., ve Sims-Lucas, S. (2023). Delayed graft function post renal transplantation: A review on animal models and therapeutics. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 325(6), F817–F825.
- Belavgeni, A., Meyer, C., Stumpf, J., vd. (2020). Ferroptosis and necroptosis in the kidney. *Cell Chemical Biology*, 27(4), 448–462.
- Belzer, F., Ashby, B., ve Dunphy, J. (1967). 24-hour and 72-hour preservation of canine kidneys. *The Lancet*, 2, 536–538.
- Belzer, F. O., ve Southard, J. H. (1988). Principles of solid-organ preservation by cold storage. *Transplantation*, 45(4), 673–676.
- Bernardi, P., & Di Lisa, F. (2015). The mitochondrial permeability transition pore: Molecular nature and role as a target in cardioprotection. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 78, 100–106.
- Birge, A. Ö., Tuncay, F. Ö., Kurçer, M. A., Çelik, P., Fertelli, T. K., Çalışkan, T., ... & Erdoğan, Z. (2021), *Hastalıklar Bilgisine Sistemik Yaklaşımlar*. Nobel Akademik Yayıncılık.
- Bisig, B., Savage, K. J., & de Leval, L. (2023). Pathobiology of nodal peripheral T-cell lymphomas: Current understanding and future directions. *Haematologica*, 108(12).
- Bissler, J. J., McCormack, F. X., Young, L. R., Elwing, J. M., Chuck, G., Leonard, J. M., ... & Franz, D. N. (2008). Sirolimus for angiomyolipoma in tuberous sclerosis complex or lymphangioliomyomatosis. *New England Journal of Medicine*, 358(2), 140-151.

- Blogowski, W., Dolegowska, B., Salata, D., Budkowska, M., Domanski, L., ve Starzynska, T. (2012). Clinical analysis of perioperative complement activity during ischemia/reperfusion injury following renal transplantation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 7, 1843–1851.
- Boros, P., ve Bromberg, J. S. (2006). New cellular and molecular immune pathways in ischemia/reperfusion injury. *American Journal of Transplantation*, 6, 652–658.
- Bozkaya, T. A. (2015). Kalp cerrahisi sonrasında organ hasarının erken belirteçleri olarak biyo-belirteçler. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(1), 65-74.
- Braza, F., Brouard, S., Chadban, S., ve Goldstein, D. R. (2016). Role of TLRs and DAMPs in allograft inflammation and transplant outcomes. *Nature Reviews Nephrology*, 12, 281–290.
- Büyükuslu, N., & Yiğitbaşı, T. (2015). Reaktif oksijen türleri ve obezitede oksidatif stres. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(3), 197-203.
- Çakırsoy-Çakar, G. (2015). Tümör dokusundaki inflamatuvar hücrelerin oransal dağılımının, invaziv duktal karsinomun lenfatik yayılımına etkisi ve diğer prognostik faktörlerle ilişkisi.
- Carenza, C., Calcaterra, F., Oriolo, F., Di Vito, C., Ubezio, M., Della Porta, M. G., ... & Della Bella, S. (2019). Costimulatory molecules and immune checkpoints are differentially expressed on different subsets of dendritic cells. *Frontiers in immunology*, 10, 1325.
- Çelik, M., & Aksoy, H. (2011). Sildenafilin Sıçan Overlerinde Oluşturulan İskemi Reperfüzyon Hasarındaki Etkisinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Olarak Araştırılması.
- Çelik, S. (Ed.). (2023). Hematoloji. MediHealth Academy.
- Chavez, R., Fraser, D. J., Bowen, T., Jenkins, R. H., Nesargikar, P., Pino-Chavez, G., & Khalid, U. (2016). Kidney ischaemia reperfusion injury in the rat: the EGTI scoring system as a valid and reliable tool for histological assessment. *Journal of Histology and Histopathology*, 3.
- Chi, H. (2012). Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nature Reviews Immunology*, 12(5), 325–338.
- Chouchani, E. T., Pell, V. R., Gaude, E., Aksentijević, D., Sundier, S. Y., Robb, E. L., Logan, A., Nadtochiy, S. M., Ord, E. N. J., Smith, A. C., Eyassu, F., Shirley, R.,

- Hu, C.-H., Dare, A. J., James, A. M., Rogatti, S., Hartley, R. C., Eaton, S., Costa, A. S. H., ... Murphy, M. P. (2014). Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS. *Nature*, 515(7527), 431–435.
- Chouchani, E. T., Pell, V. R., James, A. M., Work, L. M., Saeb-Parsy, K., Frezza, C., Krieg, T., & Murphy, M. P. (2016). A unifying mechanism for mitochondrial superoxide production during ischemia-reperfusion injury. *Cell Metabolism*, 23(2), 254–263.
- Clavien, P.-A., Harvey, P. R., ve Strasberg, S. M. (1992). Preservation and reperfusion injuries in liver allografts: An overview and synthesis of current studies. *Transplantation*, 53(5), 957–978.
- Conti, A., Scala, S., D'Agostino, P., Alimenti, E., Morelli, D., Andria, B., vd. (2007). Wide gene expression profiling of ischemia-reperfusion injury in human liver transplantation. *Liver Transplantation*, 13, 99–113.
- De Carlis, R., Muiesan, P., & Taner, B. (2023). Donation after circulatory death: Novel strategies to improve the liver transplant outcome. *Journal of Hepatology*, 78(6), 1169-1180.
- de Oliveira, T. H. C., Marques, P. E., Poosti, F., Ruytinx, P., Amaral, F. A., Brandolini, L., vd. (2017). Intravital microscopic evaluation of the effects of a CXCR2 antagonist in a model of liver ischemia reperfusion injury in mice. *Frontiers in Immunology*, 8, 1917.
- de Perrot, M., Young, K., Imai, Y., Liu, M. Y., Waddell, T. K., Fischer, S., vd. (2003). Recipient T cells mediate reperfusion injury after lung transplantation in the rat. *Journal of Immunology*, 171, 4995–5002.
- de Vries, B., Walter, S. J., Peutz-Kootstra, C. J., Wolfs, T., van Heurn, L. W. E., ve Buurman, W. A. (2004). The mannose-binding lectin-pathway is involved in complement activation in the course of renal ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Pathology*, 165, 1677–1688.
- DeBerardinis, R. J., Sayed, N., Ditsworth, D., ve Thompson, C. B. (2008). Brick by brick: Metabolism and tumor cell growth. *Current Opinion in Genetics ve Development*, 18, 54–61.
- Deretic, V., Saitoh, T., & Akira, S. (2013). Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology*, 13(10), 722-737.

- Dickerman, R. M., Twiest, M. W., Crudup, J. W., ve Turcotte, J. G. (1975). Transplantation of the pancreas into a retroperitoneal jejunal loop. *American Journal of Surgery*, 129(1), 48–54.
- Djamali, A., Kaufman, D. B., Ellis, T. M., Zhong, W., Matas, A., & Samaniego, M. (2014). Diagnosis and management of antibody-mediated rejection: current status and novel approaches. *American Journal of Transplantation*, 14(2), 255–271.
- Downie, H. G. (1953). Homotransplantation of the dog heart. *Archives of Surgery*, 66(5), 624–636.
- Drognitz, O., Michel, P., Koczan, D., Neeff, H., Mikami, Y., Obermaier, R., vd. (2006). Characterization of ischemia/reperfusion-induced gene expression in experimental pancreas transplantation. *Transplantation*, 81, 1428–1434.
- Egan, D. F., Shackelford, D. B., Mihaylova, M. M., Gelino, S., Kohnz, R. A., Mair, W., ... & Shaw, R. J. (2011). Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science*, 331(6016), 456–461.
- Ekmekçi, K. (2022). Döteryum oksitin sıcaklık, gama ve ultraviyole maruziyetlerine karşı yağ asitleri profiline etkilerinin incelenmesi. Sabahattin Zaim Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.
- El Hussein, S., & O'Malley, D. P. (2024). Classic Hodgkin lymphoma: An illustrative review of select diagnostic limitations and immunomorphological challenges. *Human Pathology*.
- Elliott, T. R., Nicholson, M. L., & Hosgood, S. A. (2021). Normothermic kidney perfusion: An overview of protocols and strategies. *American Journal of Transplantation*, 21(4), 1382–1390. <https://doi.org/10.1111/ajt.16307>
- Eltzschig, H. K., & Eckle, T. (2011). Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature Medicine*, 17(11), 1391–1401.
- Eltzschig, H. K., ve Eckle, T. (2011). Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nature Medicine*, 17, 1391–1401.
- Eminova, S. (2024). Otofaji-ER Stres Etkileşiminin Meme Kanseri Hücrelerinin Proliferasyonu ve Metastazı Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması (Master's thesis, Necmettin Erbakan University (Turkey)).

- Eraslan, E., Tanyeli, A., & Güler, M. C. (2020). Ampelopsin, Deneysel Böbrek İskemi Reperfüzyon Hasarında Oksidatif Stresi ve İnflamatuvar Sitokin Seviyelerini Azaltmaktadır. *Dicle Medical Journal*, 47(2), 423-430.
- Erçetin, A. P. (2014). Multipl miyelomda T regulatuar hücrelerin (TREG) tedaviye etkinliğine etkisinin ex vivo araştırılması (Doctoral dissertation, Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey)).
- Esser, H., vd. (2025). A consensus statement on terminology and classification of biliary complications in liver transplantation. *British Journal of Surgery*, 112(5), znae321.
- European Association for the Study of the Liver. (2016). EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *Journal of Hepatology*, 64(2), 433–485.
- Fan, H., Liu, J., Sun, J., Feng, G., & Li, J. (2023). Advances in the study of B cells in renal ischemia-reperfusion injury. *Frontiers in Immunology*, 14, 1216094.
- Farrar, C. A., Keogh, B., McCormack, W., O'Shaughnessy, A., Parker, A., Reilly, M., vd. (2012). Inhibition of TLR2 promotes graft function in a murine model of renal transplant ischemia-reperfusion injury. *FASEB Journal*, 26, 799–807.
- Feng, S., Goodrich, N. P., Bragg-Gresham, J. L., vd. (2006). Characteristics associated with liver graft failure: The concept of a donor risk index. *American Journal of Transplantation*, 6(4), 783–790.
- Friend, P., Imber, C., ve Lopez, I. (2001). Normothermic perfusion of the isolated liver. *Transplantation Proceedings*, 33(7), 3436–3438.
- Fujino, Y., Suzuki, Y., Tsujimura, T., Takahashi, T., Tanioka, Y., Tominaga, M., vd. (2001). Possible role of heat shock protein 60 in reducing ischemic-reperfusion injury in canine pancreas grafts after preservation by the two-layer method. *Pancreas*, 23, 393–398.
- Gamel, A., Yonan, N. A., Grant, S., Deiraniya, A. K., Rahman, A. N., Sarsam, M. A., vd. (1995). Orthotopic cardiac transplantation: A comparison of standard and bicaval Wythenshawe techniques. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 109(4), 721–729.
- Gandolfo, M. T., Jang, H. R., Bagnasco, S. M., Ko, G. J., Agreda, P., Soloski, M. J., vd. (2010). Mycophenolate mofetil modifies kidney tubular injury and Foxp3(+) regulatory T cell trafficking during recovery from experimental ischemia-reperfusion. *Transplant Immunology*, 23, 45–52.

- Gill, R., Tsung, A., ve Billiar, T. (2010). Linking oxidative stress to inflammation: Toll-like receptors. *Free Radical Biology and Medicine*, 48, 1121–1132.
- Gökçen, Z. (2013). Akut miyokard infarktüsü prognozunu belirlemede apoptoz belirteçleri ile anjiogenezis belirteçlerinin rolü. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi.
- Goldberg, M., Berman, E. F., ve Akman, L. C. (1958). Homologous transplantation of the canine heart. *Journal of the International College of Surgeons*, 30(5), 575–586.
- Gozuacik D and Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. (2004) *Oncogene* 23(16):2891-906.
- Gozuacik D and Kimchi A. (2007) Autophagy and cell death. *Current Topic in Developmental Biology* 78:217-45.
- Gozuacik D, Bialik S, Raveh T, Mitou G, Shohat G, Sabanay H, Mizushima N, Yoshimori T, Kimchi A. (2008) DAP-kinase is a mediator of endoplasmic reticulum stress-induced caspase activation and autophagic cell death. *Cell Death and Differentiation* 15: 1875-86.
- Gözüaçık, D. (2011). Otofaji analiz yöntemleri ve uygulama aşamaları (Autophagy analysis techniques and applications).
- Grafals, M., ve Thurman, J. M. (2019). The role of complement in organ transplantation. *Frontiers in Immunology*, 10, 2380.
- Grahammer, F., Haenisch, N., Steinhardt, F., Sandner, L., Roerden, M., Arnold, F., Cordts, T., Wanner, N., Reichardt, W., Kerjaschki, D., & Huber, T. B. (2014). mTORC1 maintains renal tubular homeostasis and is essential in response to ischemic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(27), E2817–E2826.
- Granata, S., Votrico, V., Spadaccino, F., Catalano, V., Netti, G. S., Ranieri, E., Stallone, G., & Zaza, G. (2022). Oxidative Stress and Ischemia/Reperfusion Injury in Kidney Transplantation: Focus on Ferroptosis, Mitophagy and New Antioxidants. *Antioxidants*, 11(4), 769.
- Gregory, C. R., ve Gourley, I. M. (1993). Organ transplantation in clinical veterinary medicine. In D. H. Slatter (Ed.), *Textbook of small animal surgery* (pp. 95–100). Saunders.

- Gregory, C. R., Mathews, K. G., Aronson, L. R., Ilkiw, J. E., LeCouteur, R. A., ve Aldrich, J. (1997). Central nervous system disorders after renal transplantation in cats. *Veterinary Surgery*, 26(5), 386–392.
- Gregory, C. R., Kyles, A. E., Bernstein, L., ve Mehl, M. (2006). Results of clinical renal transplantation in 15 dogs using triple drug immunosuppressive therapy. *Veterinary Surgery*, 35(2), 105–112.
- Güçlü, F., ve Taşkiran, E. (2016). Pankreas nakli. *FnG ve Bilim Tıp Transplantasyon Dergisi*, 1(2), 88–91.
- Güler MC, Tanyeli A, Ekinçi Akdemir FN, Eraslan E, Özbek Şebin S, Güzel Erdoğan D, Nacar T. An Overview of Ischemia-Reperfusion Injury: Review on Oxidative Stress and Inflammatory Response. *Eurasian J Med*. 2022 Dec;54(Suppl1):62-65.
- Gümüşkaptan, Ç. (2015). CDK inhibitörlerinin mTOR susturması gerçekleştirilen LNCaP, DU145 ve PC3 prostat kanseri hücrelerinde terapotik etkisinin incelenmesi.
- Gwinn, D. M., Shackelford, D. B., Egan, D. F., Mihaylova, M. M., Mery, A., Vasquez, D. S., ... & Shaw, R. J. (2008). AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Molecular cell*, 30(2), 214-226.
- Hajdú, B., Csabai, L., Márton, M., Holczer, M., Korcsmáros, T., & Kapuy, O. (2023). Oscillation of autophagy induction under cellular stress and what lies behind it, a systems biology study. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(8), 7671.
- Hansen, K. S., & Bababekov, Y. J. (2025). Normothermic Regional Perfusion for Donation After Circulatory Death Liver Transplantation: State of the Art and a Biodesign Framework for Adoption. *Current Transplantation Reports*, 12(1), 19.
- Hardy, J. D., Kurrus, F. D., Chaves, C. M., Neely, W. A., Eraslan, S., Turner, D., vd. (1964). Heart transplantation in man: Developmental studies and report of a case. *JAMA*, 188(13), 1132–1140.
- Helvacioğlu F, Gökteş T, Altunkaynak-camca HO, Şirinoğlu T. Böbrek iskemi ve reperfüzyon hasarında kreatin monohidrat desteğinin etkileri. *Anadolu Klin [Internet]*. 01 Ocak 2023;28(1):56-65. Erişim adresi: <https://izlik.org/JA97WM37TW>

- Hester, J., Schiopu, A., Nadig, S. N., & Wood, K. J. (2012). Low-dose rapamycin treatment increases the ability of human regulatory T cells to inhibit transplant arteriosclerosis in vivo. *American Journal of Transplantation*, 12(8), 2008–2016.
- Hosgood, S. A., & Nicholson, M. L. (2011). First in man renal transplantation after ex vivo normothermic perfusion. *Transplantation*, 92(7), 735–738. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e31822d4e04>
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
- Hotamisligil, G. S. (2010). Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*, 140(6), 900-917.
- İnan, M., Toker, M., Arıcasoy, Ö., & Öğüt, B., Nöropatoloji Pratiğinde Moleküler Tetkik Gerektiren Vakalarımız. 31. Ulusal Patoloji Kongresi, 26-30 Ekim 2022, Platform Sözlü Sunum Bildirileri.
- Iske, J., Seyda, M., Heinbokel, T., Maenosono, R., Minami, K., Nian, Y., vd. (2020). Senolytics prevent mt-DNA-induced inflammation and promote the survival of aged organs following transplantation. *Nature Communications*, 11, 4289.
- İşler, C. T., Durmuş, A. S., ve Ünsaldı, E. (2004). Diyabet ve geçmişten günümüze pankreas transplantasyonu. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 1, 30–35.
- Iwata, T. N., Ramírez-Komo, J. A., Park, H., & Iritani, B. M. (2017). Control of B lymphocyte development and functions by the mTOR signaling pathways. *Cytokine & growth factor reviews*, 35, 47-62.
- Jaganjac, M., Cipak, A., Schaur, R. J., ve Zarkovic, N. (2016). Pathophysiology of neutrophil-mediated extracellular redox reactions. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 21, 839–855.
- Jang, H. R., ve Rabb, H. (2015). Immune cells in experimental acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 11, 88–101.
- Jhun, B. S., Oh, Y. T., Lee, J. Y., Kong, Y., Yoon, K. S., Kim, S. S., Baik, H. H., Ha, J., ve Kang, I. (2005). AICAR suppresses IL-2 expression through inhibition of GSK-3 phosphorylation and NF-AT activation in Jurkat T cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 332, 339–346.
- Ji, J., Ma, Y., Liu, X., Zhou, Q., Zheng, X., Chen, Y., ... & Yang, L. (2024). Identification of Renal Ischemia-Reperfusion Injury Subtypes and Predictive

Model for Graft Loss after Kidney Transplantation Based on Programmed Cell Death-Related Genes. *Kidney Diseases*, 10(6), 450-467.

Jones, R. G., ve Thompson, C. B. (2007). Revving the engine: Signal transduction fuels T cell activation. *Immunity*, 27, 173–178.

Kaca, G. (2009). Organ bağışına yönelik tutumların planlı davranış kuramı çerçevesinde incelenmesi. *Türk Psikoloji Dergisi*.

Kahraman, D. İ. A. (2021). Endometrium Kanserlerinde Genetik Alt Grupların, Tümör Mikroçevresinin, T Hücrelerinde Eksprese Edilen Lag-3 İmmün Kontrol Noktası İnhibitörünün ve Tümör Hücrelerinde Eksprese Edilen T Hücre Fonksiyonunu Düzenleyen Vısta, Pdl1 ve Gal-3 Moleküllerinin Ekspresyonunun Prognostik Faktörler ile İlişkisi.

Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Ischemia/Reperfusion. *Compr Physiol*. 2016 Dec 6;7(1):113-170. doi: 10.1002/cphy.c160006. PMID: 28135002; PMCID: PMC5648017.

Kalff, J. C., Carlos, T. M., Schraut, W. H., Billiar, T. R., Simmons, R. L., ve Bauer, A. J. (1999). Surgically induced leukocytic infiltrates within the rat intestinal muscularis mediate postoperative ileus. *Gastroenterology*, 117, 378–387.

Kang, Y., Li, Y., Wen, H., Zhu, J., Zheng, J., & Feng, Z. (2020). Prevention of renal ischemia and reperfusion injury by penhyclidine hydrochloride through autophagy activation. *Molecular medicine reports*, 21(5), 2182-2192.

Kaplan, B., Qazi, Y., & Wellen, J. R. (2014). Strategies for the management of adverse events associated with mTOR inhibitors. *Transplantation Reviews*, 28(3), 126–133.

Kapuy, O., Holczer, M., Csabai, L., & Korcsmáros, T. (2024). Oscillatory autophagy induction is enabled by an updated AMPK-ULK1 regulatory wiring. *PloS one*, 19(12), e0313302.

Karadağ, A. (2016). Otofaji: Programlı hücre ölümü. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 15(2), 19-26.

Kashiwade, T., Miyagi, S., Hara, Y., Akamatsu, Y., Sekiguchi, S., Kawagishi, N., vd. (2016). Soluble thrombomodulin ameliorates ischemia-reperfusion injury of liver grafts by modulating the proinflammatory role of high-mobility group box 1. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 239, 315–323.

- KDIGO CKD Work Group. (2013). KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney International Supplements*, 3(1), 1–150.
- Ke, B., Shen, X. D., Ji, H. F., Kamo, N., Gao, F., Freitas, M. C. S., vd. (2012). HO-1-STAT3 axis in mouse liver ischemia/reperfusion injury: Regulation of TLR4 innate responses through PI3K/PTEN signaling. *Journal of Hepatology*, 56, 359–366.
- Keshavjee, S., Davis, R. D., Zamora, M. R., de Perrot, M., ve Patterson, G. A. (2005). A randomized, placebo-controlled trial of complement inhibition in ischemia-reperfusion injury after lung transplantation in human beings. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 129, 423–431.
- Khan, S., Salloum, F., Das, A., Xi, L., Vetrovec, G. W., & Kukreja, R. C. (2006). Rapamycin confers preconditioning-like protection against ischemia-reperfusion injury in isolated mouse heart and cardiomyocytes. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 41(2), 256–264.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. (2012). KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney International Supplements*, 2(1), 1–138.
- Kim, J., Kundu, M., Viollet, B., & Guan, K. L. (2011). AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nature cell biology*, 13(2), 132–141.
- Kim, C. K., Mukadam, S., & Agrawal, D. K. (2025). Differential Effects of Brain Death and Circulatory Death on Myocardial Integrity and Transplant Outcomes. *Journal of surgery and research*, 8(3), 416.
- Kitchens, W. H., Larsen, C. P., & Badell, I. R. (2023). Costimulatory blockade and solid organ transplantation: the past, present, and future. *Kidney International Reports*, 8(12), 2529–2545.
- Klawitter, J., Nashan, B., & Christians, U. (2015). Everolimus and sirolimus in transplantation-related but different. *Expert Opinion on Drug Safety*, 14(7), 1055–1070. <https://doi.org/10.1517/14740338.2015.1040388>
- Kopecky, B. J., Frye, C., Terada, Y., Balsara, K. R., Kreisel, D., ve Lavine, K. J. (2020). Role of donor macrophages after heart and lung transplantation. *American Journal of Transplantation*, 20, 1225–1235.

- Kostakis, I. D., Kassimatis, T., Flach, C., Karydis, N., Kessaris, N., & Loukopoulos, I. (2020). Hypoperfusion warm ischaemia time in renal transplants from donors after circulatory death. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 35(9), 1628-1634.
- Kruger, B., Krick, S., Dhillon, N., Lerner, S. M., Ames, S., Bromberg, J. S., vd. (2009). Donor toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 3390–3395.
- Krüger, B., Krick, S., Dhillon, N., vd. (2009). Donor Toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transplantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(9), 3390–3395.
- Küçük, M., Çevik, A., ve Emre, A. (2012). Deneyisel pankreas transplantasyonu. *Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2(3), 3–10.
- Kütük, D. (2024). Embriyo atık kültür sıvısı örneklerinde Humanin ve SMN ekspresyonlarının Mitokondriyal Kalite açısından karşılaştırılması (Doctoral dissertation, Maltepe University (Turkey)).
- Kyles, A. E., Gregory, C. R., Wooldridge, J. D., Mathews, K. G., Aronson, L. R., Bernstein, L., vd. (1999). Management of hypertension controls postoperative neurologic disorders after renal transplantation in cats. *Veterinary Surgery*, 28(6), 436–441.
- Laplane, M., & Sabatini, D. M. (2012). mTOR signaling in growth control and disease. *cell*, 149(2), 274-293.
- Lasorsa, F., Rutigliano, M., Milella, M., d'Amati, A., Crocetto, F., Pandolfo, S. D., ... & Lucarelli, G. (2024). Ischemia–reperfusion injury in kidney transplantation: mechanisms and potential therapeutic targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8), 4332.
- Lazzeri, C., Bonizzoli, M., Guetti, C., vd. (2021). Hemodynamic management in brain dead donors. *World Journal of Transplantation*, 11(10), 410–420.
- Lee, C. Y., ve Mangino, M. J. (2009). Preservation methods for kidney and liver. *Organogenesis*, 5(3), 105–112.
- Lee HT, Kim JY, Kim M, Wang P, Tang L, Baroni S, D'Agati VD, Desir GV. Renalase protects against ischemic AKI. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Feb;24(3):445-55.

- Lee, C., Tsai, C., Adler, E., & Pretorius, V. (2022). Emerging frontier in heart transplantation: donation after circulatory death. *Journal of American College of Cardiology*. Accessed May, 12, 2025.
- Le Clef N, Verhulst A, D'Haese PC, Vervaet BA. Unilateral Renal Ischemia-Reperfusion as a Robust Model for Acute to Chronic Kidney Injury in Mice. *PLoS One*. 2016 Mar 23;11(3):e0152153.
- Li, M. T., Ramakrishnan, A., Yu, M., Daniel, E., Sandra, V., Sanichar, N., King, K. L., Stevens, J. S., Husain, S. A., ve Mohan, S. (2023). Effects of delayed graft function on transplant outcomes: A meta-analysis. *Transplantation Direct*, 9(2), e1433.
- Li, C., Xie, N., Li, Y., vd. (2024). Regulated cell death in ischemia-reperfusion induced acute kidney injury. *Cell Death Discovery*, 10, 216.
- Lieberthal, W., Fuhro, R., Andry, C. C., Patel, V., & Levine, J. S. (2001). Rapamycin impairs recovery from acute renal failure: Role of cell-cycle arrest and apoptosis of tubular cells. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 281(4), F693–F706.
- Limon, J. J., & Fruman, D. A. (2012). Akt and mTOR in B cell activation and differentiation. *Frontiers in Immunology*, 3, 228.
- Linkermann, A., Bräsen, J. H., Darding, M., vd. (2013). Two independent pathways of regulated necrosis mediate ischemia-reperfusion injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(29), 12024–12029.
- Liu, Y., Ji, H., Zhang, Y., Shen, X. D., Gao, F., Nguyen, T. T., vd. (2015). Negative CD4+TIM-3 signaling confers resistance against cold preservation damage in mouse liver transplantation. *American Journal of Transplantation*, 15, 954–964.
- Loverre, A., Divella, C., Castellano, G., Tataranni, T., Zaza, G., Rossini, M., vd. (2011). T helper 1, 2 and 17 cell subsets in renal transplant patients with delayed graft function. *Transplant International*, 24, 233–242.
- Lu, T. F., Yang, T. H., Zhong, C. P., Shen, C., Lin, W. W., Gu, G. X., vd. (2018). Dual effect of hepatic macrophages on liver ischemia and reperfusion injury during liver transplantation. *Immune Network*, 18, e24.
- MacIver, N. J., Jacobs, S. R., Wieman, H. L., Wofford, J. A., Coloff, J. L., & Rathmell, J. C. (2008). Glucose metabolism in lymphocytes is a regulated process with

- significant effects on immune cell function and survival. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(4), 949–957
- MacIver, N. J., Michalek, R. D., & Rathmell, J. C. (2013). Metabolic regulation of T lymphocytes. *Annual review of immunology*, 31(1), 259-283.
- Maksimenko, A. V., & Turashev, A. D. (2012). No-reflow phenomenon and the microcirculation. *Biochemistry Research International*, 2012, 859231. <https://doi.org/10.1155/2012/859231>
- Mallavia, B., Liu, F., Sheppard, D., ve Looney, M. R. (2016). Inhibiting integrin v5 reduces ischemia-reperfusion injury in an orthotopic lung transplant model in mice. *American Journal of Transplantation*, 16, 1306–1311.
- Mallavia, B., Liu, F. C., Lefrancais, E., Cleary, S. J., Kwaan, N., Tian, J. J., vd. (2020). Mitochondrial DNA stimulates TLR9-dependent neutrophil extracellular trap formation in primary graft dysfunction. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 62, 364–372.
- Mastrovangelis, C., Frost, C., Hort, A., Laurence, J., Pang, T., & Pleass, H. (2024). Normothermic regional perfusion in controlled donation after circulatory death liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Transplant International*, 37, 13263.
- Mathews, K. G., ve Gregory, C. R. (1997). Renal transplants in cats: 66 cases (1987–1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(11), 1432–1436.
- Mathews, K. A., Holmberg, D. L., ve Miller, C. W. (2000). Kidney transplantation in dogs with naturally occurring end-stage renal disease. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 36(4), 294–301.
- McAnulty, J. F., Vreugdenhil, P. K., Southard, J. H., ve Belzer, F. O. (1990). Use of UW cold storage solution for machine perfusion of kidneys. *Transplantation Proceedings*, 22(2), 458–459.
- McAnulty, J. F., Reid, T. W., Waller, K. R., vd. (2002). Successful six-day kidney preservation using trophic factor supplemented media and simple cold storage. *American Journal of Transplantation*, 2, 712–718.
- Mealer, C., Konsek, H., Travis, Z., Suk, R. N., & Rajab, T. K. (2023). Mechanisms of cold preservation and reperfusion injury for solid organ transplantation: implications for partial heart transplantations. *Transplantology*, 4(3), 124-138.

- Mehdizadehtapeh, L. (2021). Epibrassinolidin kanser hücrelerinde interaksiyon partnerlerinin in silico araştırılması ve bu partnerlerle ilişkili hücre ölüm mekanizmalarının in vitro incelenmesi.
- Mendiola Pla, M., Wherley, J., Kim, H., vd. (2024). Ex vivo gene therapy on machine perfusion for transplantation. *Human Gene Therapy*, 35(7–8), 284–297.
- Mergental, H., Laing, R. W., Kirkham, A. J., vd. (2020). Transplantation of discarded livers following viability testing with normothermic machine perfusion. *Nature Communications*, 11(1), 2939.
- Metzger, R. A., Delmonico, F. L., Feng, S., Port, F. K., Wynn, J. J., & Merion, R. M. (2003). Expanded criteria donors for kidney transplantation. *American Journal of Transplantation*, 3(S4), 1149–1154.
- Moers, C., Smits, J. M., Maathuis, M.-H. J., vd. (2009). Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *New England Journal of Medicine*, 360(1), 7–19.
- Moran, C. A., Suster, S., & Abbondanzo, S. L. (1997). Inflammatory pseudotumor of lymph nodes: A study of 25 cases with emphasis on morphological heterogeneity. *Human Pathology*, 28(3), 332–338.
- Morgan, B. P., Walters, D., Serna, M., ve Bubeck, D. (2016). Terminal complexes of the complement system: New structural insights and their relevance to function. *Immunological Reviews*, 274, 141–151.
- Nakahira, K., Haspel, J. A., Rathinam, V. A., Lee, S. J., Dolinay, T., Lam, H. C., ... & Choi, A. M. (2011). Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nature immunology*, 12(3), 222-230.
- Nasralla, D., Coussios, C. C., Mergental, H., vd. (2018). A randomized trial of normothermic preservation in liver transplantation. *Nature*, 557(7703), 50–56.
- Nath, N., Giri, S., Prasad, R., Salem, M. L., Singh, A. K., ve Singh, I. (2005). 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside: A novel immunomodulator with therapeutic efficacy in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Immunology*, 175, 566–574.
- Nicholson, M. L., & Hosgood, S. A. (2013). Renal transplantation after ex vivo normothermic perfusion: The first clinical study. *American Journal of Transplantation*, 13(5), 1246–1252.

- Nieuwenhuijs-Moeke, G. J., Pischke, S. E., Berger, S. P., Sanders, J. S. F., Pol, R. A., Struys, M. M. R. F., Ploeg, R. J., & Leuvenink, H. G. D. (2020). Ischemia and reperfusion injury in kidney transplantation: Relevant mechanisms in injury and repair. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 253.
- Niroomand, A., Murphy, T., Speer, A., vd. (2024). Machine perfusion and bioengineering strategies in transplantation. *Transplant International*, 37, 13215.
- Öber, A., & İzzetoğlu, G. T. (2006). *Histoloji*. Nobel Akademik Yayıncılık.
- Olthoff, K. M., Kulik, L., Samstein, B., vd. (2010). Validation of a current definition of early allograft dysfunction in liver transplant recipients and analysis of risk factors. *Liver Transplantation*, 16(8), 943–949.
- Organ Procurement and Transplantation Network & Scientific Registry of Transplant Recipients. (2022). OPTN/SRTR 2022 annual data report. U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration.
- Öz-Arslan D, Korkmaz G, Gözüaçık D. (2011) Otofaji: bir hücrel stres yanıtı ve ölüm mekanizması. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, Kasım sayısı. Yayında.
- Özata, M., & Turan, M. (2022). *Güçlü Mitokondri Sağlıklı Yaşam*. Efe Akademi Yayınları.
- Ozbilgin S, Ozkardesler S, Akan M, Boztas N, Ozbilgin M, Ergur BU, Derici S, Guneli ME, Meseri R. Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Diabetic Rats: The Role of Local Ischemic Preconditioning. *Biomed Res Int*. 2016;2016:8580475.
- Özmen, A. (2015). Hiperglisemik koşullarda ve diyabetik plasentalarda mTOR sinyal yolağının anjiyogenez mekanizmasına etkisi.
- Özşaker, E. (2012). Organ transplantasyonu ve yaşam kalitesi. *Cerrahi Bakım ve Yaşam Kalitesi Sempozyumu Kitabı*, 39-51.
- Öztürk, D. M., & Kayacan, N. S. (2015). Hücre Soylarında Sitotoksik ve Apoptotik Etkileri.
- Pan, M. X., Cai, L., Wang, X. Y., Zhang, Q. J., Kong, F. D., Xu, S. Y., vd. (2013). Establishment of a simple living donor liver transplantation dog model using a two-step non venous bypass hepatectomy. *Transplantation Proceedings*, 45(6), 2425–2432.

- Paoletti, E., Citterio, F., Corsini, A., Potena, L., Rigotti, P., Sandrini, S., ... & ENTROPIA Project. (2020). Everolimus in kidney transplant recipients at high cardiovascular risk: a narrative review. *Journal of nephrology*, 33(1), 69-82.
- Pascual, J., Berger, S. P., Witzke, O., Tedesco, H., Mulgaonkar, S., Qazi, Y., vd. (2018). Everolimus with reduced calcineurin inhibitor exposure in renal transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology*, 29(7), 1979–1991.
- Patnana, M., Sevrakov, A. B., Elsayes, K. M., Viswanathan, C., Lubner, M., & Menias, C. O. (2012). Inflammatory pseudotumor: The great mimicker. *American Journal of Roentgenology*, 198(3), W217–W227
- Pefanis, A., Ierino, F. L., Murphy, J. M., & Cowan, P. J. (2019). Regulated necrosis in kidney ischemia-reperfusion injury. *Kidney International*, 96(2), 291–301.
- Pegg, D. E. (1986). Organ preservation. *Surgical Clinics of North America*, 66(3), 617–632.
- Perico, N., Cattaneo, D., Sayegh, M. H., ve Remuzzi, G. (2004). Delayed graft function in kidney transplantation. *The Lancet*, 364, 1814–1827.
- Poitout, V., & Robertson, R. P. (2008). Glucolipotoxicity: fuel excess and β -cell dysfunction. *Endocrine reviews*, 29(3), 351-366.
- Polat, M. (2010). Kronik viral hepatitlere bağı hepatik fibrozda ve sirozda hepatik stellate hücre aktivasyonu ve yeni damar oluşumunun değerlendirilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Ponticelli, C. (2014). Ischaemia-reperfusion injury: a major protagonist in kidney transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(6), 1134-1140.
- Pressler, B. M. (2010). Transplantation in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 40(3), 495–505.
- Rao, P. S., Schaubel, D. E., Guidinger, M. K., vd. (2009). A comprehensive risk quantification score for deceased donor kidneys: The kidney donor risk index. *Transplantation*, 88(2), 231–236.
- Rao K, Sethi K, Ischia J, et al. Protective effect of zinc preconditioning against renal ischemia reperfusion injury is dose dependent. *Plos one*. 2017 ;12(7):e0180028.

- Saidi, R. F., & Hejazii Kenari, S. K. (2014). Challenges of organ shortage in transplantation: Solutions and opportunities. *International Journal of Organ Transplantation Medicine*, 5(2), 53–62.
- Sancak, Y., Bar-Peled, L., Zoncu, R., Markhard, A. L., Nada, S., & Sabatini, D. M. (2010). Ragulator-Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell*, 141(2), 290-303.
- Sasaki, H., Tanabe, T., Tsuji, T., & Hotta, K. (2023). Mechanism and treatment for chronic antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients. *International Journal of Urology*, 30(8), 624-633.
- Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, 168(6), 960–976.
- Sayah, D. M., Mallavia, B., Liu, F. C., Ortiz-Munoz, G., Caudrillier, A., DerHovanessian, A., vd. (2015). Neutrophil extracellular traps are pathogenic in primary graft dysfunction after lung transplantation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 191, 455–463.
- Schmiedt, C. W., Holzman, G., Schwarz, T., ve McAnulty, J. F. (2008). Survival, complications, and analysis of risk factors after renal transplantation in cats. *Veterinary Surgery*, 37(7), 683–695.
- Shafiq, F., Wang, Y. X., Li, G., Liu, Z. T., Li, F., Zhou, Y., vd. (2020). Clinical outcome of donor heart with prolonged cold ischemic time: A single-center study. *Journal of Cardiac Surgery*, 35, 397–404.
- Shiva, N., Sharma, N., Kulkarni, Y. A., Mulay, S. R., & Gaikwad, A. B. (2020). Renal ischemia/reperfusion injury: An insight on in vitro and in vivo models. *Life sciences*, 256, 117860.
- Silvis, M. J. M., Kaffka Gen. Dengler, S. E., Odille, C. A., Mishra, M., van der Kaaij, N. P., Doevendans, P. A., vd. (2020). Damage-associated molecular patterns in myocardial infarction and heart transplantation: The road to translational success. *Frontiers in Immunology*, 11, 599511.
- Simard, E., Jin, D., Takai, S., Miyazaki, M., Brochu, I., & D’Orleans-Juste, P. (2009). Chymase-dependent conversion of Big endothelin-1 in the mouse in vivo. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 328(2), 540-548.

- Simler, N. R., Howell, D. C., Marshall, R. P., Goldsack, N. R., Hasleton, P. S., Laurent, G. J., & Chambers, R. C. (2002). The rapamycin analogue SDZ RAD attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *European Respiratory Journal*, 19(6), 1124–1131.
- Soğuksu, A. O. (2023). Akne Rozaseada Hastalık Şiddeti ile CRP/albumin Oranı ve Diğer İnflamatuvar Kan Parametreleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi (Doctoral dissertation, Atatürk Üniversitesi).
- Sommer, W., Tudorache, I., Kuhn, C., Avsar, M., Salman, J., Ius, F., vd. (2014). C1-esterase-inhibitor for primary graft dysfunction in lung transplantation. *Transplantation*, 97, 1185–1191.
- Sosa, R. A., Terry, A. Q., Kaldas, F. M., Jin, Y. P., Rossetti, M., Ito, T., vd. (2021). Disulfide high-mobility group box 1 drives ischemia reperfusion injury in human liver transplantation. *Hepatology*, 73, 1158–1175.
- Stallone, G., Infante, B., Di Lorenzo, A., Rascio, F., Zaza, G., & Grandaliano, G. (2016). mTOR inhibitors effects on regulatory T cells and on dendritic cells. *Journal of Translational Medicine*, 14(1), 152.
- Stolf, N. A. G. (2017). History of heart transplantation: A hard and glorious journey. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 32(5), 423–427.
- Summers, D. M., Watson, C. J. E., & Pettigrew, G. J. (2015). Kidney donation after circulatory death (DCD): State of the art. *Kidney International*, 88(2), 241–249.
- Sun, Y. Y., Li, X. F., Meng, X. M., Huang, C., Zhang, L., ve Li, J. (2017). Macrophage phenotype in liver injury and repair. *Scandinavian Journal of Immunology*, 85, 166–174.
- Suyani, E., Boztepe Derici, U., Sahin, T., Ofluoglu, E., Pasaoglu, H., Erdem, O., Barit, G., Altok Reis, K., Erten, Y., Arinsoy, T., & Sindel, S. (2009). Effects of everolimus on cytokines, oxidative stress, and renal histology in ischemia-reperfusion injury of the kidney. *Renal Failure*, 31(8), 698–703.
- Tang, B., Luo, Z., Zhang, R., Zhang, D., Nie, G., Li, M., & Dai, Y. (2023). An update on the molecular mechanism and pharmacological interventions for Ischemia-reperfusion injury by regulating AMPK/mTOR signaling pathway in autophagy. *Cellular Signalling*, 107, 110665.
- Temel, H. Ö. V. (2024). BÖLÜM V. Veteriner Patolojide Güncel Değerlendirmeler; Modern Analiz, Bulgu ve Araştırmalar II, 87.

- Tennankore, K. K., Kim, S. J., Alwayn, I. P. J., & Kiberd, B. A. (2016). Prolonged warm ischemia time is associated with graft failure and mortality after kidney transplantation. *Kidney International*, 89(3), 648–658.
- Thuong, M., Ruiz, A., Evrard, P., vd. (2016). New classification of donation after circulatory death donors definitions and terminology. *Transplant International*, 29(7), 749–759.
- Todd, J. L., ve Palmer, S. M. (2017). Danger signals in regulating the immune response to solid organ transplantation. *Journal of Clinical Investigation*, 127, 2464–2472.
- Todo, S., Kam, I., Lynch, S., ve Starzl, T. E. (1985). Animal research in liver transplantation with special reference to the dog. *Seminars in Liver Disease*, 5(4), 309–317.
- Tonelli, M., Wiebe, N., Knoll, G., vd. (2011). Systematic review: Kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *American Journal of Transplantation*, 11(10), 2093–2109.
- Torres, O. J., Pantoja, P. B., Barbosa, E. S., Barros, C. D. A., Servin, E. T., ve Servin, S. C. (2008). Hemodynamic alterations during orthotopic liver experimental transplantation in pigs. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 23(2), 135–139.
- Türkiye İstatistik Kurumu. (2009). Adrese dayalı nüfus kayıt sistemi [Veri seti]. Retrieved December 14, 2025, from <https://nip.tuik.gov.tr/Home/Adnks>
- Uluişik, D., Keskin, E., & Bilir, A. (t.y.) İnflamasyon ve Sitokin Fırtınası. Bütün Yayın Hakları Saklıdır Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz., 8.
- Urbanellis, P., Mazilescu, L., Kollmann, D., Linares-Cervantes, I., Kathis, J. M., Ganesh, S., ... & Selzner, M. (2021). Prolonged warm ischemia time leads to severe renal dysfunction of donation-after-cardiac death kidney grafts. *Scientific Reports*, 11(1), 17930.
- Uysal, Ç. A., Reşitoğlu, M. T., Güden, D. S., Şenol, S. P., Vezir, Ö., Sucu, N., ... & Fırat, S. (2022). Inhibition of mTOR protects against skeletal muscle and kidney injury following hindlimb ischemia-reperfusion in rats by regulating MEK1/ERK1/2 activity. *Cukurova Medical Journal*, 47(1), 219-232.
- van Rijn, R., Schurink, I. J., de Vries, Y., vd. (2021). Hypothermic machine perfusion in liver transplantation. *New England Journal of Medicine*, 384(15), 1391–1401.

- Vanden Berghe, T., Linkermann, A., Jouan-Lanhouet, S., Walczak, H., & Vandenabeele, P. (2014). Regulated necrosis: The expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(2), 135–147.
- Vincenti, F., Larsen, C., Durrbach, A., Wekerle, T., Nashan, B., Blanco, G., ... & Charpentier, B. (2005). Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *New England Journal of Medicine*, 353(8), 770-781.
- Wacher, V. J., Wu, C. Y., & Benet, L. Z. (2002). Overlapping substrate specificities and tissue distribution of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein: implications for drug delivery and activity of sirolimus. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 302(2), 483–489.
- Walzem, F. *Afinite Olgunlaşması ve İmmünojenik Hücre Ölümü* (Vol. 3). Cambridge Stanford Books.
- Wang, H., Yan, Z., Qiu, L., Hu, Z., Qian, W., ve Xu, L. (2011). Dynamic changes of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1/CD31) on pulmonary injury induced by ischemia-reperfusion in rats. *Irish Journal of Medical Science*, 180, 483–488.
- Wang, Y., Fu, H., Huang, B., Liang, Z., Shen, Y., Wang, Y., ... & Zhao, Y. (2024). Hollow mesoporous Prussian blue nanoenzymes as Rapamycin carrier for targeted treatment of ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury through pro-mitophagy and oxidative stress alleviation. *Chemical Engineering Journal*, 497, 155684.
- Weichhart, T., Costantino, G., Poglitsch, M., Rosner, M., Zeyda, M., Stuhlmeier, K. M., Kolbe, T., Stulnig, T. M., Hoerl, W. H., Hengstschlaeger, M., Mueller, M., ve Säemann, M. D. (2008). The TSC–mTOR signaling pathway regulates the innate inflammatory response. *Immunity*, 29, 565–577.
- Weissenbacher, A., Vrakas, G., Nasralla, D., & Ceresa, C. D. L. (2019). The future of organ perfusion and re-conditioning. *Transplant International*, 32(6), 586–597.
- Wellen, K. E., & Thompson, C. B. (2010). Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess. *Molecular cell*, 40(2), 323-332.
- Wolfe, R. A., Ashby, V. B., Milford, E. L., Ojo, A. O., Ettenger, R. E., Agodoa, L. Y. C., Held, P. J., & Port, F. K. (1999). Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *New England Journal of Medicine*, 341(23), 1725–1730.

- Wu, H., Ma, J., Wang, P., vd. (2010). HMGB1 contributes to kidney ischemia reperfusion injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(11), 1878–1890.
- Xu, J., Buchwald, J. E., & Martins, P. N. (2020). Review of current machine perfusion therapeutics for organ preservation. *Transplantation*, 104(9), 1792–1803.
- Yang, J., Zhang, Y., Xu, J., Geng, Y., Chen, X., Yang, H., ... & Zhao, G. (2009). Serum activity of platelet-activating factor acetylhydrolase is a potential clinical marker for leptospirosis pulmonary hemorrhage. *PloS one*, 4(1), e4181.
- Yarlagadda, S. G., Coca, S. G., Formica, R. N., Jr., Poggio, E. D., & Parikh, C. R. (2008). Marked variation in the definition and diagnosis of delayed graft function: A systematic review. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 23(9), 2995–3003.
- Ye, L. P., He, S. Q., Mao, X. L., Zhang, Y., Cai, Y., ve Li, S. W. (2020). Effect of hepatic macrophage polarization and apoptosis on liver ischemia and reperfusion injury during liver transplantation. *Frontiers in Immunology*.
- Yin, Y., Chen, C., Zhang, D., Han, Q., Wang, Z., Huang, Z., ... & Ju, X. (2023). Construction of predictive model of interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation with machine learning algorithms. *Frontiers in Genetics*, 14, 1276963.
- Yüksel, T. N., Halıcı, Z., Bozkurt, A., Tavacı, T., Civelek, M. S., & Özdemir, B. (2023). Sıçanlarda Renal İskemi/Reperfüzyon Hasarı Üzerine PDE 5 İnhibitörü-Avanafilin Etkisi. *Namık Kemal Medical Journal*.
- Yıldız, F., Dönder, Y., & Arıkan, T. B. (2018). Sıçanlarda oluşturulan deneysel intestinal iskemi reperfüzyon modelinde quercitrinin etkileri. *Ahi Evran Medical Journal*, 2(1), 5-10.
- Zhai, Y., Petrowsky, H., Hong, J. C., Busuttil, R. W., & Kupiec-Weglinski, J. W. (2013). Ischaemia–reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 10, 79–89.
- Zhang, Y., Ji, H., Shen, X., Cai, J., Gao, F., Koenig, K. M., vd. (2013). Targeting TIM-1 on CD4 T cells depresses macrophage activation and overcomes ischemia-reperfusion injury in mouse orthotopic liver transplantation. *American Journal of Transplantation*, 13, 56–66.
- Zhang N, Guan C, Liu Z, Li C, Yang C, Xu L, Niu M, Zhao L, Zhou B, Che L, Wang Y, Xu Y. Calycosin attenuates renal ischemia/reperfusion injury by suppressing

NF- κ B mediated inflammation *via* PPAR γ /EGR1 pathway. Front Pharmacol. 2022 Oct 7;13:970616.

Zhao, H. L., Perez, J. S., Lu, K. Z., George, A. J. T., ve Ma, D. Q. (2014). Role of toll-like receptor-4 in renal graft ischemia-reperfusion injury. American Journal of Physiology–Renal Physiology, 306, F801–F811.

Zheng, Y., Delgoffe, G. M., Meyer, C. F., Chan, W., ve Powell, J. D. (2009). Anergic T cells are metabolically anergic. Journal of Immunology, 183, 6095–6101.

Zhong, Z., Umemura, A., Sanchez-Lopez, E., Liang, S., Shalapour, S., Wong, J., ... & Karin, M. (2016). NF- κ B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria. Cell, 164(5), 896-910.

Zhu, J., Lu, T., Yue, S., Shen, X., Gao, F., Busuttil, R. W., Kupiec-Weglinski, J. W., Xia, Q., & Zhai, Y. (2015). Rapamycin protection of livers from ischemia and reperfusion injury is dependent on both autophagy induction and mammalian target of rapamycin complex 2-Akt activation. Transplantation, 99(1), 48–55.

Zobar, F. N., & Küçükkılınç, Z. T. T. (2024). Motor Proteinlerin Nörodejeneratif Hastalıklardaki Rolü. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy, 44(3), 263-274.

Zoncu, R., Bar-Peled, L., Efeyan, A., Wang, S., Sancak, Y., & Sabatini, D. M. (2011). mTORC1 senses lysosomal amino acids through an inside-out mechanism that requires the vacuolar H⁺-ATPase. Science, 334(6056), 678-683.

EKLER

Ek – 1 Etik Kurul Raporu



KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURULU BAŞVURU ONAYI		
BAŞVURU BİLGİLERİ	Protokol Numarası	509
	Protokol Adı	m- TOR İnhibitörlerinin Sıcak İskemide Karaciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Etkisi
	Başvuru Tarihi	12.10.2020
	Sorumlu Araştırmacı Adı-Unvanı	Dr. Eyüp KAHVECI
	Sorumlu Araştırmacı Çalıştığı Kurum	Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim Ve Araştırma Hastanesi
	Yardımcı Araştırmacılar	Doç. Dr. Sanem ÇİMEN
KARAR BİLGİLERİ	Onay Numarası	509
	Onay Tarihi	03.11.2020
	Onaylanan Hayvan Türü ve Sayısı	Sprague Dawley Sıçan 40 Adet
	Onay Bilgileri	Proje amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntem yönünden incelenmiş, çalışmanın gerçekleşmesinde etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.
KOBAY DHL A.Ş. YEREL ETİK KURUL ÜYELERİ	Etik Kurul Başkanı Sorumlu Veteriner Hekim A.Begüm BUGDAYCI AÇIKKOL	
	Etik Kurul Başkan Yardımcısı Prof. Dr. Güneş ESENDAĞLI	
	Etik Kurul Üyesi Doç. Dr. M. Künşat DERICI	
	Etik Kurul Üyesi Veteriner Hekim Orkun Tarkun	
	Etik Kurul Üyesi Biyolog Uygur SAÇIK	
	Etik Kurul Üyesi Biyolog Fatma Nur İNÇEH	
	Etik Kurul Üyesi Turgut ALTUN	
	Etik Kurul Üyesi Adil KIŞ	
	Etik Kurul Üyesi Uzman Diğdem Yöyen ERMİŞ	
	Etik Kurul Üyesi Ali VAROL	

Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.
Merkez Ofis : Uzun Çarşı Caddesi, 1308. Sokak No:6 (Odtü Teknokent) Yenimahalle - Ankara
Şube Ofis : İ.O.S.B 21.Cadde 520.Sokak No:2/2 Yenimahalle – Ankara
Telefon : 0 (312) 394 70 94 | Faks : 0(312) 995 06 94
e-imzalıdır - bilgi@kobay.com.tr

23.11.2020

- Sn. Dr. Eyüp KAHVECİ

Yürütücüsü olduğunuz 03.11.2020 onay tarihli 509 protokol numaralı çalışmanızda “m-TOR İnhibitörlerinin Sıcak İskemide Karaciğer ve Böbrek Hasarı Üzerine Etkisi” başlıklı çalışma başlığının 17.11.2020 tarihli dilekçenizde “m-TOR İnhibitörlerinin Sıcak İskemide Organ Hasarları Üzerine Etkileri” olarak değiştirilmesi talebiniz işleme alınmış olup değişiklik talebiniz onaylanmıştır.

A.Begüm BUĞDAYCI AÇIKKOL
Yönetim Kurulu Başkanı
Veteriner Hekim

KOBAY DENey HAYVANLARI
LABORATUVARI SANAYİ VE TİCARET A.Ş.

Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret A.Ş.

Merkez Ofis : Uzay Çağı Caddesi, 1308. Sokak No:6 (Odtü Teknokent) Yenimahalle - Ankara

Şube Ofis : İ.O.S.B 21.Cadde 520.Sokak No:2/2 Yenimahalle – Ankara

(0312) 394 70 94 – (0542) 394 70 94

www.kobay.com.tr– bilgi@kobay.com.tr