T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA İRİSİNİN ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Mehmet Deniz ÖZDEMİR

Referans no: 10053846

EDİRNE – 2017

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA İRİSİNİN ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Mehmet Deniz ÖZDEMİR

Destekleyen Kurum: TÜBAP- 2014/124

Tez No :

EDİRNE – 2017

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof.Dr.Nurettin AYDOĞDU danışmanlığında yüksek Lisans öğrencisi Mehmet Deniz ÖZDEMİR tarafından tez başlığı '**Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarında İrisinin Etkileri**' olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **05/05/2017** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **"Yüksek Lisans Tezi"** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr.Nurettin AYDOĞDU
JÜRİ BAŞKANI

Prof.Dr.Selim KUTLU
ÜYE

Prof.Dr.Ahmet AYAR
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Fizyoloji yüksek lisans eğitimin aşamasında rehberliğimi yapan tez danışmanım ve Anabilim Dalı başkanı Prof.Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya ve lisansüstü eğitimim boyunca desteklerini ve ilgilerini esirgemeyen değerli Fizyoloji Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK, Prof. Dr. S. Arzu VARDAR, Yrd. Doç. Dr. Mevlüt YAPRAK, çalışmalarımda yardımlarıyla yanımda olan, Prof.Dr. Necdet SÜT, Yard. Doç.Dr. Ebru TAŞTEKİN, Öğretim Görevlisi Dr. Oktay KAYA, M. Demircan POYRAZ'a Semiha UZUN, araştırma görevlileri Özlem Yalçınkaya YAVUZ ve Pınar TAYFUR'a ve maddi destekleri için TÜBAP birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ ve AMAÇ……1
GENEL BİLGİLER……3
İSKELET KASLARI……3
MİYOGLOBİN……3
AKUT BÖBREK HASARI……4
RABDOMİYOLİZ ve CRUSH SENDROMU……6
OKSİDATİF STRES ve SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ……10
NİTRİK OKSİT……13
İRİSİN……16
GEREÇ ve YÖNTEMLER……20
BULGULAR……31
TARTIŞMA……69
SONUÇLAR……75
ÖZET……77
SUMMARY……78
KAYNAKLAR……80
TABLOLAR LİSTESİ……91
ŞEKİLLER LİSTESİ……92
ÖZGEÇMİŞ……94
EKLER

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ADP	: Adenozin Difosfat
ALT	: Alaninaminotransferaz
AST	: Aspartataminotransferaz
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP	: Siklik Guanozin Monofosfat
CK	: Kreatin Kinaz
cNOS	: Konstitütif NOS
EDRF	: Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü
eNOS	: Endotelyal NOS
FNDC5	: Fibronektin Tip III Domain İçeren Protein 5
GFH	: Glomerler Filtrasyon Hızı
GSH	: Glutatyon
İM	: İntramuskuler
iNOS	: İndüklenebilir NOS
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
MABH	: Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı
MDA	: Malondialdehit

nNOS : Nöronal NOS
NO : Nitrik Oksit
NOS : Nitrik Oksit Sentaz
PCR : Polimeraz Zincir Reksiyonu
PGC1α : Peroksizom Proliferatör ile Aktive Olan Reseptör γ Ko-aktivatör-1α
PKA : Protein Kinaz A
ROM : Reaktif Oksijen Metabolitleri
UCP1 **:** Uncoupling (eşleşmemiş) protein

GİRİŞ ve AMAÇ

Rabdomiyoliz, iskelet kası hücrelerinin hasara uğramasıyla toksik hücre içi elemanların kan dolaşımına geçerek klinik ve laboratuvar bulgularına yol açan patolojik bir durumdur. Rabdomiyoliz hem travma hem de travma dışı nedenler (iskemi, ilaçlar, toksinler, metabolik bozukluklar ve enfeksiyonlar) ile ortaya çıkabilir. Genelde travma dışı sebepler daha sık olduğu halde, sıra dışı olaylar (maden göçükleri, trafik kazaları, savaş, doğal ve insanların yol açtığı suni felaketler) sonrasında travmatik sebepler daha çok daha ön plana çıkar(1,2).

İnsanlarda gelişen miyoglobinürik akut böbrek hasarının (MABH) sıçanlardaki deneysel modelinde; hipertonik gliserolün intramüsküler (im) enjeksiyonu ile MABH geliştirilir. Bu model insanlarda gelişen MABH'na özdeş kabul edilir(2, 3).Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu miyoliz, hemoliz ve hipovolemiye neden olur. Miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan miyoglobin ve hemoglobin gibi hem proteinleri içerdikleri serbest demir aracılığıyla MABH'nin patogenezinde kritik bir rol oynarlar(4,5).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda akut böbrek hasarının (ABH) patofizyolojisinde nitrik oksit (NO) ve reaktif oksijen metabolitleri (ROM)'nin önemli rol oynadığı belirtilmektedir(2,6).

İrisin, proliferatör olarak peroksizomun aktivasyonuna tepki olarak salgılanan yeni bir miyokindir. 2012 yılında Boström ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir(7). Molekül ağırlığı 12587 kD ve 112 amino asit içerir. İskelet kası tarafından salgılandığı bildirilmiştir(7, 8).Kahverengi yağ dokusu genellikle bebeklerde ve çocuklarda sık görülen fakat yetişkinlerde az miktarlarda mevcut olan bir dokudur. İrisin iskelet kası

dışında bağ dokusu, kalp kası, karaciğer, böbrekler ve periferik miyelin kılıf (sinir kılıfı) üretmektedir. İrisinin öncüsü olan aracılı fibronektin tip III alanı içeren protein 5 (FNDC5), Fndc5 geni tarafından kodlanan transmembran bir protein türüdür(9).

İrisinin, kronik böbrek yetmezliği ilgili klinik çalışmada, kronik böbrek yetmezliğinde irisin seviyesinin azaldığı ve yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ile ilişkili olduğu bununla birlikte irisin seviyesi düşük çıkan hastalarda ciddi böbrek filtrasyon bozuklukları olduğu rapor edilmiştir(10).

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulmuş MABH modelinde iskelet kası tarafından üretilen irisinin böbrek fonksiyonları ve fizyopatolojindeki rolünü araştırmayı amaçladık. Bu amaçla MABH ile kontrol gruplarının 6, 24. ve 48. saatlerdeki böbrek dokusunda MDA, GSH, NO düzeyleri, serum irisin, NO, üre, kreatinin, sodyum, potasyum düzeyleri, AST, ALT, CK, LDH enzim aktiviteleri, idrar kreatinin, sodyum düzeyleri ile böbrek dokusunda renal hasar ve kast oluşumundaki değişimlerini ve irisin, iNOS ve eNOS lokalizasyonunu immunohistokimyasal olarak incelenmesi hedeflendi.

GENEL BİLGİLER

İSKELET KASLARI

Memelilerde toplam beden ağırlığının neredeyse %40'ını oluşturan iskelet kasları, istemli kaslardır ve duruş, hareket, konuşma, solunum gibi çok sayıda aktivitede görev alırlar. Kas hücreleri kimyasal enerji olarak kullanılan adenozin trifosfat'ı (ATP), mekanik enerjiye çeviren özelleşmiş hücrelerdir. Kas birbirine bağ dokusu ile bağlanmış bir grup kas lifini ifade eder(11,12).

İskelet kası, 5 mg/gr miyoglobin içerdiğinden yaygın kas hasarı sırasında dolaşıma büyük miktarda miyoglobin salınır. Miyoglobinin serum proteinlerine bağlanma kapasitesi düşüktür ve serbest olarak büyük miktarda glomeruler filtrata geçer(13).

MİYOGLOBİN

Miyoglobin 17.500 daltonluk ağırlığı ile demir içeren oksijen bağlayıcı bir proteindir(14). İşlevi hem oksijen depolamak hem de hızlı kasılan kas dokusuna oksijen difüzyonunu kolaylaştırmaktır. Miyoglobin, dizilimi belirlenmiş olan 153 amino asitli tek bir polipeptit zinciri ve bir demir protoporfirin veya "hem" grubundan oluşmaktadır. Aynı "hem" grubu eritrositlerin oksijen bağlayıcı proteini olan hemoglobinde de bulunmaktadır ve hem miyoglobinin hem de hemoglobinin koyu kırmızı-kahverenginden sorumludur(15). Hem grubunun ortasındaki demire bağlanan oksijen, dokunun ihtiyacı olunca serbest bırakılır. Bu görevin yapılması hem'i çevreleyen polipeptid zincir tarafından sağlanır. Hem'deki demirin oksijen tutması için indirgenmiş (ferro) formda olması gerekir(16).

Miyoglobin özellikle balina, fok, yunus balığı gibi su altında yaşayan memelilerin kas dokularında bol miktarda bulunur ve bu hayvanların kas dokuları miyoglobince çok zengin olduğu için kahverenklidir(15).

Miyoglobin <5 µg/l gibi küçük konsantransyonlarda idrarda tespit edilebilir ama miyoglobinüri için tanı kriteri sınır konsantrasyonu >20 µg/l'dir(14).

AKUT BÖBREK HASARI

Akut böbrek hasarı (ABH) ; genel tanımıyla, azotlu atıkların vücuttan atılmasını engelleyecek ve vücudun sıvı, elektrolit ve asit-baz dengesini bozacak kadar böbrek fonksiyonlarında saatler, günler içinde meydana gelen ve birçok organ ve sistemi de etkileyen değişim olarak tanımlanmaktadır. ABH birçok olguda tek organ yetmezliği olarak değil de birçok organda fonksiyon bozukluğu ile beraber bulunmaktadır (17-19).

Akut böbrek hasarı, böbreğin glomerular filtrasyon hızında ani düşme ile birlikte serum kreatinin değerinin başlangıç değerine göre 0,5 mg/dL veya daha fazla artış ya da hesaplanmış kreatinin klirens değerinden %50 düşüş ile açıklanmaktadır. Yetişkin bir bireyde metabolitlerin atılması için gereken idrar en az 400 ml/ gün olması gerekirken bu değerin aniden 400 ml'nin altına düşmesi ve bunu serum üre miktarının devamlı olarak yükselerek takip etmesi, ABH olarak adlandırılabilir. Ancak ABH için evrensel bir tanım bulunamamıştır ve hala tartışmalar devam etmektedir(17,20,21).

Hastanede yatan hastaların %3-7'si ile yoğun bakım ünitelerinin hastalarının %25-30'unda ABH gelişir. Sıklıkla geri dönüşümlü olarak değerlendirilmektedir. Altta yatan nedenle birlikte hastalığın ağırlığına bağlı olarak yüksek komplikasyondan dolayı hastane morbidite ve mortalitesinin önemli sebebidir. Türk Nefroloji Derneği kayıtlarına göre 2007 yılında Türkiye genelinde ABH olan 5498 hastada mortalite oranı %15,1 olarak saptanmıştır(22).

Yapılan çalışmalara ve tedavi tekniklerindeki gelişmelere rağmen ABH gelişen hastalarda sağ kalım oranlarında anlamlı iyileşme sağlanamamıştır. Mortalitenin yeterince azaltılamama sebepleri; ABH'nin çoğunlukla yaşlı insanlarda görülmesi, siyah ırk, başlangıç serum kreatinin düzeyi ve ABH bağımlı yada bağımsız ortaya çıkan diğer hastalıkların da ciddi bir morbidite ve mortaliteye sahip olmasıdır(23,24).

Sınıflandırma

Akut böbrek hasarında fizyopatolojinin daha kolay anlaşılabilmesi amacıyla ABH;

1.Prerenal ABH

2.Renal ABH

3.Postrenal ABH olarak sınıflandırılır.

1.Prerenal Akut Böbrek Hasarı:

En sık rastlanılan tiptir (%55-60). Renal hipoperfüzyon sonucu glomeruler filtrasyon hızı azalır ve elektrolit dengesinin bozulmasıyla birlikte metabolik asidoz oluşur. Renal akım düzenlendiğinde ABH genellikle geri dönüşümlüdür. Eğer geri dönüşüm sağlanamaz ise hücresel hipoksi ve akut tübüler nekroz gelişebilir. Bu durum, hastanın yaşına, sorunun ciddiyetine ve ABH'ye eşlik eden hastalığına bağlı olarak kişiye özgü olarak değişen bir durumdur. Glomerüler kanlanmayı azaltan durumlarda kompanzatuvar sistemler devreye girerek sistem normal konumuna getirilmeye çalışılır. Bunlar; sempatik aktivite artışı, vazopressin salınımında artış, renin-angiotensin sistemin aktivasyonu, anjiyotensin-2 sentezinde artış.Şiddetli hipoperfüzyonda sistem bunu dengeleyemez ise prerenal ABH gelişir (25).

2.Renal Akut Böbrek Hasarı:

İntriksik veya parankimal ABH'de denilir. Böbrek parankim dokusu çeşitli nedenlerle hasara uğrar ve böbrek fonksiyonu bozulur. En sık nedeni iskemi veya nefrotoksinlere bağlı olarak gelişen akut tübüler nekrozdur(ATN). ATN'nin prerenal ABH'den farkı perfüzyonun düzeltilmesiyle fonksiyonların hemen düzelmemesi ancak nefrotoksik ajanın ortadan kaldırılmasının ardından olguların çoğunda böbrek fonksiyon geri dönüşümü sağlanmıştır.

3.Postrenal Akut Böbrek Hasar:

Böbreğin ana toplayıcı sistemlerinden üretranın distaline kadar olan herhangi bir bölgede mekanik tıkanıklıklar sonucu oluşur. Tıkanmanın tespitinde ultrasonografinin hassasiyeti yüksektir. Erken müdahale edildiğinde hızlı bir şekilde düzelir. Geç kalınırsa böbrekte parankim hasara yol açarak kalıcı böbrek hasarı oluşabilir(26).

Tanı

ABH tanısı, RIFLE, AKIN, KDIGO ve ERBP ölçütlerine göre yapılmaktadır. En fazla RIFLE ölçütleri kullanılmaktadır.

RIFLE ölçütleri:

Akut Diyaliz Kalite İnsiyatifi grubu (ADQI), ABH'ye yönelik ortak bir sınıflandırmanın yapılması için baş harfleri RIFLE kelimesini oluşturulan ölçütler 2002'de Vicenza ADQI kongresinde oluşturulmuş 2003 yılında 8. Uluslararası Kontinü Renal Replasman Tedavilerin konferansında sunulmuştur. 2004 yılında RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage kidney disease) sınıflandırılması getirilmiştir. İdrar takibi için üriner katater zorunluluğu ve kreatinin değerleri ile sınıflandırma yapılmak istendiğinde başlangıç kreatinin olmaması sınıflandırmada soruna neden olmaktadır(17,21,27).

Risk, injury (hasar), failure (yetmezlik), loss (kayıp) ve end stage (son dönem) olmak üzere 5 kategoride serum kreatinin ve idrar çıkışı göz önüne alınarak sınıflandırma yapılır.

Risk kategorisinde, serum kreatinin düzeyinde 2 kat artış veya GFR'de %50'lik bir azalma ile birlikte 6 saat süreyle saatlik idrar çıkışının 0,5 ml/kg 'dan az olması; Injury (Hasar) kategorisinde, serum kreatinin düzeyinde 1,5 kat artış veya GFR'de %25'lik bir azalma ile birlikte 12 saat süreyle saatlik idrar çıkışının 0,5 ml/kg 'dan az olması;Failure (Yetmezlik) kategorisinde, serum kreatinin düzeyinde 3 kat artış veya GFR'de %75'den fazla bir azalma veya kreatinin artışının 4 mg/dl'den (akut artışın 0,5 mg'dan) büyük olması ile birlikte 24 saat süreyle saatlik idrar çıkışının 0,3 ml/kg 'dan az olması veya 12 saat boyunca anüri;Loss (Kayıp), 4 haftadan daha uzun süreli böbrek fonksiyon kaybı; End Stage (Son Dönem), 3 aydan daha uzun süreli böbrek fonksiyon kaybı, şeklindedir(28).

RABDOMİYOLİZ ve CRUSH SENDROMU

Rabdomiyolizle ilgili bilinen en eski bilgiler, Eski Ahit'in Sayılar bölümünde, Yahudilerin Mısır'dan göçü esnasında çok fazla bıldırcın eti ile beslenmeleri sonucu ortaya çıkan bir veba olarak bahsedilmiştir. Akdenizde uzun gözlemler neticesinde, baldıran otu ile beslenmiş bıldırcınların eti ile beslenmenin miyolize neden olduğu kabul edilmiştir. Rabdomiyoliz, ilk olarak 1881 yılında Fleisher tarafından, kas egzersizleri ile birlikte hemoglobinüri görülmesi olarak tanımlandı. Daha sonra 1900'lü yıllarda Alman tıp literatürüne Meyer-Betz hastalığı olarak girmiştir. Bywaters ve Beall ilk olarak 1940-1941 yıllarında Londra hava bombardımanı sırasında post

travmatik rabdomiyoliz olgusunu ile rabdomiyoliz ve akut böbrek hasarı arasındaki fizyopatolojik mekanizmayı tam olarak açıklamışlardır(29-31).

Rabdomiyoliz, iskelet kas yapısının travmatik-nontravmatik, endojen-eksozen, herediter-edinsel nedenlere bağlı olarak, bozulmasıyla karakterize olan, hücre içi içeriğinin (miyoglobin, kreatin kinaz, aldolaz, laktat dehidrojenaz, aspartat transamilaz ve potasyum vs) dolaşım sistemine katılmasıyla sonuçlanan ve klinik tabloların oluşmasına neden olan bir durumdur(32,33).

Genel olarak, rabdomiyolizin en sık nedenleri arasında alkol ve madde kullanımı, ilaçlar, kas hastalıkları, travma, afetlerde enkaz altında kalma, nöroleptik malign sendrom, nöbetler, immobilite, enfeksiyon, ağır fiziksel aktivite ve ısı ile ilgili hastalıklar sayılabilir(34).

Rabdomiyoliz sonrasında; ABH, kompartman sendromu, elektrolit bozukluğuna bağlı kardiyak disritmi, intravasküler koagülopati gibi bir takım komplikasyonlar da meydana gelmektedir (35).Crush Sendromu, travmanın yol açtığı rabdomiyolizle ikincil olarak ortaya çıkan ABH, kompartman sendromu, ödemli ve ağrılı kaslar, hipovolemik şok, hipopotasemi, asidoz, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği, enfeksiyonlar gibi pek çok belirti ve bulguyu içeren bir tablodur(32).

Crush Sendromu özellikte savaştaki, maden göçüklerindeki, endüstriyel kazalardaki, trafik kazalarındaki ve depremlerdeki yaralanmaların %2-5'inde görülür(36).

Rabdomiyoliz sonrasında meydana gelen böbrek hasarı, miyoglobinürik böbrek hasarı olarak isimlendirilir(2).

Kuzeybatı Ermenistan'da 1988 tarihinde 25.000 kişinin ölümüne 19.000 kişinin yaralamasına neden olan deprem sonrasında 570 Crush sendromuna bağlı ABH olgusu bildirilmiştir(37).

1995 yılında Japonya Kobe depreminde 202 hastada ABH tanısı konulduğu ve bunların 123'ünde hemodiyaliz tedavisi uygulandığı rapor edilmiştir(38).

Deprem açısından riskli bir olan Türkiye'de 17 Ağustos 1999 meydana gelen Marmara Depremi'nde resmi raporlara göre 17.480 hayat kaybı ve 43.953 yaralanma bildirilmiştir ve deprem sonrasında 639 hastada Crush sendromuna bağlı akut renal problemler gelişmiş ve bunların 477'sinde hemodiyaliz tedavisi gerekmiştir(39,40).

2008 yılında Çin'de meydana gelen Sichuan depreminde, 149 hastaya Crush sendromu tanısı konulduğu ve bunlardan 62 hastaya ABH tanısı aldığı ve ABH tanısı alan 33 hastaya renal replasman tedavisi uygulandığı rapor edilmiştir(41).

Rabdomiyolize Bağlı ABH ‘nin Patogenezi

Rabdomiyoliz isleket kası hasarından sonra hücre içeriğinin dolaşıma geçmesi sonrasında ortaya çıkan bir sendromdur. Rabdomiyolize bağlı böbrek hasarının asıl sebebinin hipovolemi ve miyoglobinüriye bağlı olduğu düşünülmektedir. Birçok nedeni tanımlanmasına rağmen, ortak son netice Na-K ATPaz pompasının ve kalsiyum taşınmasının bozularak intraselluler kalsiyum artışı ve sonrasında kas hücresi nekrozudur. Buna ek olarak kalsiyum, fosfolipaz A2, çeşitli vazoaktif moleküller ve proteazları aktive ederek serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olur(1).

Crush sendromu sonucu oluşan rabdomiyoliz kaynaklı ortaya çıkan ABH’nin oluşumunu açıklayan 3 mekanizma vardır. Bunlar;

1.Miyoglobinin toksik etkisi

2.İntraluminal kast oluşumu sunucu tübüler obstrüksiyon,

3.Renal vazokonstrüksiyondur(5).

Bu mekanizmalar birbiri ile ilişki olmasına rağmen ana rolü renal vazokontrüksiyon oynamaktadır. Renal vazokontrüksiyonun ortadan kaldırılmasıyla diğer nedenlerin etkilerinin azaldığı gösterilmiştir(5,42,43).

Miyoglobinin Toksik Etkisi

Miyoglobinüri için renal eşik değer 1,5 mg/dl’dir. Serum miyoglobulininin eşik değere ulaşması için 100 gram kasın hasara uğraması gerekir. Proteinlerin geri emilimi sadece proksimal tübülde eksositoz yoluyla olmaktadır. Miyoglobinin eşik değeri aşması durumunda proksimal tübülde tıkanıklığa ve distal tübüle geçişine neden olur. Miyoglobinin yarı ömrü 1-3 saat gibi kısa bir süredir ve 6 saat içinde bilirubine dönüştürülür fakat böbrek yetmezliğinde yarı ömrü uzar (32).

Proksimal tübülde miyoglobinin toksik etkisinden hem grubundaki demir iyonu sorumludur. Cubilin reseptörüne bağlanarak endositoz yolu ile hücre içine alınan hem grubu, oksijenaz enzimi ile parçalanıp ortaya demir iyonu çıkmaktadır. Rabdomiyoliz durumunda aşırı miktarda oluşan ‘hem’ böbreğe ulaşıp ferritin ile bağlanma kapasitesini aşmakta hücre içinde serbest demir miktarı artmakta ve Haber-Wiess reaksiyonu ile OH^- oluşumuna yol açmakta, OH^- lipit peroksidasyonuyla tübül hücrelerinde hasarda önemli rol oynamaktadır (43-45).

Miyoglobinin yaptığı lipit peroksidasyonu sonucunda araşidonik asitten oluşan izoprostanlar böbrek damarlarında şiddetli vazokonstriksiyona neden olmakta ayrıca

miyoglobinin endotel kaynaklı bir vazodilatatör olan nitrik oksiti (NO) yakalayıcı etkisi yönde çalışması vazokonstriksiyonu artırmaktadır (46,47).

Ortaya çıkan vazokonstriksiyon sonucu rabdomiyolize bağlı ABH'nin erken dönemlerinde böbrek kan akımınının azalmasıda ve iskemi gelişmesinde önemli rol oynamaktadır(48).

İntraluminal Kast Oluşumu

Asidik ortamda, Tamm-Horsfall proteinleriyle bileşen rabdomiyoliz sonucu hücre dışına çıkan ve glomerülleden süzülen miyoglobinin oluşturduğu kastlar tübüllerin tıkanmasına neden olmaktadır. Tıkanma neticesinde miyoglobinin uzaklaştırılması engellenmekte, üzerinde toksik etki gösterdiği böbrek tübül hücreleriyle aynı ortamda bulunma süreleri artmakta bu da toksik etkinin artışına neden olmaktadır(5).

Rabdomiyolizde kast oluşumunu etkileyen üç faktör söz konusudur;

- Rabdomiyoliz şiddetine bağlı olarak proksimal tübüldeki miyoglobinin renal eşiğini aşılması distal tübüldeki hem proteinlerinin konsantrasyonunu arttırır.
- Rabdomiyoliz sonucu ortaya çıkan pH azalması miyoglobin çözünürlüğünü azaltmaktadır.
- Asidik ortamda distal tübüldeki Tamm-Horsfall proteinleri ile miyoglobin arasındaki birleşme artmaktadır(5).

Renal Vazokonstrüksiyon

Böbrek dolaşımında vazadilatatör etkili olan NO'in etkisi, rabdomiyolizle açığa çıkan demirin NO süpürücü etkisinden dolayı ortamda azalmakta bunun sonucunda vazokonstriksiyona neden olarak böbrek kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını azaltmaktadır. Bu da kast oluşumunu kolaylaştırmakta, miyoglobinin toksik etkisinin artmasına neden olmaktadır (1).

Rabdomiyolize Bağlı ABH Deneysel Hayvan Modelleri

Rabdomiyolize bağlı ABH'nin patogenezinin anlaşılabilmesi, olası koruyucu ve tedavi seçeneklerinin araştırılması için deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. Bunun için temel olaraküç farklı modelinliteratürde kullanıldığı görülmektedir(5).

1. Hipovolemik deney hayvanlarına miyoglobinin intravenöz enjeksiyonun böbrek üzerindeki toksik etkisinin araştırılması amacıyla oluşturulur(5).
2. Deprem, göçük gibi ağırlığın altında kalma durumlarında meydana gelen hasarın etkilerinin araştırılması amacıyla, deney hayvanlarının alt

ekstremitelerinin belli bir ağırlığa maruz bırakılmasıyla oluşturulur. Tam olarak deprem ve göçükler için model olsa da belli bir standardizasyon sağlanmamıştır(49).

3. Hipertonik gliserolün (%50'lik) deney hayvanının arka bacak kaslarına intramüsküler olarak enjeksiyonu ile oluşturulur. Laboratuvarımızda bu modeli kullanarak yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar alınmıştır(2,4,50).

OKSİDATİF STRES VE SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest radikaller; son yörüngelerinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektronun bulunduğu atom veya atom gruplarıdır(51). Diğer bir tanımlama ile serbest radikaller; yapılarında tek sayıda elektron içeren, açık elektron kabuğu konfigürasyonuna sahip atom veya moleküllerdir (52). Bu eşleşmemiş elektron kararsızdır ve kimyasal aktivite potansiyeli yüksektir. Eşlenmiş elektronu bulunmayan diğer maddeler ile radikallerden daha zayıf olarak reaksiyona giren moleküller nonradikal olarak adlandırılır (53). Serbest radikaller oksijen ve azot kaynaklı olabilir. Reaktif oksijen ve azot türleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Kararsız olan ürünlerin arttığı durumlarda hedef moleküller olan membran yapısındaki fosfolipidler, glikolipidler, membran proteinleri ve doymamış yağ asitleri oksidatif strese maruz kalırlar. Kendine ait özel kontrol mekanizmaları bulunan, oksijen ve nitrojen türleri ile antioksidan sistem arasındaki dengenin, kontrol mekanizmalarının antioksidan lehine bozulması ile metabolik bozukluklar, hücre hasarı ve hatta ölüme dahi yol açan oksidatif stres oluşur(54-56).

Oksidatif stress böbreği, vasküler reaktivite ve renal hemodinamikler, glomerular filtrasyon, tübüler geri emilim ve nefron segmentlerindeki sekresyon gibi yönleri içermek üzere dolaylı ve dolaysız olarak tüm yönden etkiler. Hasar ya da hastalık boyunca oksidatif stres sinyali tüm süreçleri değiştirir. Apoptozis ve nekroza sürüklenme, değiştirilmiş gen ekspresyonu, doku hasarının ilerlemesi, fibrosizin artması ve anormal böbrek fonksiyonları gibi yollara teşvik eder (56).

Tablo 1. Reaktif oksijen ve azot türleri(53)

Reaktif oksijen türleri (ROM)		Reaktif azot türleri (RAT)	
Radikaller	**Non-radikaller**	**Radikaller**	**Non-radikaller**
Hidroksil, OH^-	Hipokloröz asit, HOCl	Nitrik oksit, NO^-	Alkoksil peroksinitrit, LOONO
Hidroperoksil, HO_2^-	Hidrojen peroksit, H_2O_2	Nitrojen dioksit, NO_2^-	Dinitrojen tetroksit, N_2O_4
Alkoksil, LO^-	Lipit hidroperoksit LOOH		Dinitrojen trioksit, N_2O_3
Peroksil, LO_2^-	Ozon, O_3		Nitrik asit, HNO_2
Süperoksit, O_2^-	Singlet oksijen, O_2		Peroksinitrit, $ONOO^-$

Oksidatif stresin oluşumunda muhtemel nedenlerden biri demir iyonudur. Demir, plazmada serbest radikal reaksiyonları için katalitik etkiye sahiptir(55). Serbest radikal ve oksidatif stres teorisinin kökeni, 19. yüzyılın sonlarına dayanmaktadır. Henry John Horstman Fenton'un 1876 yılında, hidrojen peroksit ile Fe^{++} iyonlarının varlığında tartarik asitin oksidasyonunu keşfi bu yolda atılan ilk adımdır(52).

Hidroksil radikali, hidrojen peroksitin Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss Reaksiyonuna girmesi veya suyun yüksek enerjili iyonlaştırıcı radyasyona maruz bırakılması sonucu oluşur.

Fenton reaksiyonu, demir ve bakır gibi geçiş metalleri ile H_2O_2 reaksiyonu sonucu hidroksil radikalinin oluşmasıdır.

$$Fe^{+2} + O_2 \leftrightarrow Fe^{+3} + O_2^{-\cdot}$$

Haber-Weiss Reaksiyonu ise hidrojen peroksitin, süperoksit radikaliyle reaksiyonu sonucu hidroksil radikalinin oluşmasıdır(57).

$$O_2^{-\cdot} + H_2O_2 \longrightarrow O_2^{-\cdot} + H_2O + OH^-$$

Zayıf bir oksidan ve demir (Fe^{+3}) ve bakır (Cu^{+2}) gibi metaller için indirgen olan süperoksit radikalinin en önemli etkisi, oksidatif strese yol açan Haber-Weiss reaksiyonunu başlatmasıyla süperoksit radikali H_2O_2 ile demir veya bakır katalizli tepkimeye girerek, oldukça reaktif olan ve DNA hasarına yol açabilen OH^- radikalinin oluşumunda rol oynamasıdır (58).

$$Fe^{+2} + O_2 \leftrightarrow Fe^{+3} + O_2^{-\cdot}$$
$$Cu^{+} + O_2 \leftrightarrow Cu^{+2} + O_2^{-\cdot}$$
$$H_2O_2 + Fe^{+2} \rightarrow {}^{\cdot}OH + OH^- + Fe^{+3}$$

Serbest radikal olmayan hidrojen peroksit, biyolojik membranlara bağlanma yeteneğinden dolayı önemlidir. Nötrofillerin fagozomlarında bulunan miyeloperoksidaz enzim sisteminin etkisiyle hipoklorik asit gibi daha reaktif radikal oksijen türevi olan moleküllerinin oluşmasını sağlar. En önemlisi fenton reaksiyonu olarak ta bilinen geçiş metallerinin oksidasyonuyla OH^- radikali oluşturmasıdır (57).

Oksijenin bir elektron vererek indirgenmesi ve sonrasında dismutasyon reaksiyonu ile H_2O_2 oluşur (59).

$$O_2 + e^{-\cdot} \rightarrow O_2^{-\cdot}$$
$$O_2^{-\cdot} + O_2^{-\cdot} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Üretilen H_2O_2; katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler gibi antioksidan enzimler tarafından ortadan kaldırılmaktadır(60).

Serbest radikal olmayan hidrojen peroksit, biyolojik membranlara bağlanma yeteneğinden dolayı önemlidir. Nötrofillerin fagozomlarında bulunan miyeloperoksidaz enzim sisteminin etkisiyle hipoklorik asit gibi daha reaktif radikal

oksijen türevi olan moleküllerinin oluşmasını sağlar. En önemlisi fenton reaksiyonu olarak ta bilinen geçiş metallerinin oksidasyonuyla OH radikali oluşturmasıdır(61).

Üretilen H_2O_2; katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler gibi antioksidan enzimler tarafından ortadan kaldırılmaktadır(60).Özellikle DNA için güçlü bir oksidan olan peroksinitrit, NO ve süperoksit anyonu arasındaki reaksiyonun ana ürünüdür(62).NO radikal toplayıcı bir moleküldür, damar düz kas hücrelerinin gevşemesi için temel sinyali oluşturur. Nitrik oksitin oksidasyonu sonucu oluşan reaktif türler nitrozatif stresin nedenidir (57,60,63).

Oksidatif stresle savaşan ilk ana enzimler superoksit dismutaz (SOD) izoformlarıdır. SOD superoksitin oksijen ve hidrojen perokside dönüşümünü katalizler.Bağlandığı yerde mitokondri, sitoplazma ve ektsrasellüler boşlukta lokalizedir. SOD1, mitokondrial matriks hariç birçok hücreiçi bölgede bulunan SOD'nin CuZn formudur. SOD2 mitokontrial matrikste büyük oranda bulunan SOD'nın Mn formudur. Peroksinitrit tarafından kolayca inaktive edilir. SOD3 ektrasellüler dış ortama salınan SOD'nin CuZn formudur. GSH hücre içi ortamda yüksek konsantrasyonda bulunan tiol'dür. GSH peroksidazlar aracılığı ile peroksitlerin tüketilmesinde kullanılır. Redoks durumu NADPH bağımlı GSH redüktazlar tarafından kontrol edilir (56).

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit, haberci ve sinyal molekülüdür, hücre membranından geçebilir ve yarı ömrü kısadır(64-66).Vazodilatör, nörotransmitter, antimikrobiyal efektör molekül ve immünomodulatör olarak pek çok fizyolojik ve patofizyolojik rolleri bulunan NO, önceleri ‘Endotel Kaynaklı Gevşeme Faktörü’ (Endothelial Derived RelaxingFactor-EDRF) olarak tanımlanmıştır.NO’in damar endoteli, makrofajlar, trombositler, sinir hücreleri, surrenal bezler, mide, uterus epitel hücreleri, pankreas adacık hücreleri ve akciğerlerde sentezlendiği rapor edilmiştir(67).

Nitrik oksit, L-Arjininin nitrik oksit sentaz (NOS) etkisiyle L-Sitrülline dönüşümü esnasında açığa çıkar ve guanilat siklazı aktive edip hücre içi siklik guanozin monofosfat (cGMP) miktarını artırarak gösterir(68-70).

L-Arjininin NOS etkisiyle L-Sitrülline dönüşümü esnasında moleküleroksijen, kofaktör olarak da nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH), flavin adenin

dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiyopterin (BH4) gerekmektedir(71).

$$\text{L-Arjinin} + 2\text{NADPH} + O_2 \xrightarrow[\text{NOS}]{\text{FAD, FMN, } BH_4} \text{L-Sitrulin} + \text{NO} + 2\text{NADP}$$

Kalsiyuma bağımlı bir enzim olan NOS, asetilkolin, histamin, bradikinin, trombin, P maddesi, serotonin, ADP (Adenozindifosfat), izoproterenol gibi hücre içi kalsiyum düzeyini arttıran bileşikler tarafından da aktive edilerek, sentezi sağlanmaktadır(72).

Nitrik oksit lipolitik aktivite için gereklidir. Adipositlerdeki NO'nun görevleri henüz çok iyi anlaşılamamıştır(73).

Reaktif oksijen türleri NO'yu inaktive edebilir. Arjinaz aktivitesinin artması ile birlikte L-arjininin intrasellüler ortamda azalması, NO'nun yararlanımını azaltır. Süperoksitler damarlardaki NO konsantrasyonunu kontrol eder(64,74).

Damarlarda endotel bağımlı vazodilatatörlerle (asetilkolin, bradikinin gibi) endotel kaynaklı birçok vazokonstriktör (endotelin-1, tromboksan A2 gibi) ve vazodilatatör (NO, endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör ve prostasiklin gibi) maddeler bulunmaktadır. Bunlar arasında hassas bir denge vardır. Bu hassas denge böbrekte vasküler tonusun ve glomerüler filtrasyonun kontrolünde önemlidir(75,76)

Nitrik oksitin metabolitleri nitrit ve nitrattır. Termal hasar, yaşlanma, böbrek yetmezliği gibi nedenler bu maddelerin serum düzeylerini ve üriner atılımlarını etkilemektedir(77). NO, süperoksit (O_2-) ile reaksiyona girdiğinde peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşur. Güçlü bir oksidandır ve proteinleri, lipidleri, karbohidratları, nükleik asitleri oksitleyerek inflamasyon, ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi çeşitli hastalıkların patofizyolojisinde rol alır ve doku hasarı artışına yol açar(67).

Kalbin her sistolde damara gönderdiği kanın, damar endoteli yüzeyinde oluşturduğu mekanik etki, "damar çeperine sürtünme stresi" olarak ifade edilen 'shear stress', NO'nun sentez ve salınımın en önemli nedenidir(78).

Kardiyovasküler sistemde, NO vasküler tonun düzenlenmesinde, kardiyak kontraktilitede, ve barorefleks fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Hemodinaminin düzenlenmesi, su ve tuz geri emilimi, renin salgılanması ve tubuloglomerular geri emilimi üzerinde etkilere sahiptir (79).

Nitrik oksit, prostasiklin, adenozin ve reaktif oksijen türevleri (ROM) trombosit aktivasyonu ve trombosit aracılı hasarı kontrol eder (80).

Nitrik oksit sentaz enziminin 2 formu vardır (64).

1-Konstitütif Nitrik Oksit Sentaz (cNOS)

Hücresel kaynakları endotel hücreleri, merkezi, periferal ve nonadrenergik-nonkolinergik nöronlardır. Trombin, ADP, asetilkolin, glutamat, kalsiyum iyonoforları, basınç, sürtünme stresi tarafından aktive edilir. Hücre içi kalsiyum düzeyi normalden düşük olursa aktivitelerini kaybeder. Kalsiyum seviyesi normal düzeyde olursa kalsiyum-kalmodulin kompleksi oluşur ve NOS'ı aktive eder. Aktive NOS, kalsiyum seviyesi düşünceye kadar az miktarda fakat devamlı NO sentezler(81,82).

- Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz (eNOS)

eNOS geni, 7. insan kromozomu üzerinde bulunur ve 22 kb'lık bir alanda 26 ekson içerir. eNOS ile ilgili immünohistokimyasal çalışmalar sonucunda, çeşitli venöz ve arteriyal endotelyal hücrelerde lokalize olduğunu ve miyositlerde, nöral hücrelerde ve çeşitli diğer dokularda önemli endojen ekpresyonunun olduğu bildirilmiştir(81). Böbrek dokusu içinde glomerüler kapiller, afferent arteriol, efferent arteriol, intrarenal arterler, medüller vaza rekta, endotelleri içerinde lokalizedir(83). eNOS vasküler fonksiyonu düzenleyen ana izoformdur. Katalitik aktivitesini sürtünme stresi ve nörohümoral faktörler gibi fiziksel ve kimyasal uyarım ile başlatılır ve devam ettirilir (79). eNOS transkripsiyonunu hipoksi durumu da yükseltir. Östrojenlerin eNOS transkripsiyonunun düzenlenmesindeki etkisi hala tartışmalı bir konudur (84).

- Nöronal Nitrik Oksit Sentaz (nNOS)

nNOS'u kodlayan gen, 12. insan kromozomu üzerinde bulunan 200 kb'lik bir bölgeye dağilmış 29 ekson içerir. Yapılan çalışmalarda, merkezi ve periferik sinir sistemi boyunca çeşitli nöronlarda nNOS eksprese edildiği gösterilmiş ve buna ek olarak isleket kası, akciğer ve genitoüriner sisteme ait çok sayıda nöronal olmayan dokularda da eksprese edildiği gösterilmiştir.NOS aynı zamanda kardiyak ve iskelet miyositlerinde, medial düz kas ve damarların endotelyal hücrelerinde, penis arterlerinin adventisyel katında ve böbrek içinde makula densa, renal sinirler, glomerüler visseral epiteli, afferent arteriol endodelinde lokalizedir(79,83,84). Fiziksel ve mekanik stress, spinal kord ve sinir yaralanmaları, iskemi, hipoksi ve plazma osmolaritesinin değişmesi gibi durumlarda nNOS sentezinin artışı bildirilmiştir (81). nNOS aracılı üretilen NO, nöral heyecanlanmanın düzenlenmesinde, uzun dönem

potentifikasyon veya depresyonun sinaptik plastisitesinde ve hafıza ve öğrenme süreçlerinde görevlidir(79).

2-İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz(iNOS

iNOS geni, 17. insan kromozomu üzerinde bulunur ve 37 kb'lık bir alanda 26 ekson içerir. İlk olarak fare makrofajlarındaki eksprese olan iNOS'un tanımlamasından bu yana birçok çalışma farklı hücre tiplerinde de iNOS ekspresyonunu yapıldığı kaydedilmiştir(81). iNOS'un insan dokusundan eksprese olduğu ilk olarak hepatositlerde gösterilmesinden sonra immunoaktif makrofajlar, monositler, miyositler, epitelyal ve endotelyal hücreler, astrositler, fibroblastlar, keratinositler, osteoblastlar ve nötrofiller/özonofiller tarafından da iNOS ekspresyonu gösterilmiştir (81,82) Böbrek dokusu içinde henle kulbunun çıkan kolunun kalın kısmı, S3 proksimal tübül, toplayıcı tüpler, arkuat arterde lokalizasyonu bildirilmiştir (83). iNOS indüksiyonu, esas olarak savunma sisteminin bir parçası olan inflamasyon ve enfeksiyon birlikteliğinde meydana gelirken, fizyolojik koşullar altında minimal eksprese edilmektedir (79).

Böbrekte NO sentezi, koşullardan çok çabuk etkilenmektedir, bu yüzden toplam NOS ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir rolü yokmuş gibi görünür ve bu durum böbrekteki NOS regülasyonunun moleküler incelemesini daha da zorlaştırır. Devam eden renal medullanın kapiller sistemindeki endotelyal hasarın ve beraberindeki damar yoğunluğunun azalmasının ilerleyici böbrek hasarına doğru asıl neden olduğunu düşündürmektedir (84).

İRİSİN

Yunan mitolojisinde insanlara tanrılardan iyi haber getiren ve gökkuşağı ile sembolize edilen Thamus ve Electra ‘nın kızı olan Iris’in isminden türemiştir(7). İrisin ilk olarak Boström ve arkadaşları tarafından kas hücresinden izole edilen 112 amino asitlik ve 12 kDa molekül ağırlıklı glikoprotein yapısında olan bir moleküldür. İskelet kasında FNDC5 molekülünün bilinmeyen bir proteaz ile parçalanmasıyla oluşan bir proteindir (7,85). PGC1α’nın iskelet kasındaki ekspressiyonunda özellikle uzun dönem egzersizle artış olurken tip 2 diyabet ve sedenter yaşam tarzı ile azalmaktadır. PGC1α’nın artması kilo alımı, inflamasyon, oksidatif stres, kas erimesi ve kemik kaybına karşı koruma sağlar ayrıca metabolik homeostazı korumak için organ cross-talk olayında katkıda bulunur (86,87).

Ana kaynağı sadece iskelet kası olmayan irisinin varlığı subkutan adipoz doku, kalp kası, beyin-omurilik sıvısı, insan anne sütü, tükürük ve serebellumdaki purkinje hücrelerinde de gösterilmiştir(8).İrisin doku dağılımını incelemek için, kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reksiyonu (PCR) ile 47 farklı insan dokusunda yapılan çalışma sonucunda en yüksek FNDC5, mRNA ekpressiyonunun kaslarda olduğu daha sonra perikardium ve rektum gibi kas içeren dokularda sonrasında kalp dokusunda olduğu ve kastaki miktarı ile karşılaştırıldığında böbrek, karaciğer, akciğer gibi majör organlarda ve yağ dokuda düşük seviyede olduğu gösterilmiştir (88).

Obez farelerde glikoz dengesini iyileştirip, vücut ağırlığını azalttığı, enerji harcanmasını artırarak termogenezi aktive ettiği beyaz yağ hücrelerini kahverengi yağ hücrelerine dönüştürdüğü gösterilmiştir (89).

İrisinin fizyolojik rolü ve terapötik değeri tartışmalı bir konudur. Fizyolojik olarak bakıldığında egzersize yanıt olarak görülen ve kahverengi yağ dokusunu oluşumuna neden olması çeşitli faktörlerden dolayı şaşırtıcıdır. İlki fiziksel aktivite süresince kas doku ve diğer organların enerji kaynakları olan serbest yağ asitlerinin beyaz yağ dokudan salınması kendi kendine bir enerji-tüketim süreci oluşturması. İkinci olarak iskelet kaslarının kasılmaları esnasında ısı açığa çıkarılarak titremesiz termogenez için azalmış bir talebin olması Cannon ve Nedergaard'ın tartıştığı bir konudur (90).

İrisin; enerji harcanmasını aktive etmek ve ısı açığa çıkışını arttırmak için hücre içinde iki şekilde etki eder. İrisin hormonu reseptörüne bağlandığında lipolizi aktive eden siklik adenozin mono fosfat (cAMP), protein kinaz A(PKA), hormon sensitif lipaz (HSL), perilipin yolağı aktive olur. Öncelikle hücre membranındaki adenilat siklaz enzimi aktive olur ve hücre içinde cAMP artışı gerçekleşir. Artan cAMP protein kinazı aktive ederek hormon sensitif lipazın aktive edilmesini sağlar. Aktive olan hormon sensitif lipaz etkisi ile lipoliz ve enerji harcanması artar. Diğer bir yol ise; FNDC5/irisin, nükleusu bilinmeyen bir şekilde uyarır. Uncoupling (eşleşmemiş) Protein 1 (UCP1) ekspresyonunu arttırarak elektron transport sisteminde ATP üretimini azaltır, ayırıcı gibi etki ederek ısı üretimini arttırırlar. UCP1'in ekspresyonunun artması ve dolayısıyla ısı üretiminin artması insülin rezistansı olan bireylerde ve obezlerde glikoz/yağ metabolizması açısından enerji harcanmasını sağlayan kazançlı bir olaydır(8,88,91).

Egzersiz dokudaki PGC-1α sentezini artırır. Bir membran protein olan FNDC5'in C-terminal ucundan bölünen irisin dolaşıma katılır. Adipositlerdeki bilinmeyen bir reseptöre bağlanan irisin, adipositlerin genetik profilini değiştirir. Özellikle UCP1

ekspresyonunu artıran bir aracı ile PPAR-α ekspresyonunu artırır. Beyaz yağ dokusunun esmerleşmesi mitokondri yoğunluğu ve oksijen tüketimi ile bağlantılıdır. Kahverengileşmenin en önemli göstergesi enerji tüketiminin artmasıdır (91). Egzersizle uyarılan yağ dokusunun PGC-1α veirisinyoluyla kahverengileşmesi Şekil 1'de gösterilmiştir.

Yang ve ark.(92), yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde altıncı haftada dolaşımdaki irisin düzeyinde belirgin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir.

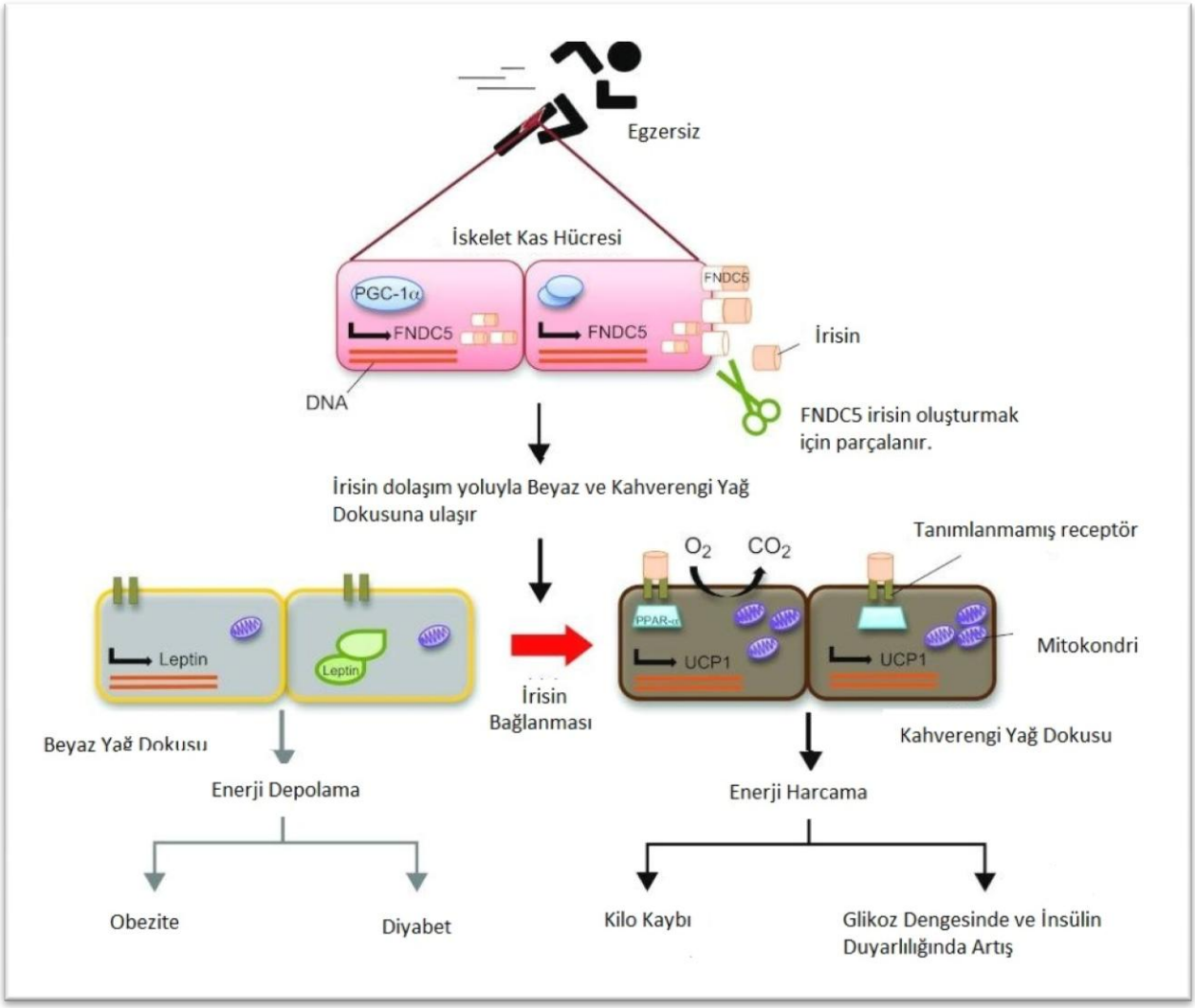
Paczek ve ark.(93) tek seferlik egzersiz veya dayanıklılık eğitiminin sıçanlarda serum irisin seviyesi üzerinde etkisinin olmadığı çalışmalarında, 60 adet wistar sıçan kullanılmış çalışmanın en şaşırtıcı sonucu, antrenmansız akut egzersiz ve antrenmanlı hayvanlar ile uzatılmış eğitim sonrasında serum irisin seviyelerinin stabil olduğunu rapor edilmiştir.

Balgetir ve Kocaman'ın (94) diyabetik sıçanlarda yapmış oldukları çalışmada, irisin immünoaktivitesi için yapılan incelemede kontrol grupları ile diyabet grubunda istatistiksel bir azalma, diyabet grubu ile diyabet+lasortan grubunda ise irisin seviyesinin anlamlı bir artış gösterildiği rapor edilmiştir.

Carmona ve ark.(95), kronik böbrek hastalığı tanısı almış hasta ve kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, tüm KBH grubundaki irisin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu rapor edilmiştir.

Ebert ve ark. (96), evre1 'den evre 5'e kadar gruplandırdıkları kronik böbrek hastalığı tanısı konulan hastalarda yapmış oldukları çalışmada, kronik böbrek hastalığı evreleri arttıkça irisin düzeyi azalmasının nedeni olarak miyokinin böbrek tarafından elimine edilmediğini rapor etmişlerdir.

Wen ve ark. (10), 5. evre kronik böbrek hastalığı tanılı hastaların bulunduğu çalışmada, irisin seviyesinin kontrol grubuna göre düşük olduğu gösterilmiş ve çalışmalarında kronik böbrek hastalığına sahip kişilerdeki irisin seviyesindeki azalmanın HDL ile pozitif ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir. Yukarıdaki bilgilerin ışığında irisinin deneysel MABH modelinde böbrek fonksiyonları ve fizyopatolojisi ile ilişkisini incelemeyi amaçladık.



Şekil 1. Egzersizle uyarılan yağ dokusunun PGC-1α ve irisin yoluyla kahverengileşmesi

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmamızda, Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Laboratuvarı'nda yetiştirilen ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 °C, %55±5 nem oranında ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 170-200 g ağırlığında 9-10 haftalık Spraque-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda sıçanlara, standart sıçan yemi ve içme suyu verildi. Çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Ek-1) onay alındı.

Çalışmamızda kontrol ve MABH grubu olmak üzere 2 grupta 42 adet sıçan kullanıldı. Kontrol grubu her grupta 6 sıçan içeren 6, 24 ve 48. saatlik gruplar olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı.MABH grubu her grupta 8 sıçan içeren 6, 24 ve 48. saatlik gruplar olmak üzere 3 alt gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki sıçanlar fizyolojik serum (FS), MABH grubundaki sıçanlar intramüsküler (im) gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce susuz bırakıldı. İlk enjeksiyondan sonra serbest diyet ve su alımı sağlandı. Kontrol grubu sıçanlarına FS, MABH grubundaki sıçanlara %50'lik gliserol solusyonundan 8 ml/kg'a göre bulunacak toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacak kaslarına enjekte edildi.

6. Saat Kontrol Grubu (K-6),6 adet sıçana 8 ml/kg'a göre FS intramüsküler enjeksiyonunu takiben 6. saate kan, idrar ve doku örnekleri alındı.

24. Saat Kontrol Grubu (K-24),6 adet sıçana8 ml/kg'a göre FS intramüsküler enjeksiyonunu takiben 24. saate kan, idrar ve doku örnekleri alındı.

48. Saat Kontrol Grubu (K-48),6 adet sıçana8 ml/kg'a göre FS intramüsküler enjeksiyonunu takiben 48. saate kan, idrar ve doku örnekleri alındı.

6. Saat MABH Grubu (MABH-6), 8 adet sıçana 8 ml/kg'a göre %50'lik gliserolün enjeksiyonunu takiben 6. saatte kan, idrar ve doku örnekleri alındı.

24. Saat MABH Grubu (MABH-24), 8 adet sıçana 8 ml/kg'a göre %50'lik gliserolün enjeksiyonunu takiben 24. saatte kan, idrar ve doku örnekleri alındı.

48. Saat MABH Grubu (MABH-48), 8 adet sıçana 8 ml/kg'a göre %50'lik gliserolün enjeksiyonunu takiben 48. saatte kan, idrar ve doku örnekleri alındı.

Sıçanlar, 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alınarak, eksanguinasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı. Batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyafragmadan kalbe ulaşılarak ponksiyonla alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için biyokimya tüplerine ve etilendiamin tetraasetikasit (EDTA) içerentüplere alındı. Daha sonra her iki böbrek çıkarılarak buz kalıbı üzerine konuldu, böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı histopatolojik incelemeler için % 10'luk fosfat tamponlu formalin solüsyonuna alındı, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarıları soğuk fizyolojik serumla yıkandıktan sonra alüminyum folyo ile paketlendi ve laboratuar çalışmaları yapılıncaya kadar -80^{o}C'de koruma altına alındı. Metabolik kafeslerde toplanan idrar hacimleri ölçüldü. Kan ve idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 derecede, 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek serum ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak laboratuar çalışmaları yapılıncaya kadar -80^{o}C'de muhafaza edildi.

Plazma Toplama Protokolü

Kan örneklerinin alımı sırasında ilk olarak EDTA'lı tüplere kan aktarıldı ve pıhtılaşmasını engellemek için nazikçe karıştırıldı. Proteazların etkinliğini inhibe etmek için önceden hazırlanan ve içerisinde 1 ml için 100 µl aprotinin içeren ependorf tüplerine 1,0 ml EDTA'lı örnekler aktarılarak nazikçe karışması sağlandı. Daha sonra +4 derecede, 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Elde edilen plazma ependorf tüplerine aktarılarak 1 ay içerisinde çalışılmak üzere -80^{o}C'de koruma altına alındı.

Kullanılan Cihazlar:

Derin dondurucu	: Thermo Elektron Corporation, USA
Hassas terazi	: Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre
Soğutmalı santrifüj	: MPW 350R, Polonya
Vorteks	: Heidolp, Almanya
pH metre	: InoLab, Level 1, Almanya

Manyetik karıştırıcı	: Biosan MSH-300,Litvanya
Homojenizatör	: Polytron Kinematica AG, İsviçre
Spektrofotometre	: Spectronic Unicam Helios α, İngiltere
Su banyosu	: Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere
Otomatik pipetler	: Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre, Eppendorf Multipipette/Repeate(Xstream), Almanya
Otoanalizör	: Abbot Architect c16000, Amerika
ELISA okuyucu	: Biotek,µQuant, Amerika

Kullanılan Kimyasal Maddeler:

İrisin Elisa Kiti	: Phoenix Pharmaceuticals, Catalog: EK-067-52
FNDN5 Antikoru	: Phoenix Peptide
Aprotinin	: Phoenix Peptide
Tiyobarbitürikasit	: Sigma, Almanya
Sülfanilamid	: Sigma, Almanya
DTNB	:Sigma, Almanya
NaCl	: Sigma, Almanya
NNDA	: Sigma, Almanya
$CuSO_4$	:Panreac, İspanya
EDTA	: Merck, Almanya
Piridin	: Merck, Almanya
Sodyum DodesilSülfat	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
KH_2PO_4	: Merck, Almanya
Na_2HPO_4	: Merck, Almanya
Glisin	: Merck, Almanya
KCl	: Merck, Almanya
HCl	: Merck, Almanya
Butanol	: Riedel de Haen, Almanya
Etanol	: Riedel de Haen, Almanya
Asetik asit	: Riedel de Haen, Almanya
Na_2CO_3	: Riedel de Haen, Almanya
iNOS antikor	: Spring, Amerika
eNOS antikor	: Spring, Amerika

Gliserol : Sigma, Almanya

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum üre, kreatinin, sodyum, potasyum düzeyleri ile alaninaminotransferaz (ALT), aspartataminotransferaz (AST) ve kreatinkinaz (CK) aktiviteleri; idrar kreatinin ve sodyum ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizörde (Abbott Architect c16000, Amerika) yapıldı.

Kreatinin klirensi,standart klirens formülüne kullanılararak hesaplandı(97,98).

$$\text{Kreatinin klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinin (mg/dl) X Günlük idrar hacmi (ml)}}{\text{Serum kreatinin (mg/dl) X 1440}}$$

Fraksiyonel sodyum atılımı (FeNa) % olarak hesaplandı.

$$\text{FeNa (\%)} = \frac{\text{İdrar Na (mmol/l) X Serum kreatinin (mg/dl) X 100}}{\text{İdrar kreatinin (mg/dl) X Serum Na (mmol/l)}}$$

Böbrek Dokusu Homojenizasyonu

Böbrek dokuları –80 ˚C'den çıkarıldıktan sonra buzu çözülmeden kesilerek tartıldı. Bistüri ile kesilen dokular tüplere konuldu. GSH ve MDA düzeyleri için 0.15 M KCl solüsyonu; NO düzeyi için 50 mM fosfat tamponu (pH=7.4) ile %10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Tüpler buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 4000xg'de 10 dakika (dk) +4 ˚C'de santrifüj edildi ve ardından süpernatant kısmı ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA, NO, GSH düzeyleri ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipit peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehitin (MDA) tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asitik ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan renk değişimi (pembe) spektrofotometrik olarak ölçüldü (99, 100).

Çözeltiler:

1. %8.1'lik Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

2. %20'lik Asetik Asit (2M NaOH ile pH3.5'e ayarlandı.)

3. %0.8'lik Tiyobarbitürik Asit (TBA)

Deneyin yapılışı:

0.2 ml 10 kat dilüe edilmiş doku homojenatı; 0.2 ml %8.1'lik SDS, 1.5 ml %20'lik asetik asit, 1.5 ml %0.8'lik TBA ve 0.6 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım 95 ˚C'deki sıcak su banyosunda 1 saat tutuldu. Musluk suyu ile soğutulduktan sonra 4000 rpm'de 10 dakika (dk) santrifüj edildi. Absorbanslarhomojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 650nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların hesaplanması:

$$C\ (nmol/ml) = \frac{A \times Vt \times 10^9}{E \times Vs \times L \times 10^3}$$

A : Absorbans

Vt : Total reaksiyon hacmi

10^9 : Molün nanomole çevrilmesi

E : Tüketim katsayısı ($1.56\ 10^5\ M^{-1}\ cm^{-1}$)

Vs : Total reaksiyon içindeki numune hacmi

L : Küvet çapı

10^3 : Litrenin mililitreye çevrilmesi

Sonuçlar MDA nmol/g yaş doku olarak ifade edildi.

Glutatyon Düzeyinin Ölçümü

Doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayıracı ile oluşturduğu rengin spektrofotometrik olarak saptanması, glutatyon (GSH) içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (99,100)

Çözeltiler:

1. Proteinsizleştirme çözeltisi: 120 g NaCl, 6.68 g metafosforik asit ve 0.8 g sodyum-EDTA tartıldı ve 400 ml distile suda çözüldü.

2. 0.3 M Disodyum fosfat (Na_2HPO_4)

3. 1 mM Elman ayıracı: 4mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml %1'lik sodyumsitrat çözeltisinde çözüldü.

Deneyin yapılışı: 0.5 ml doku homojenatı üzerine 1.5 ml 0.15 M KCI ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dksantrifüj edildikten

sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na_2HPO_4 ve 0.5 ml Ellman ayıracı eklendi. Absorbanslarhomojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\sum$=1.36 10^4 M^{-1} cm^{-1}) kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar µmol GSH/g doku olarak belirtildi.

Nitrat ve Nitrit Tayini

Nitrat ve nitrit tayini Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yönteme göre ölçüldü(101). Kullanılan reaktifler:

1. Kadmiyum Granülleri: 0.1mol/L H_2SO_4 içinde saklandığı sürece 9 ay stabildir.

2. Glisin-NaOH Buffer: 7,5 g glisin bir miktar distile suda çözüldü. 2 mol/L NaOH çözeltisi ile pH'sı9.7'ye ayarlandı. Bu çözelti 1 ay 0-8 ºC'de stabildir.

3. Sülfanilamid: 2,5 g sülfanilamid 250 ml sıcak 3 mol/L HCl içinde çözüldü ve daha sonra soğumaya bırakıldı. 1 yıl oda sıcaklığında stabil kalabilir.

4. N-Naphthylethylenediamine (NNDA): 50 mg NNDA 250 ml distile su içinde çözüldü. 2 ay 0-8 ºC de stabildir.

5. Çinko Sülfat ($ZnSO_4$): 75 mmol/L; 10,8 mg alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

6. Bakır Sülfat ($CuSO_4$): 5 mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye tamamlandı.

7. Sodyum Hidroksit (NaOH): 55 mmol/L; 1,1 g alınıp 500 ml'ye tamamlandı.

8. Standartlar: $NaNO_2$ standardı 10 mmol/L'lik sodyum tetra borat çözeltisi içinde hazırlanır. (69 mg $NaNO_2$, 380 mg borat ($Na_2B_4O_7$.10 H_2O) 100 ml içinde çözülür).

KNO_3 standardı; 102 mg potasyum nitrat alınıp 10 mmol'lik 100 ml sodyum tetra borat içinde çözülür.

Deneyin yapılışı*:*

Deproteinizasyon: Test tüpüne 0.5 ml numune 0.5 ml distile su, 2 ml $ZnSO_4$, 2.5 ml NaOH ilave edilip vorteksle karıştırılır. 10 dk oda ısısında beklettikten sonra 4000 xg'de 10 dksantrifüj edildi.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu: Granüller 3 defa distile su ile yıkanır. 1-2 dk içinde $CuSO_4$'de çalkalanarak bekletilip, 3 defa da glisin-NaOH ile yıkanıp 10 dk içinde kullanılmak üzere kurutma kâğıdı ile kurutuldu.

KNO3 standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulanır. 1ml glisin-NaOHbuffer tüm tüplere konulur. 1'er ml deproteinize numunelerden ve

standartlardan alınır. 2.5 g tartılan ve aktivasyon işleminden geçirilen kadmiyumlardan tüm tüplerin üzerine konulur. 90 dk oda ısısında karıştırarak beklenir.

Nitrit Ölçümü

90 dk'lık bekleme süresinin ardından bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edilir. Karıştırılır ve 45 dk beklendikten onra 545 nm'de okuma yapılır. Direkt nitrit ölçümü: $NaNO_2$ standartlarından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve deproteinize numunelerden kadmiyum ile reaksiyona sokmadan direkt olarak 2'şer ml alınarak ayrı tüplere aktarılır. Üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA eklenir. 45 dk'lık sürenin ardından 545 nm'de okuma yapılır.

Nitrat Ölçümü

Bulunan nitrat değerlerinden nitrit değerleri çıkarıldıktan sonra sulandırma faktörü olan 20 ile çarpılıp yine nitrat standardından elde edilen faktör ile çarptıktan sonra çıkan sonuç µmol/mg protein olarak hesaplanmış olur.

Protein Miktarı Tayini

Protein miktar tayini Lowry metoduna göre yapıldı (102).

Çözeltiler:

A Çözeltisi: %2'lik Na_2CO_3'ın 0,1 N NaOH'teki çözeltisi

B Çözeltisi: %1'lik $CuSO_4$ çözeltisi

C Çözeltisi: %2'lik Sodyum Potasyum tartarat çözeltisi

D Çözeltisi: 98 hacim A çözeltisi + 1 hacim B çözeltisi + 1 hacim C çözeltisi karışımı

E Çözeltisi: 1 hacim Folin Fenol belirteci + 1 hacim distile su karışımı

Bovin Serum Albumin (BSA) Çözeltisi: Standart protein çözeltisi olarak kullanılan BSA 10 mg/ml konsantrasyondaki stok çözeltiden 1, 2, 3, 5, 7,5, 10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Test ve standart tüplerine 490 µl, kör tüpüne 500 µl distile su kondu. Tüm tüplere 2,5 ml D çözeltisi ilave edildikten sonra, test tüplerine 10 kat dilüe edilmiş numuneden 10 µl; standart tüplerine de 10 µl her bir standarttan ilave edildi ve tüpler vorteks ile iyice karıştırıldı. Karanlıkta oda ısısında 10 dk bekletildikten sonra, tüm

tüplere 250 µl E çözeltisi eklendi. 25 ^{o}C'de 30 dk bekletildikten sonra, spektrofotometrede 650 nm'de köre karşı sıfırlanarak okuma yapıldı.

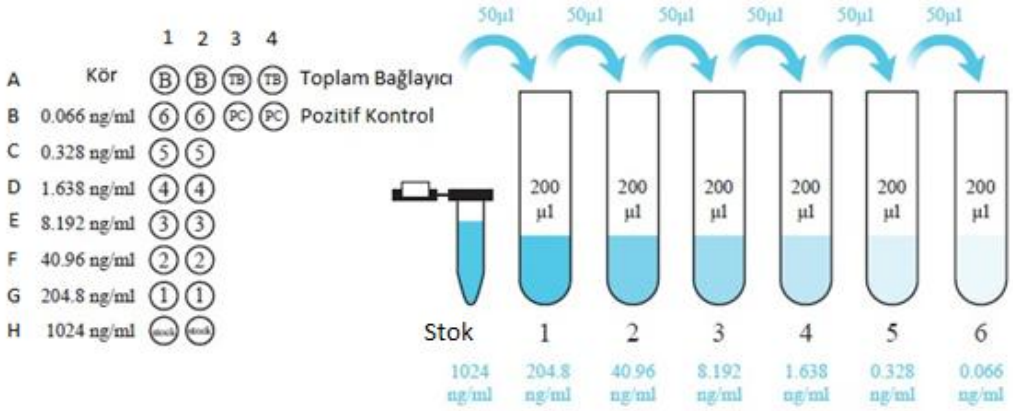
ELISA Çalışmalar

Plazma irisin ve idrar irisin ölçümleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuarında yapıldı.

ELISA Çalışılması:

Deney başlamadan, vialler açılmadan önce kit ve materyalleri oda sıcaklığına (20-23 ºC) getirildi.

1. Konsantre 10X yıkama tamponu 450 ml distile su ile dilüe edildi.
2. 1000 µl dilüsyon tampon çözeltisi ile irisin standartları sulandırıldı ve iyice karışması için vortekslendi.
3. İrisin antikoru 6 ml 1X dilüsyon tampon çözeltisi ile dilüe edildi ve iyice karışması için vortekslendi.
4. İrisin biotini 6 ml 1X dilüsyon tampon çözeltisi ile dilüe edildi ve iyice karışması için vortekslendi.
5. İrisin pozitif kontrolü antikoru 1000 µl 1X dilüsyon tampon çözeltisi ile dilüe edildi ve iyice karışması için vortekslendi.
6. A-1 ve A-2 kör için boş bırakıldı.
7. Şekil-2'deki gibi hazırlanan standart solüsyonlardan düşük değerlikli olandan yüksek olana doğru B-1 ve B-2 kuyucuklarından başlanarak her iki kuyucuğa 50 µl standart solüsyonlar eklendi. H-1 ve H-2'e kadar devam edildi.
8. A-3 ve A-4 kuyucuklarına 50 µl 1x dilüsyon tampon çözeltisi eklendi. Bu kuyucuklar Toplam Bağlanmayı temsil etti.
9. B-3 ve B-4 kuyucuklarına irisin pozitif kontrol eklendi.
10. Diğer kuyucuklara 50 µl örnekler eklendi.
11. 'Kör' kuyucuğu hariç her kuyucuğa irisin antikoru eklendi.
12. Plakanın üzeri, jelatin plaka ayırıcı ile kapatılarak 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı.



Şekil 2.Standart solüsyonların dilüsyonu

13. Kuyucuklar boşaltılmadan üzerinde bulanan jelatin çıkarıldı ve kör kuyucuk hariç her kuyucuğa 50 µl irisin biotin eklendi.
14. Plakanın üzeri, jelatin plaka ayırıcı ile kapatılarak 2 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresince orbital karıştırıcıda 300-400 rpm'de karıştırıldı.
15. 100X SA-HRP vialinin karışması için 3000 – 5000 rpm'de 5 saniye santrifüj edildi. 120 µl olan bu kontsantrenin içine 11,88 ml HRP dilüsyon tampon solüsyonu eklenerek dilüe edildi. Kutu içine konularak ışıktan korundu.
16. Plakanın üzeri dikkatlice açıldı ve içi boşaltıldı. Her kuyucuğa 300 µl 1X yıkama tampon solüsyonu eklendi, plaka ters çevrilerek boşaltıldı. Bu işlem 3 defa tekrarlandı.
17. 100X konsantre streptavidin-horseradish peroksidaz (SA-HRP) solüsyonundan kör kuyucukta dahil olmak üzere 100 µl eklendi. Plakanın üzeri kapatılıp 60 dakika orbital karıştırıcı da 300-400 rpm'de inkübasyona bırakıldı. Bu esnada ışıktan korunması sağlandı.
18. Plakanın üzeri dikkatlice açıldı ve içi boşaltıldı. Her kuyucuğa 300 µl 1X yıkama tampon solüsyonu eklendi, plaka ters çevrilerek boşaltıldı. Bu işlem 3 defa tekrarlandı.
19. Her kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu (TMB) eklendi. TMB'nin de ışıktan korunması sağlandı.
20. Plaka üzeri kapatıldı ve 3-7 dakika orbital karıştırıcı da 300-400 rpm'de inkübasyona bırakıldı.

21. Plaka üzeri içi boşaltılmadan açıldı. Reaksiyonun sonlanması için her kuyucuğa 100 µl sonlandırma solüsyonu (0,5 M HCl) eklendi.
22. 15 dakika içerisinde, 450 nm'de absobans değerleri ELISA okuyucuda ölçüldü.

Histolojik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Böbrek dokusu örnekleri, %10 formalin solüsyonu içerisinde 24 saat oda sıcaklığında bekletildi ve sonra parafin bloklara gömüldü. Kesitler saf alkolden başlayarak %99,9-90-80-70-60'lık alkollerden geçirildikten sonra distile su ile yıkandı. Dokular ksilene maruz bırakıldı ve şeffaflığını artırmak için parafinize edildi ve parafin blokları yapıldı. 4µ inceliğindeki bölümler Hematoksilin&Eozin(H&E) ile boyandı ve genel histopatolojik değerlendirme için irisin (Bioss FNDC5 BS-4886-R), iNOS (Spring REF E3744) ve eNOS (Neomarkers RB-9279-P) antikorları ile immunohistokimyasal boyama için hazırlandı. Doku lamları, 37°C'de gece boyunca ve 56 °C 2 saat inkübe edildi. 3 kere 10 dakika ksilen serisinde 60 °C, % 96, 80, 70 alkol serisinde 3 kere uygunlandıktan sonra distile su yıkanmıştır. "Sitrat buffer 10X pH 8,0" (Code: 15-M820, Lot.50930) antijen alımı için kullanıldı (95-100 ºC'de 20 dakika/düşük oda sıcaklığında 20 dakika). PBS, %3 H_2O_2 ile endojen peroksit bloklamasından sonra 10 dakika uygulandı. Endojen peroksit kaynaklı nonspesifik zemin boyanmasını azaltmak amacıyla %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) ile 20 dakika muamele edildi. Lamlar oda sıcaklığında 45 dakika FNDC5 antikoru ile inkübe edildi. Sonra standart immünoperoksidaz boyama metodu basamakları uygulandı. Boyama grupların özellikleri hakkında bilgi sahibi olmayan patologlar tarafından değerlendirildi. Lamlar Olympus BX-51 mikroskobu ile değerlendirildi. Axioplan 2 görüntüleme, MC80 DX programları bölümlerden görüntü almak için kullanıldı. Doku bölümleri 0-4 arasında daha önce tarif edilen semikantitatif ölçek baz alınarak tübüler nekrozun derecesi değerlendirildi; 0, Normal böbrek, 1, Minimal nekroz (<%5 tutulum), 2,Hafif nekroz (%5-25 tutulum), 3,Ilımlı nekroz (%25-75 tutulum), 4, Şiddetli nekroz (>%75 tutulum). Tüm immünopozitif hücreler rasgele 10 yüksek güçlü kesit bölümünde skorlandı (x400). Her olgu için boyalı hücreler skorlandı ve yüzdelendi. Boyanmanın yaygınlığı 0 (% 0-5), 1 (% 6-24), 2 (% 25-49), 3 (% 50-74) ve 4 (≥% 75) olarak derecelendirildi. Boyama yoğunluğu 0 (negatif), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (kuvvetli) olarak derecelendirildi. İki derece 0-300 arasındaki immünoaktive skorunu elde etmek için çarpıldı(103, 104).

İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık için sınır değer olarak belirlendi. İstatistiksel analizlerde SPSS 20,0 (Lisans No:10240642) paket programı kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda toplam 42 adet sıçan kullanıldı. Kontrol grubunda altışarlı olarak 3 gruba ayrıldı ve 18 sıçan kontrol grubu için kullanıldı. MABH grubunda toplam 24 sıçan sekizerli olarak 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara serum fizyolojik eşit miktarda arka bacak kaslarına intramuskuler olarak yapıldı. MABH grubundaki sıçanlara ise %50'lik gliserol solüsyonundan 8 ml/kg dozunda eşit miktarda arka bacak kaslarına intramuskuler olarak yapıldı. Enjeksiyonlardan sonra kontrol ve MABH grubundan birer grup her 6, 24, ve 48 saatlerde 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alınarak sakrifiye edildi. Deney boyunca gruplarda herhangi bir kayıp yaşanmadı.Ancak MABH-6 grubunda yeterli idrar toplanamadığı için K-6 ve MABH-6 gruplarındaki idrar değerleri verilmemiştir. 6. Saat MABH grubundan 2 deneğin serum kreatin kinaz (CK) düzeyi ölçülemedi.

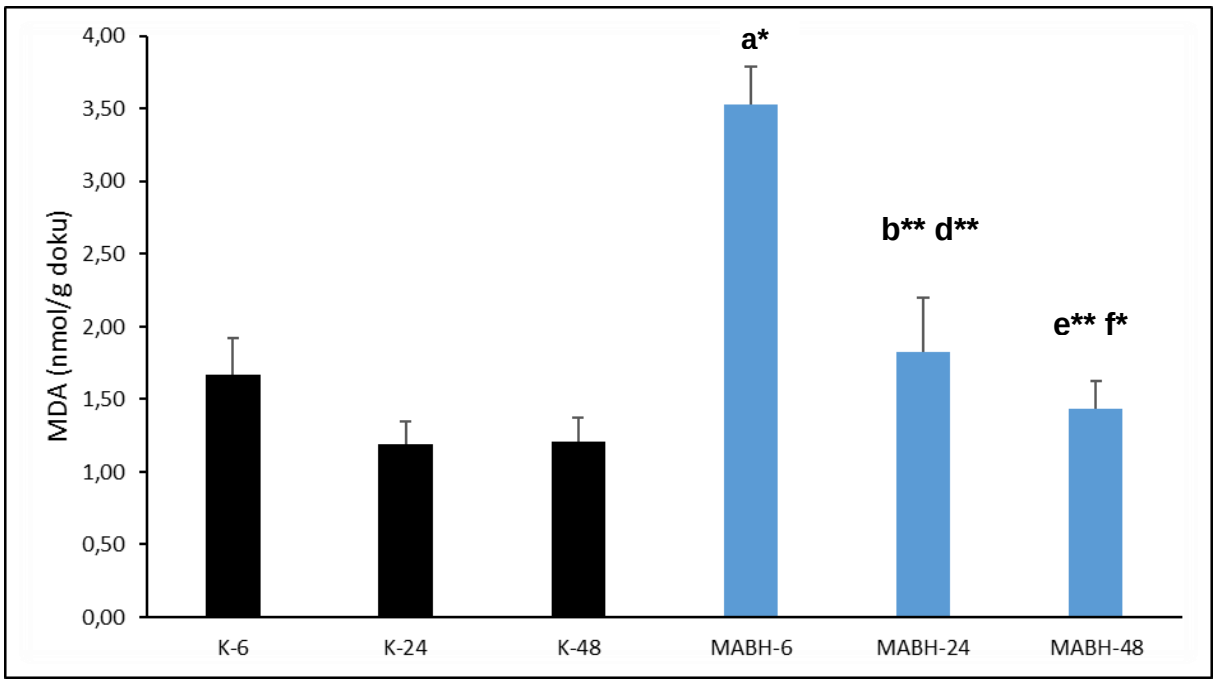
Tüm gruplardaki sıçanlara ait, doku MDA düzeyi nmol/g doku, doku GSH düzeyleri µmol/g doku, serum NO µmol/L, idrar NO µmol/L, doku NO düzeyi µmol/mg protein, plazma irisin ng/ml, idrar irisin ng/nl, serum sodyum (Na) düzeyi mmol/l, serum potasyum (K^+) düzeyi mmol/l, serum üre düzeyi mg/dl, serum kreatinin düzeyi mg/dl, serum alanin aminotransferaz (ALT) düzeyi U/l,serum aspartat aminotransferaz (AST) düzeyi U/l, serum kreatin kinaz (CK) düzeyi U/l, Laktatdehidrojenaz (LDH) U/L, idrar kreatinin düzeyi mg/dl, idrar sodyum (Na) düzeyi mmol/L, idrar hacmi ml olarak hesaplandı. Tüm gruplara ait değişkenlerin ortalama±standart sapma değerleri Tablo 2'de gösterildi.

Tablo 2. Tüm grupların değişkenlerine ait Ortalama ± Standart Sapma verileri

	Kontrol Grup (6. Saat) (K-6)	MABH Grup (6. Saat) (MABH-6)	Kontrol Grup (24. Saat) (K-24)	MABH Grup (24. Saat) (MABH-24)	Kontrol Grup (48. Saat) (K-48)	MABH Grup (48. Saat) (MABH-48)
Parametreler	**Ort ± SD**	**Ort ± SD**	**Ort ± SD**	**Ort ± SD**	**Ort ± SD**	**Ort ± SD**
MDA (nmol/g doku)	1,67 ± 0,25	3,53 ± 0,26	1,19 ± 0,16	1,82 ± 0,38	1,21 ± 0,16	1,43 ± 0,19
GSH (µmol/g doku)	2,74 ± 0,45	1,62 ± 0,26	2,18 ± 0,20	1,87± 0,36	2,74 ± 0,21	2,54 ± 0,49
Böbrek NO (µmol/mg protein)	15,81 ± 9,55	40,66 ± 53,73	32,86 ± 37,97	18,08 ± 15,86	27,81 ± 26,61	6,52 ± 10,16
Serum NO (µmol/l)	11,90 ± 2,05	8,58 ± 5,38	12,93 ± 2,49	12,57 ± 5,65	12,08 ± 4,68	11,17 ± 3,30
İdrar NO (µmol/l)	-	-	720,54 ± 231,97	103,85 ± 174,94	692,67 ± 199,66	134,75 ± 161,84
Plazma İrisin (ng/ml)	243,77 ± 44,86	239,00 ± 42,36	230,40 ± 38,41	237,26 ± 37,15	235,27 ± 38,36	289,05 ± 39,16
İdrar İrisin (ng/ml)	-	-	213,39 ± 17,39	42,93 ± 17,00	161,75 ± 42,07	29,61 ± 11,57
Serum Na^+ (mmol/l)	135,17 ± 5,23	134,25 ± 11,88	128,50 ± 6,86	131,63 ± 3,96	137,83 ± 7,78	132,00 ± 4,54
Serum K^+ (mmol/l	4,63 ± 0,41	5,74 ± 0,86	4,87 ± 0,54	6,20 ± 1,23	4,75 ± 0,73	9,19 ± 0,90
Serum Üre mg/dl)	39,50 ± 4,68	172,13 ± 23,93	41,33 ± 3,78	409,63 ± 93,42	42,67 ± 6,80	662,38 ± 102,64
Serum Kreatinin (mg/dl)	0,43 ±0,03	1,24 ± 0,19	0,39 ± 0,02	2,85 ± 0,98	0,43 ± 0,04	4,41 ± 0,89
ALT (U/l)	32,17 ± 4,45	338,75 ± 172,74	37,33 ± 2,73	156,00 ± 63,69	43,50 ± 11,04	102,88 ± 47,59
AST (U/l)	133,17 ± 23,02	2011,25 ± 698,58	114,00 ± 12,59	1765,00 ± 862,58	129,17 ± 23,62	498,00 ± 111,32
CK (U/l)	729,67 ± 179,99	62773,17 ± 22561,17	626,67 ± 158,15	5481,50 ± 5898,91	680,67 ± 167,28	731,63 ± 135,68

LDH (U/l)	811,83 ± 172,97	13755,75 ± 3030,83	888,00 ± 415,85	4547,13 ± 2611,41	1118,83 ± 302,14	2004,50 ± 518,51
İdrar Kreatinin (mg/dl)	-	-	68,17 ± 2,93	25,14 ± 7,82	61,50 ± 9,70	16,88 ± 5,62
İdrarNa^+ (mmol/l)	-	-	18,67 ± 4,18	43,00 ± 24,61	25,83 ± 14,99	51,13 ± 23,31
İdrar Hacmi (ml/24saat)	-	-	11,00 ± 0,94	7,06 ± 8,90	11,33 ± 2,25	11,25 ± 5,39
Kreatin Klirensi (ml/dk)			1,33 ± 0,16	0,067 ± 0,11	0,93 ± 0,43	0,05 ± 0,05
FeNa %			0,08 ± 0,02	4,36 ± 4,10	0,13 ± 0,07	10,35 ± 9,63

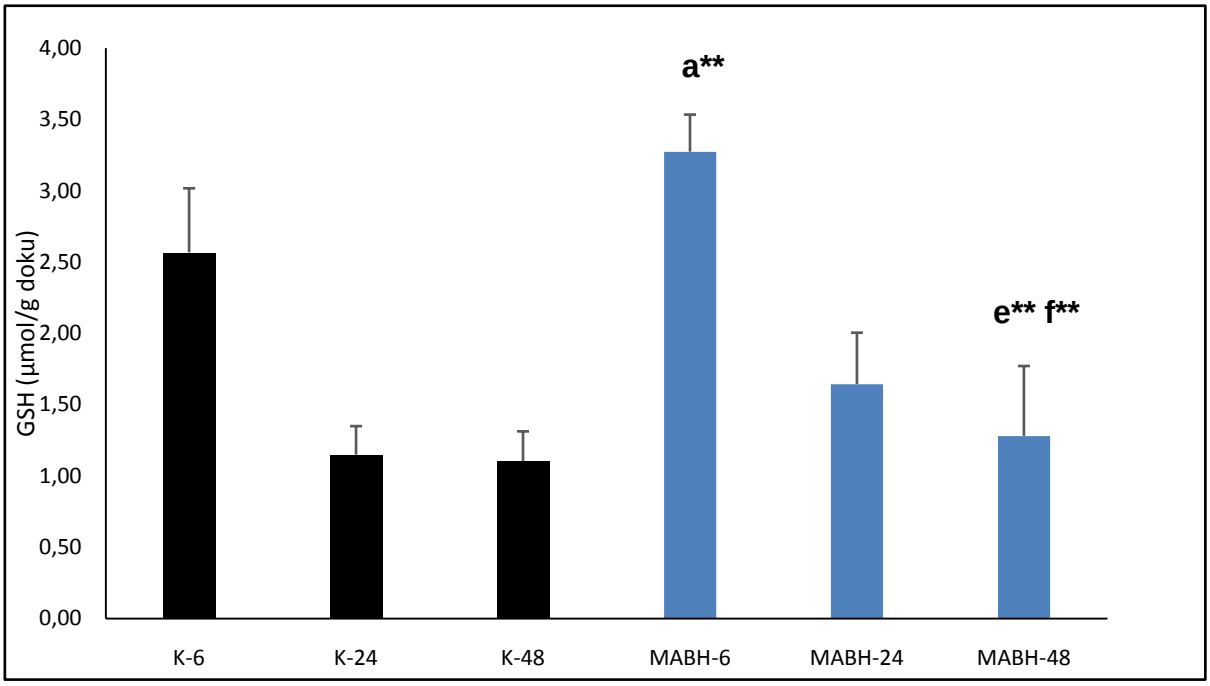
Gruplar arası ortalama MDA düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6 ($p<0,01$) veK-24ileMABH-24 ($p<0,01$) arasında anlamlı bir artış görüldü. MABH-6 ileMABH-24 ($p<0,01$), MABH-6 ileMABH-48 ($p<0,01$) veMABH-24 ileMABH-48 ($p<0,05$) arasında anlamlı bir azalma görüldü. Gruplara göre ortalama MDA düzeylerinin dağılımı Şekil 3'de gösterildi.



Şekil 3. Gruplar arası ortalama MDA düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu. a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma *: $p<0,05$, **: $p<0,01$

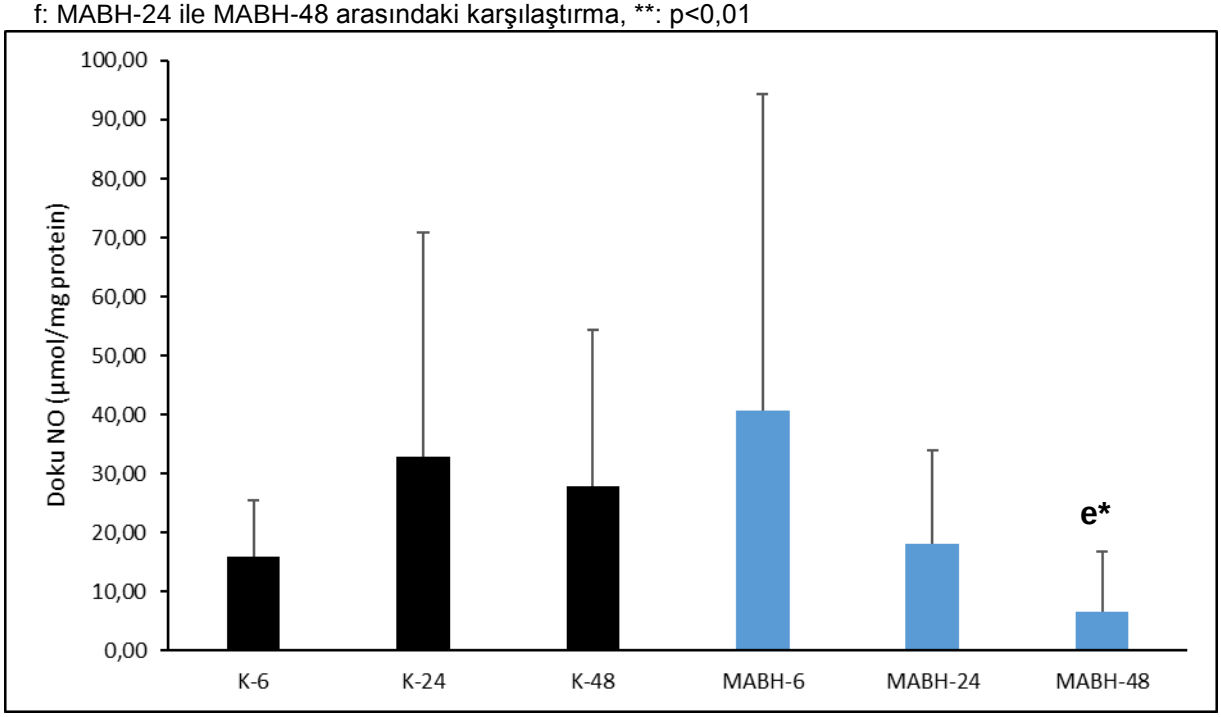
Gruplar arası ortalama GSH düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6ileMABH-6 arasında anlamlı bir artma görüldü ($p<0,01$). MABH-6 ileMABH-48 ve MABH-24 ileMABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,01$). Gruplara göre ortalama GSH düzeylerinin dağılımı Şekil 4'de gösterildi.

Gruplar arası ortalama böbrek doku NO düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, MABH-6 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre böbrek doku ortalama NO düzeylerinin dağılımı Şekil 5'de gösterildi.



Şekil 4. Gruplar arası ortalama GSH düzeylerinin karşılaştırılması

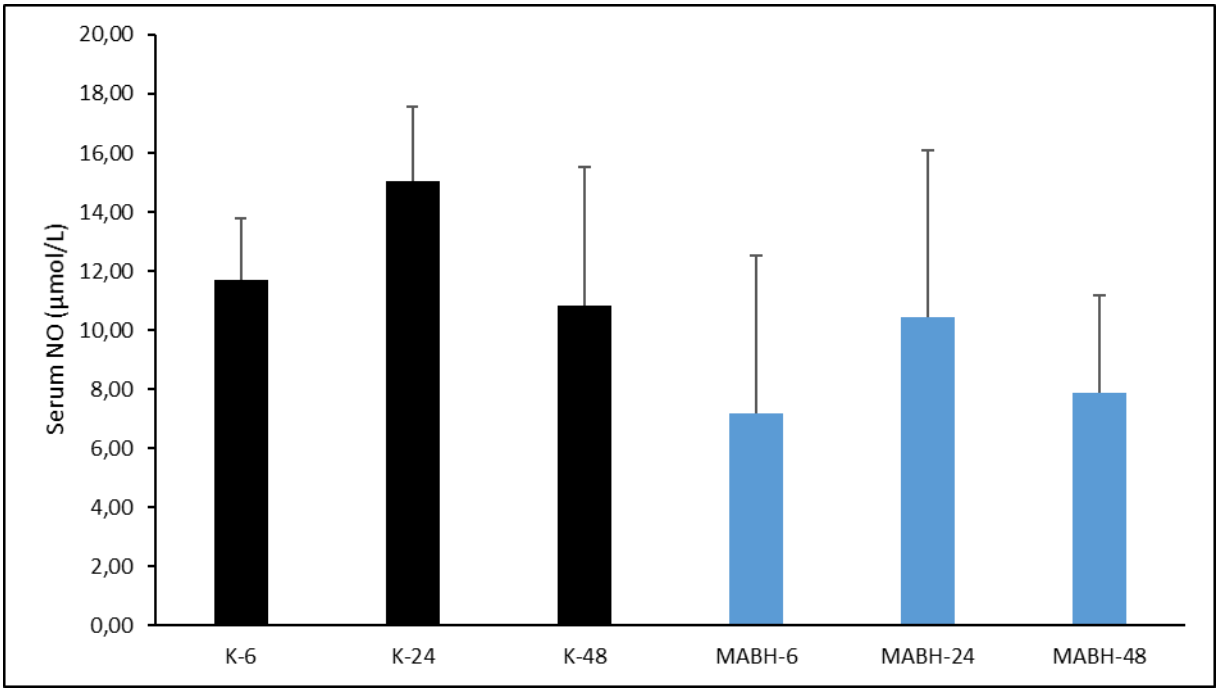
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu. a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **: p<0,01



Şekil 5. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu NO düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05

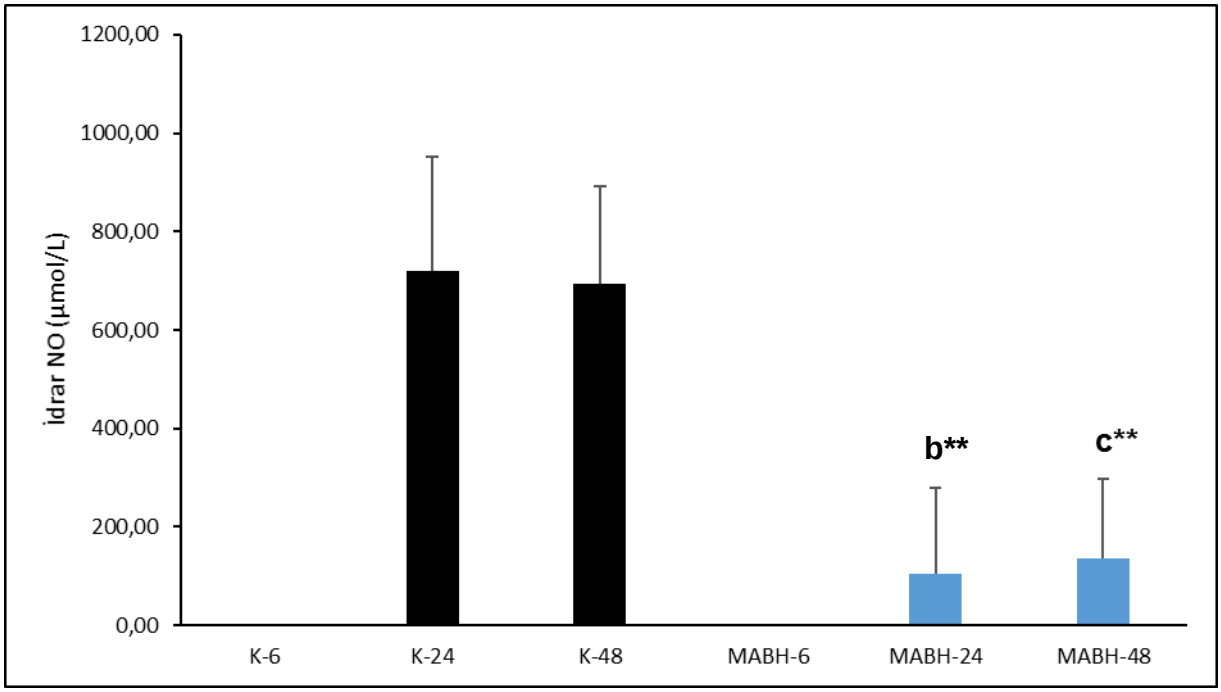
Gruplar arası ortalama serum NO düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. Gruplara göre ortalama serum NO düzeylerinin dağılımı Şekil 6'da gösterildi.



Şekil 6. Gruplar arası ortalama serum NO düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu

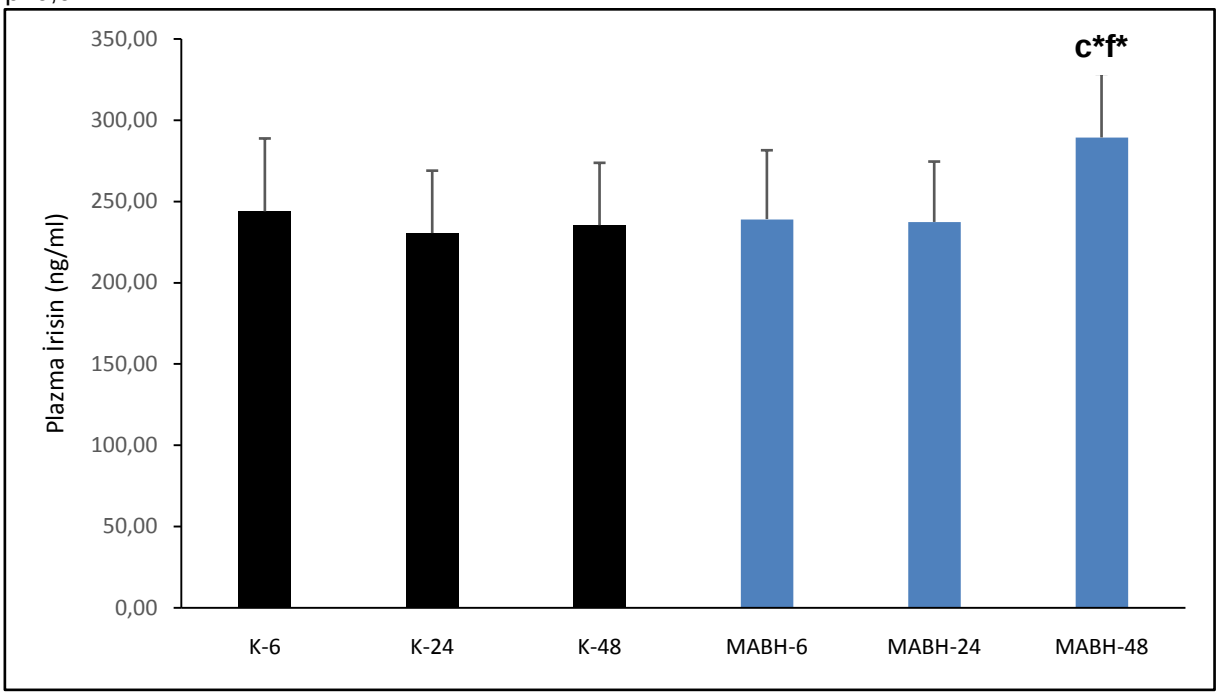
Gruplar arası ortalama idrar NO düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24 ve K-48 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre ortalama idrar NO düzeylerinin dağılımı Şekil 7'de gösterildi.

Gruplar arası ortalama plazma irisin düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde,K-48 ve MABH-48 ile MABH-24 ve MABH-48 arasındaanlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre ortalama plazma irisin düzeylerinin dağılımı Şekil 8'de gösterildi.



Şekil 7. Gruplar arası ortalama idrar NO düzeylerinin karşılaştırılması

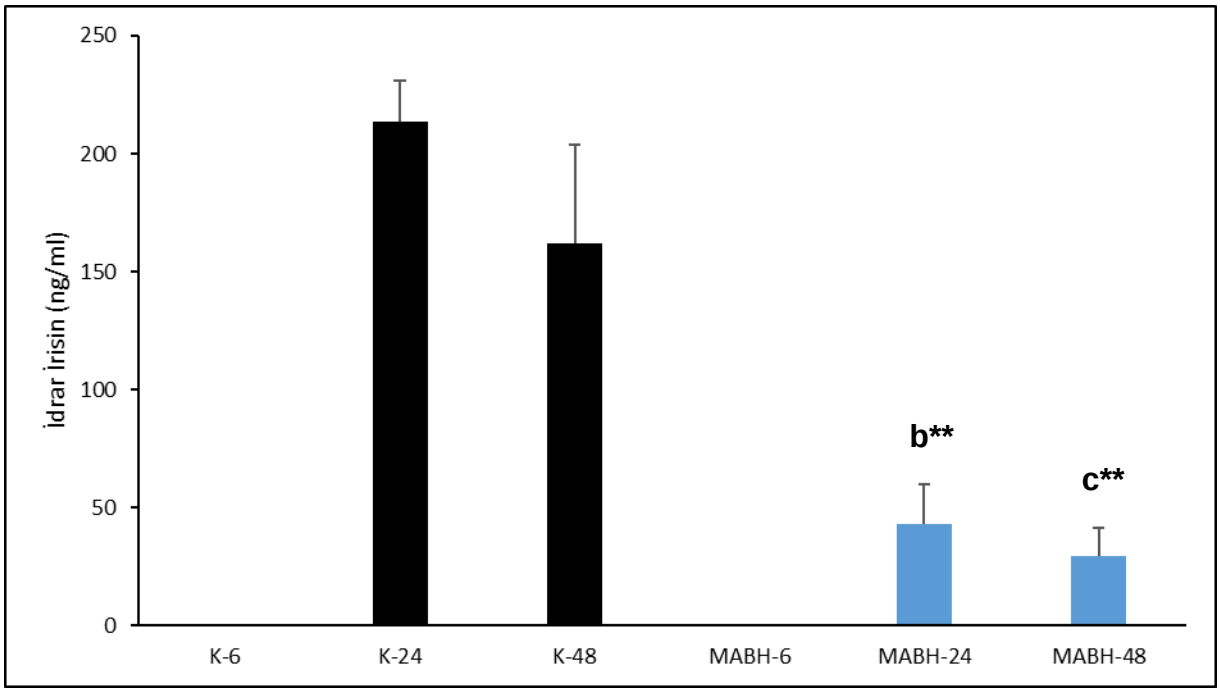
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **: p<0,01



Şekil 8. Gruplar arası ortalama plazma irisin düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubuc: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma,, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma *: p<0,05

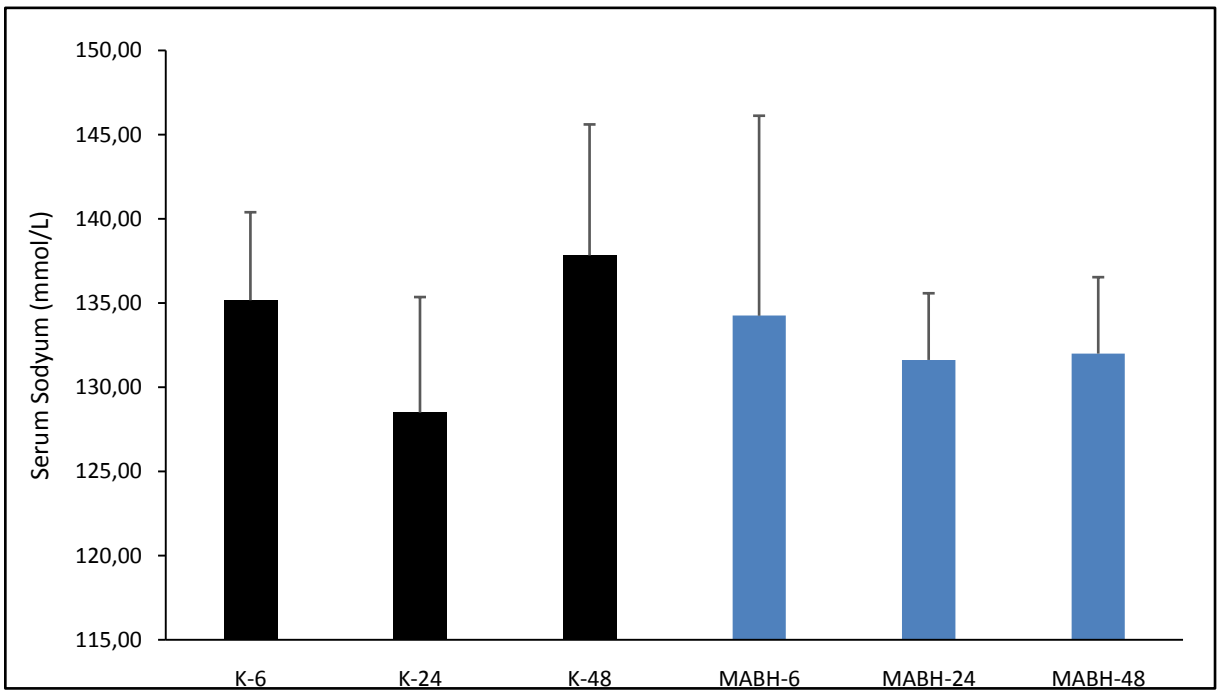
Gruplar arası ortalama idrar irisin düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24ve K-48 ile MABH-48 arasında anlamlı azalma görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre ortalama idrar irisin düzeylerinin dağılımı Şekil 9'da gösterildi.



Şekil 9. Gruplar arası ortalama idrar irisin düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma **: $p<0,01$

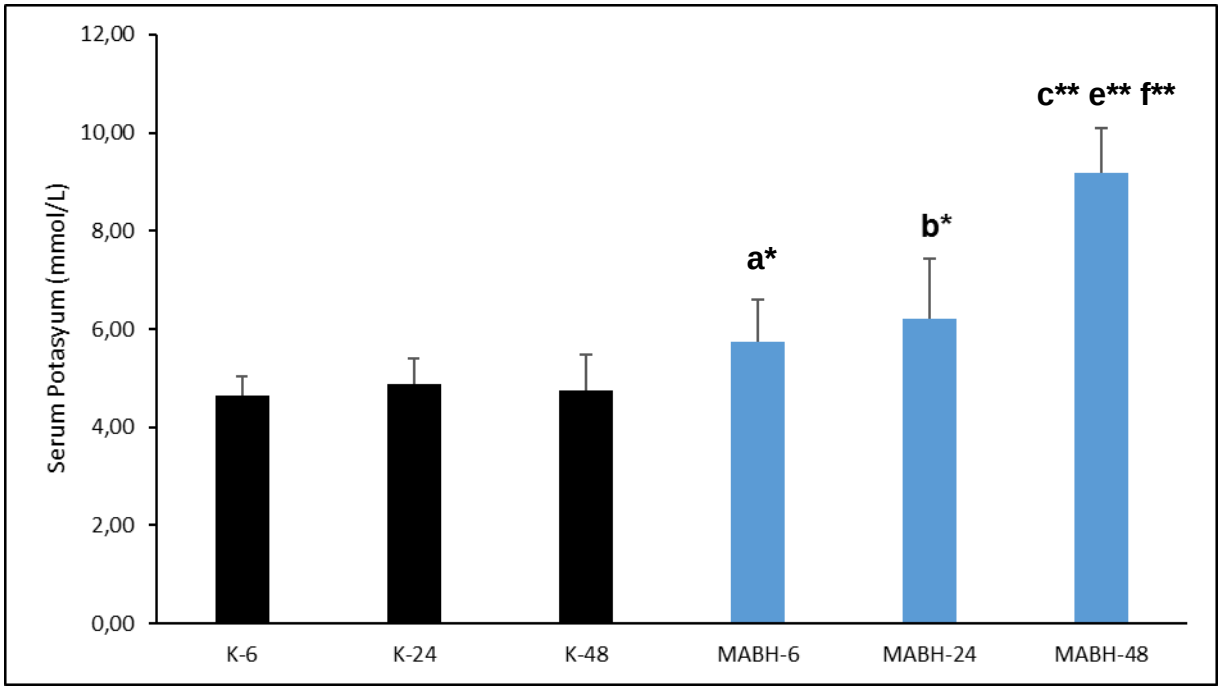
Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. Gruplara göre ortalama serum sodyum düzeylerinin dağılımı Şekil 10'da gösterildi.

Gruplar arası ortalama serum potasyum düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6 ($p<0,05$), K-24 ile MABH-24 ($p<0,05$), K-48 ile MABH-48 ($p<0,01$), MABH-6 ile MABH-48 ($p<0,01$) ve MABH-24 ile MABH-48 ($p<0,01$) arasında anlamlı bir artış görüldü. Gruplara göre ortalama serum potasyum düzeylerinin dağılımı Şekil 11'de gösterildi.



Şekil 10. Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeylerinin karşılaştırılması

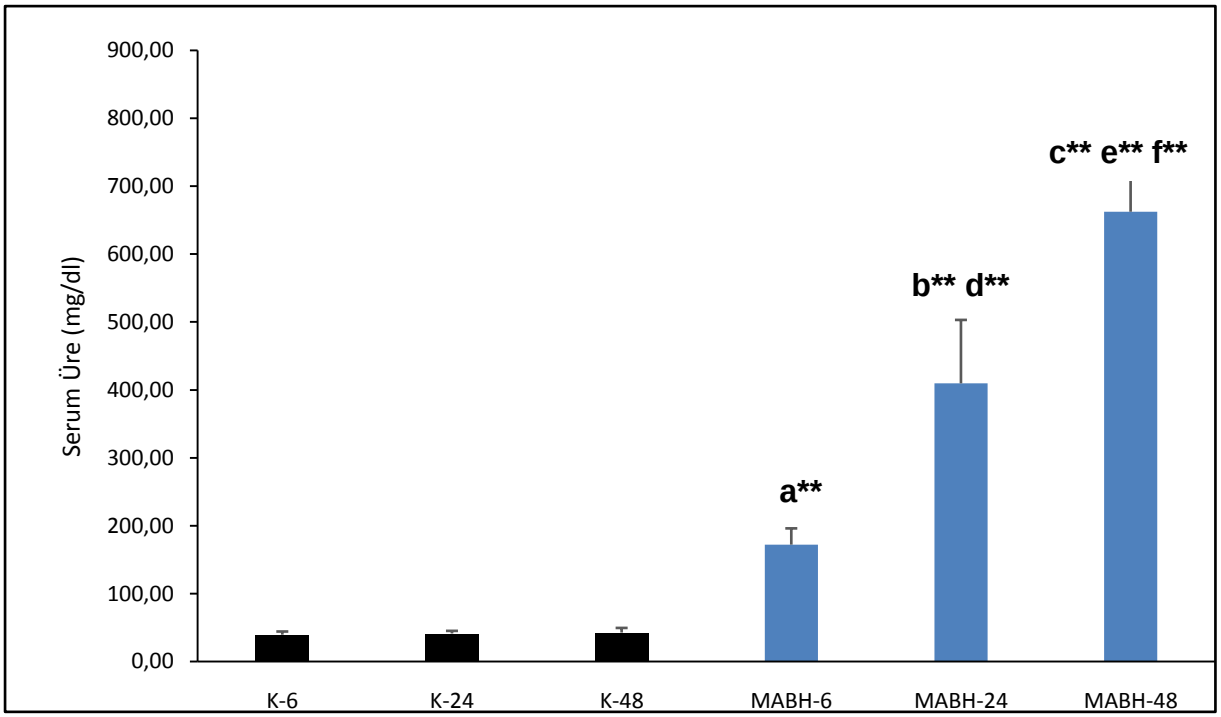
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu



Şekil 11. Gruplar arasıortalama serum potasyum düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05, **:p<0,01

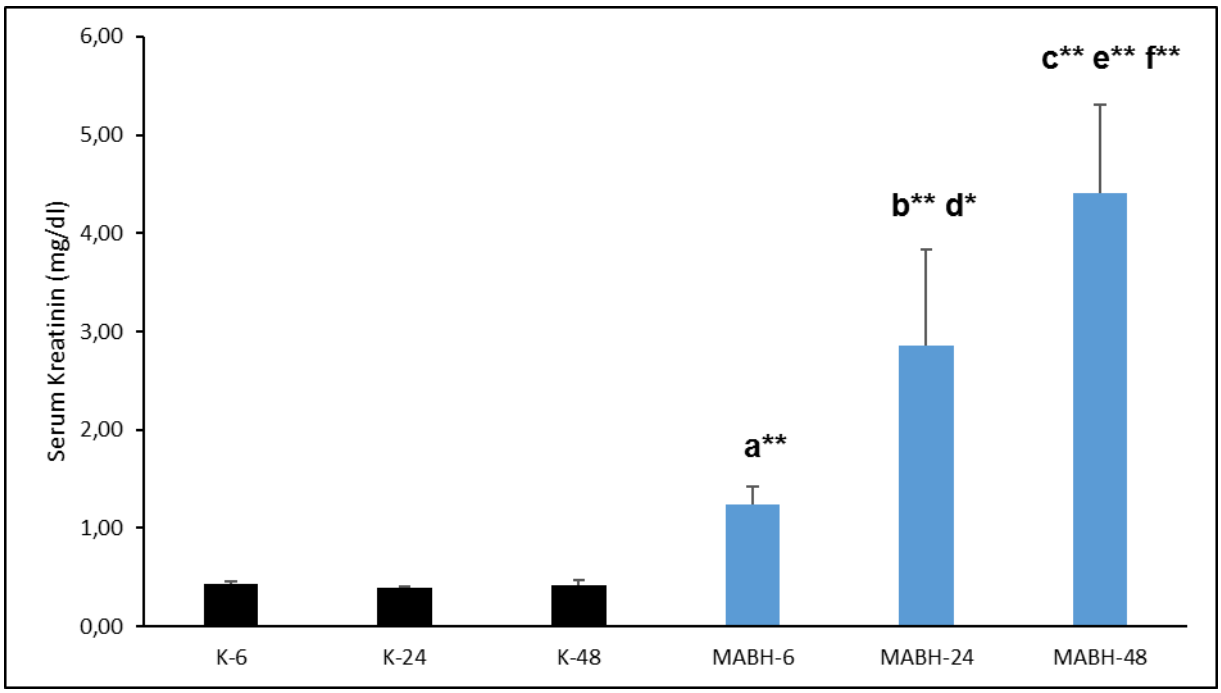
Gruplar arası ortalama serum üre düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6, K-24 ile MABH-24, K-48 ile MABH-48, MABH-6 ile MABH-24, MABH-6 ile MABH-48 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir artış görüldü (p<0,01). Gruplara göre ortalama serum üre düzeylerinin dağılımı Şekil 12'de gösterildi.



Şekil 12. Gruplar arası ortalama üre düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

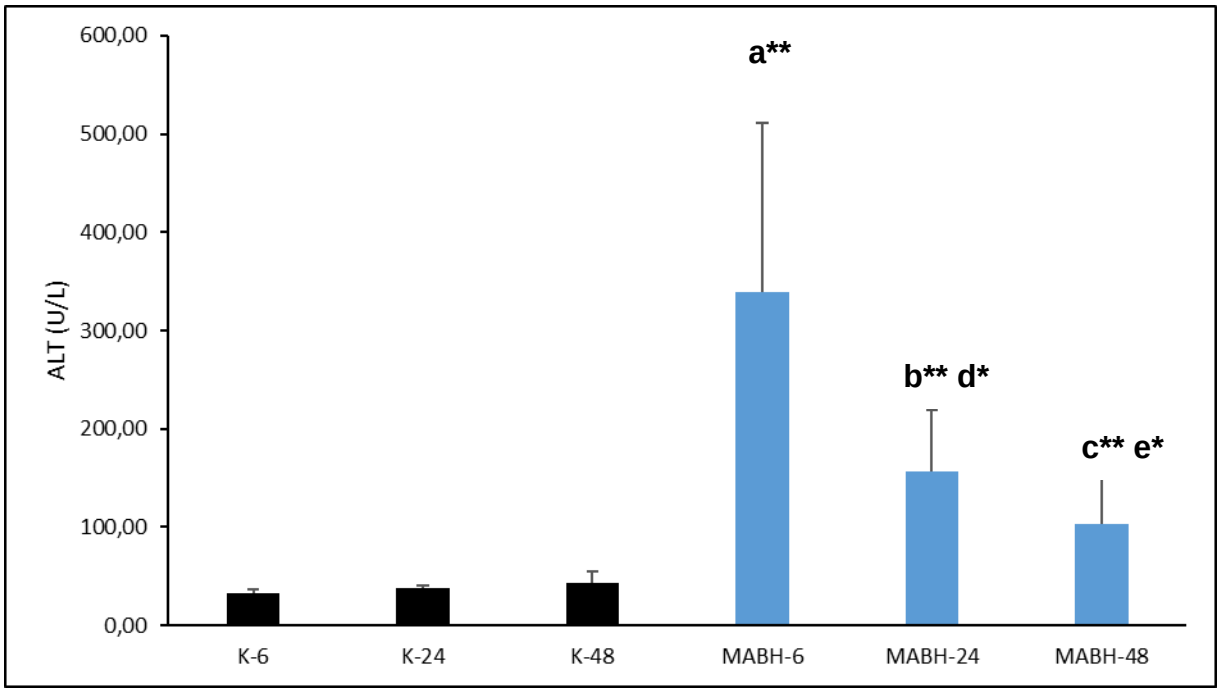
Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6, K-24 ile MABH-24 ve K-48 ile MABH-48 arasında anlamlı bir artış görüldü (p<0,01). MABH-6 ile MABH-24 (p<0,05), MABH-6 ile MABH-48 (p<0,01) ve MABH-24 ile MABH-48 (p<0,01) arasında anlamlı bir artış görüldü. Gruplara göre ortalama serum kreatinin düzeylerinin dağılımı Şekil 13'de gösterildi.

Gruplar arası ortalama serum ALT düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6, K-24 ile MABH-24, K-48 ile MABH-48 arasında anlamlı bir artış görüldü (p<0,01). MABH-6 ile MABH-24 (p<0,05) ve MABH-6 ile MABH-48 (p<0,01) arasında anlamlı bir azalma görüldü. Gruplara göre ortalama ALT düzeylerinin dağılımı Şekil 14'de gösterildi.



Şekil 13. Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması

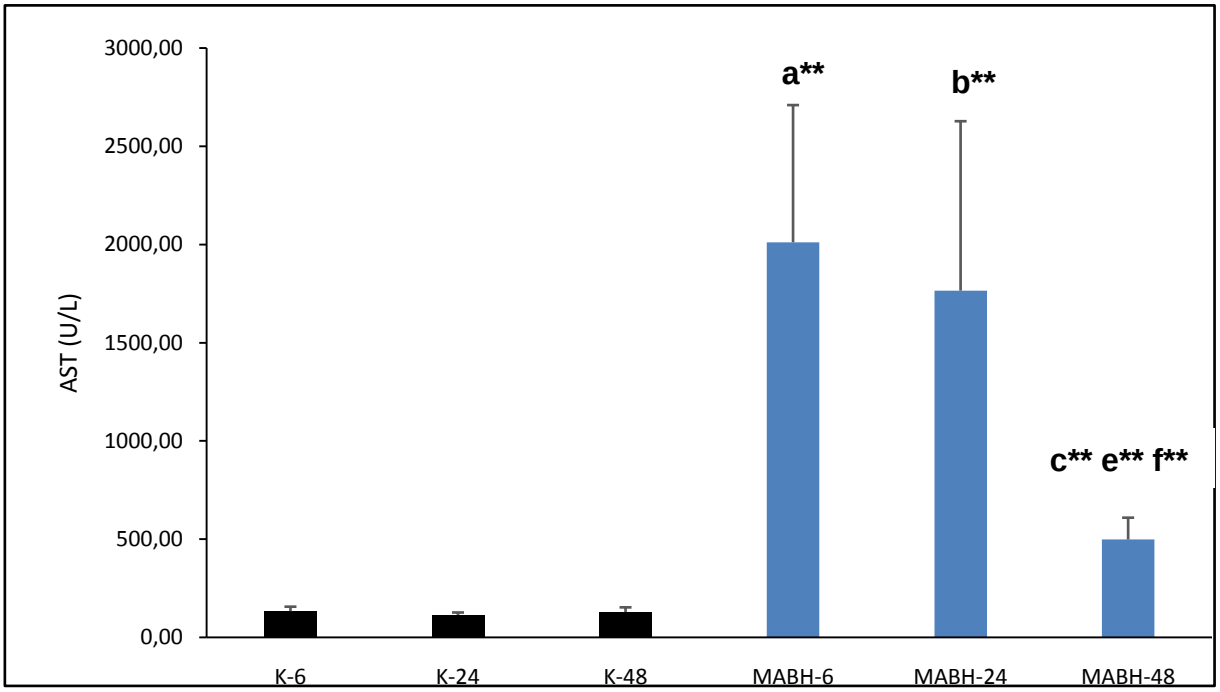
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05, **:p<0,01



Şekil 14. Gruplar arası ortalama ALT düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05, **:p<0,01

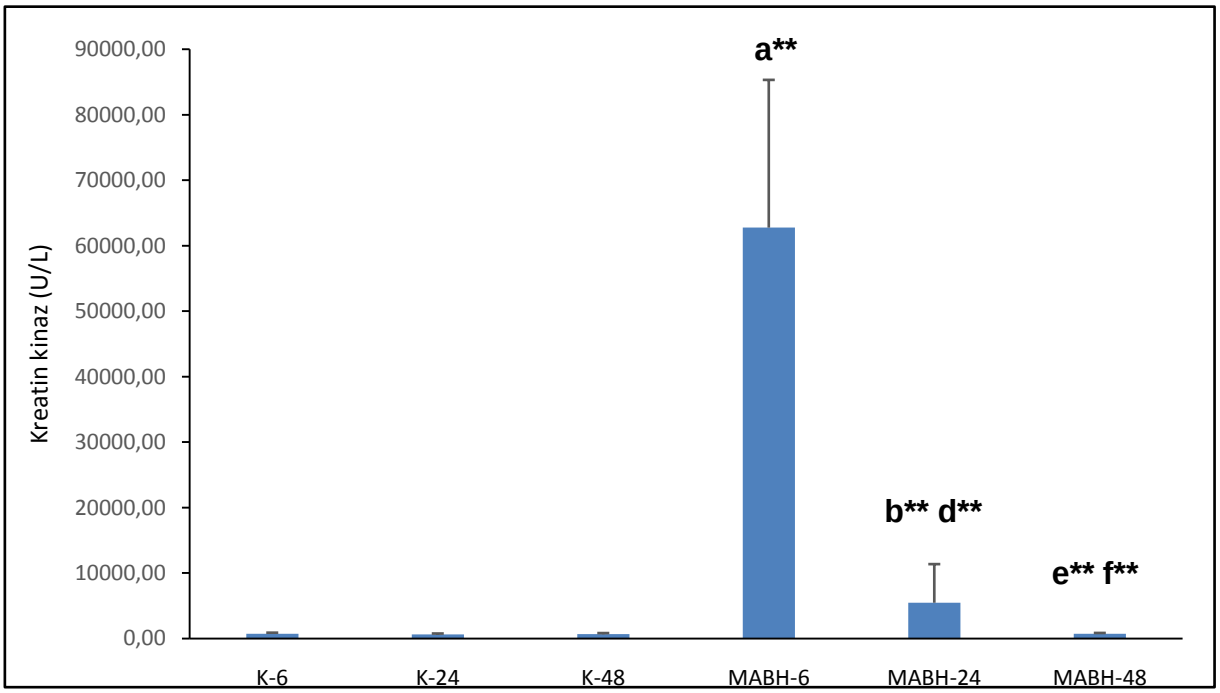
Gruplar arası ortalama serum AST düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde; K-6 ile MABH-6, K-24 ile MABH-24 ve K-48 ile MABH-48 arasında anlamlı bir artış görüldü (p<0,01). MABH-6 ile MABH-48 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü (p<0,01). Gruplara göre ortalama serum AST düzeylerinin dağılımı Şekil 15'de gösterildi.



Şekil 15. Gruplar arası ortalama AST düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

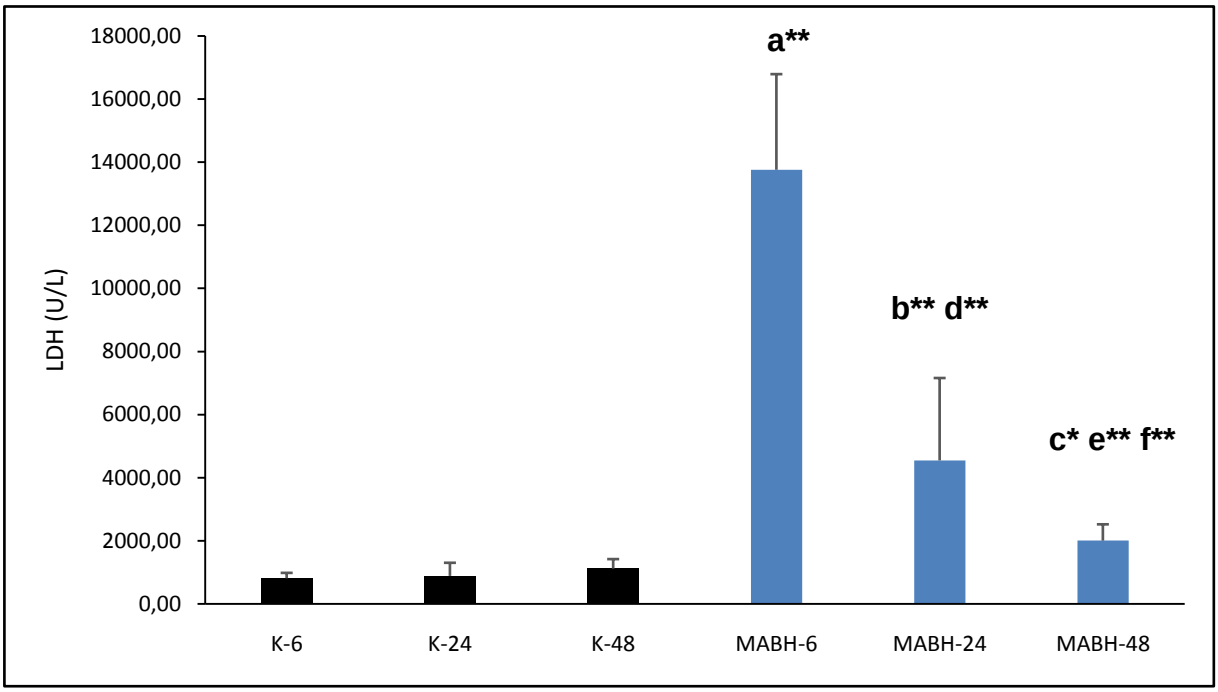
Gruplar arası ortalama serum CK düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6, K-24 ile MABH-24, K-48 ile MABH-48 arasında anlamlı bir artış görüldü (p<0,01). MABH-6 ile MABH-24, MABH-6 ile MABH-48 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü (p<0,01). Gruplara göre ortalama serum kreatinin düzeylerinin dağılımı Şekil 16'da gösterildi.

Gruplar arası ortalama serum LDH düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde,K-6 ile MABH-6 (p<0,01), K-24 ile MABH-24 (p<0,01) ve K-48 ile MABH-48 (p<0,05) arasında anlamlı bir artış görüldü. MABH-6 ile MABH-24, MABH-6 ile MABH-48 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü (p<0,01). Gruplara göre ortalama serum LDH düzeylerinin dağılımı Şekil 17'de gösterildi.



Şekil 16. Gruplar arası ortalama CK düzeylerinin karşılaştırılması

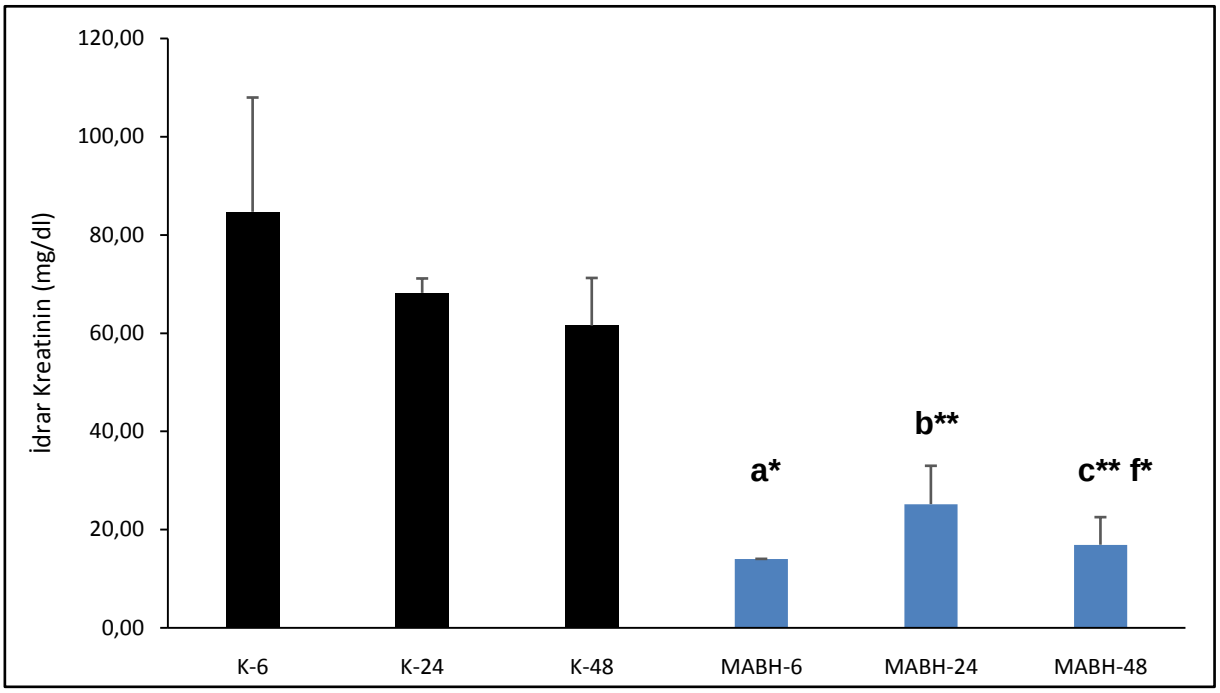
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01



Şekil 17. Gruplar arası ortalama LDH düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05, **:p<0,01

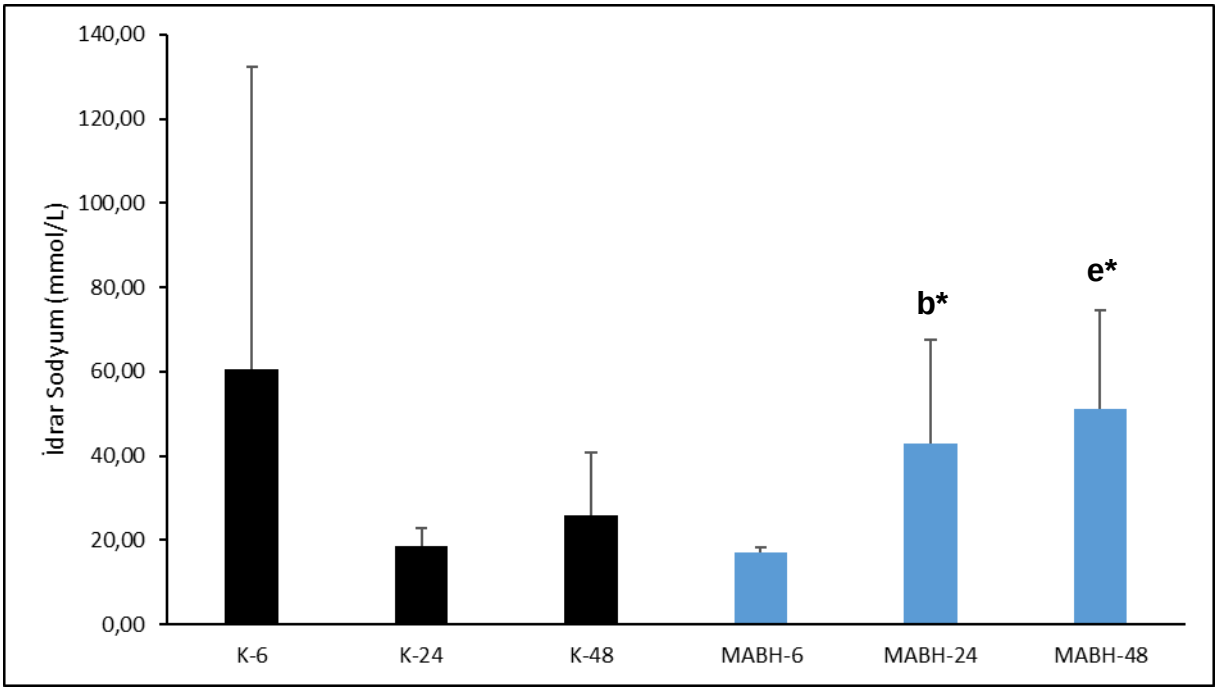
Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6 ($p<0,05$), K-24 ile MABH-24 ($p<0,01$), K-48 ile MABH-48 ($p<0,01$) ve MABH-24 ile MABH-48 ($p<0,05$) arasında anlamlı bir azalma görüldü. Gruplara göre ortalama idrar kreatinin düzeylerinin dağılımı Şekil 18'de gösterildi.



Şekil 18. Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: $p<0,05$, **:$p<0,01$

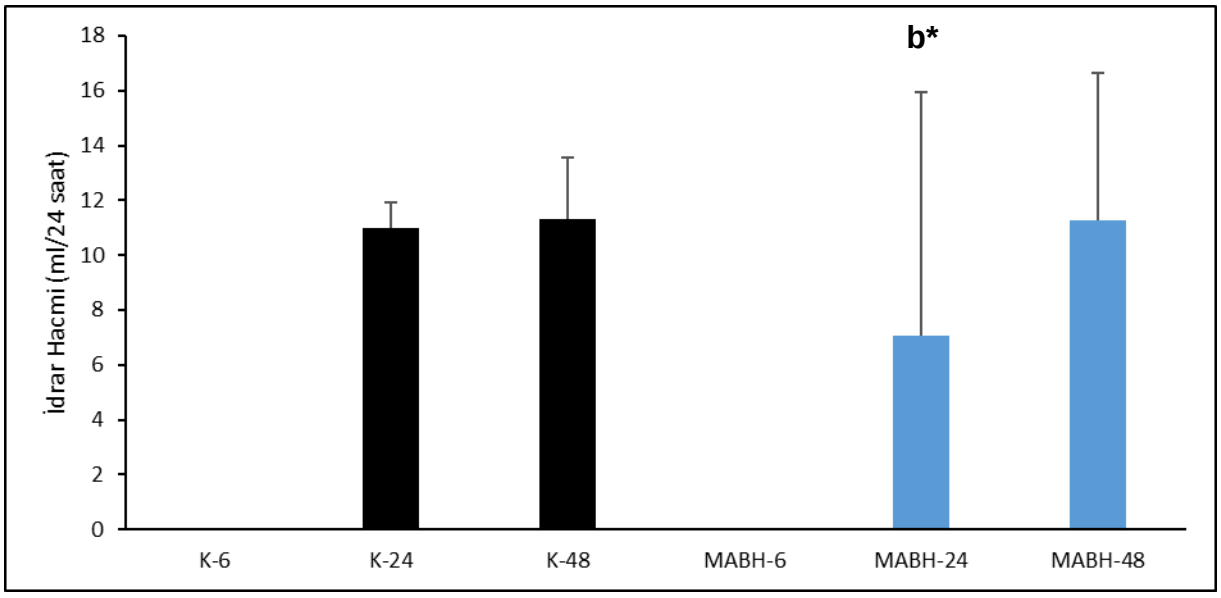
Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24 ve MABH-6 ile MABH-48 anlamlı bir artış görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre ortalama idrar sodyum düzeylerinin dağılımı Şekil 19'da gösterildi.

Gruplar arası ortalama idrar hacimleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24 arasında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre ortalama idrar hacimlerinin dağılımı Şekil 20'de gösterildi.



Şekil19. Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeylerinin karşılaştırılması

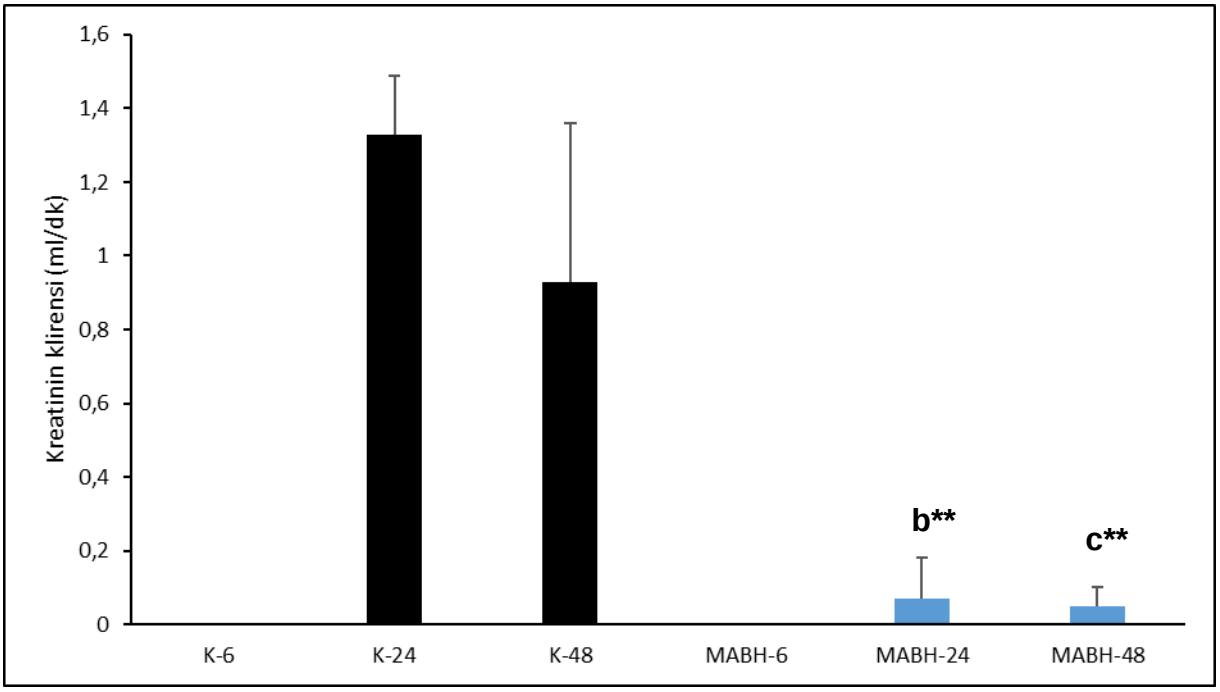
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05



Şekil 20. Gruplar arası ortalama idrar hacmi düzeylerinin karşılaştırılması

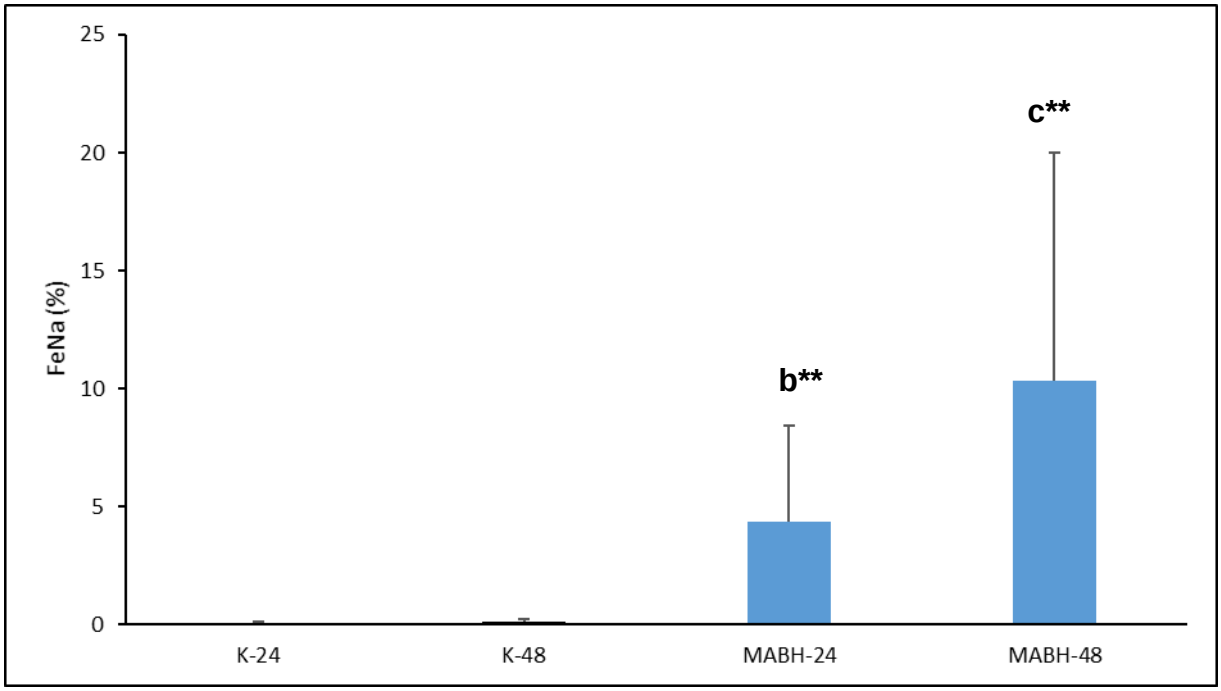
Gruplar: K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 24 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, *: p<0,05

Gruplar arası ortalama kreatin klirensi düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24 ve K-48 ile MABH-48 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterildi (p<0,01). Gruplara göre ortalama kreatin klirensi düzeylerinin dağılımı Şekil 21'de gösterildi



Şekil 21. Gruplar arası ortalama kreatin klirensi düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 24 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

Gruplar arası ortalama FeNa % düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24 ve K-48 ile MABH-48arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterildi (p<0,01). Gruplara göre ortalama FeNa % düzeylerinin dağılımı Şekil 22'de gösterildi.



Şekil 22. Gruplar arası ortalama FeNa düzeylerinin karşılaştırılması

Gruplar: K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 24 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

Histopatolojik Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde, her bir sıçan için böbrek hasarı derecesi ve ayrıca % kast değerleri 100 alanda, 0-4 skalası kullanılarak hesaplandı. Hesaplanan bu değerler Tablo 3 ve Tablo 4'de gösterilmiştir.

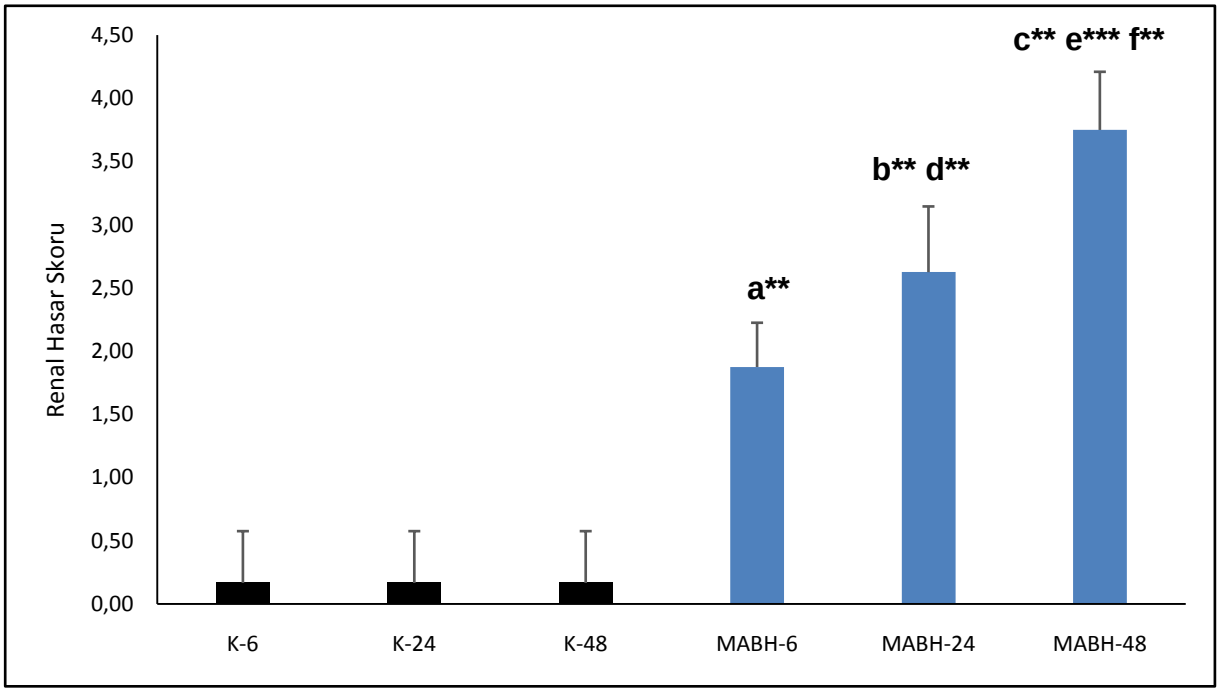
Tablo 3. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri

Sıra No	Kontrol Grup (6. Saat) (K-6)	MABH Grup (6. Saat) (MABH-6)	Kontrol Grup (24. Saat) (K-24)	MABH Grup (24. Saat) (MABH-24)	Kontrol Grup (48. Saat) (K-48)	MABH Grup (48. Saat) (MABH-48)
1	0	2	0	3	0	3
2	0	2	0	3	0	4
3	0	2	0	2	0	4
4	0	1	1	3	1	4
5	1	2	0	3	0	4
6	0	2	0	2	0	4
7	-	2	-	2	-	3
8	-	2	-	3	-	4
Ort±SD	0,17±0,41	1,88±0,35	0,17±0,41	2,62±0,52	0,17±0,41	3,75±0,46

Tablo 4. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri

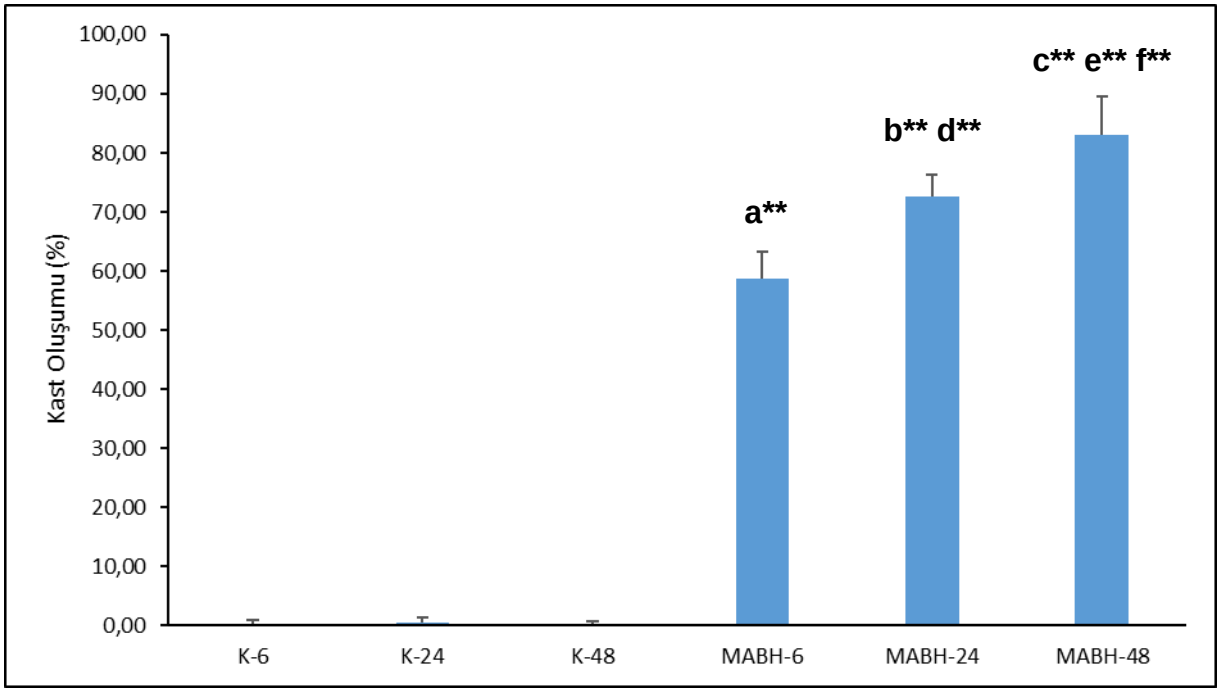
Sıra No	Kontrol Grup (6. Saat) (K-6)	MABH Grup (6. Saat) (MABH-6)	Kontrol Grup (24. Saat) (K-24)	MABH Grup (24. Saat) (MABH-24)	Kontrol Grup (48. Saat) (K-48)	MABH Grup (48. Saat) (MABH-48)
1	0	50	0	70	0	90
2	1	60	0	70	0	80
3	0	60	1	75	0	85
4	0	65	2	70	1	90
5	0	55	0	70	0	85
6	1	60	0	70	1	70
7	-	60	-	80	-	80
8	-	60	-	75	-	85
Ort±SD	0,33±0,52	58.75±4.43	0,50±0,84	72,50±3,78	0,17±0,41	83,13±6,51

Gruplar arası ortalama renal hasar değerlendirmesi istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6 ($p<0,01$), K-24 ile MABH-24 ($p<0,01$), K-48 ile MABH-48 ($p<0,01$), MABH-6 ile MABH-24 ($p<0,01$), MABH-6 ile MABH-48 ($p<0,001$) ve MABH-24 ile MABH-48 ($p<0,01$) arasında anlamlı bir artış görüldü ($p<0,01$). Gruplara göre ortalama renal değerlendirmesi dağılımı Şekil 23'de gösterildi.



Şekil 23. Gruplar arası ortalama renal hasar düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01, ***:p<0,001

Gruplar arası ortalama kast oluşumu değerlendirmesi istatistiksel olarak incelendiğinde, K-6 ile MABH-6, K-24 ile MABH-24, K-48 ile MABH-48, MABH-6 ile MABH-24, MABH-6 ile MABH-48 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir artış görüldü ($p<0,01$). Gruplara göre ortalama kast oluşumu değerlendirmesinin dağılımı Şekil 24'de gösterildi.

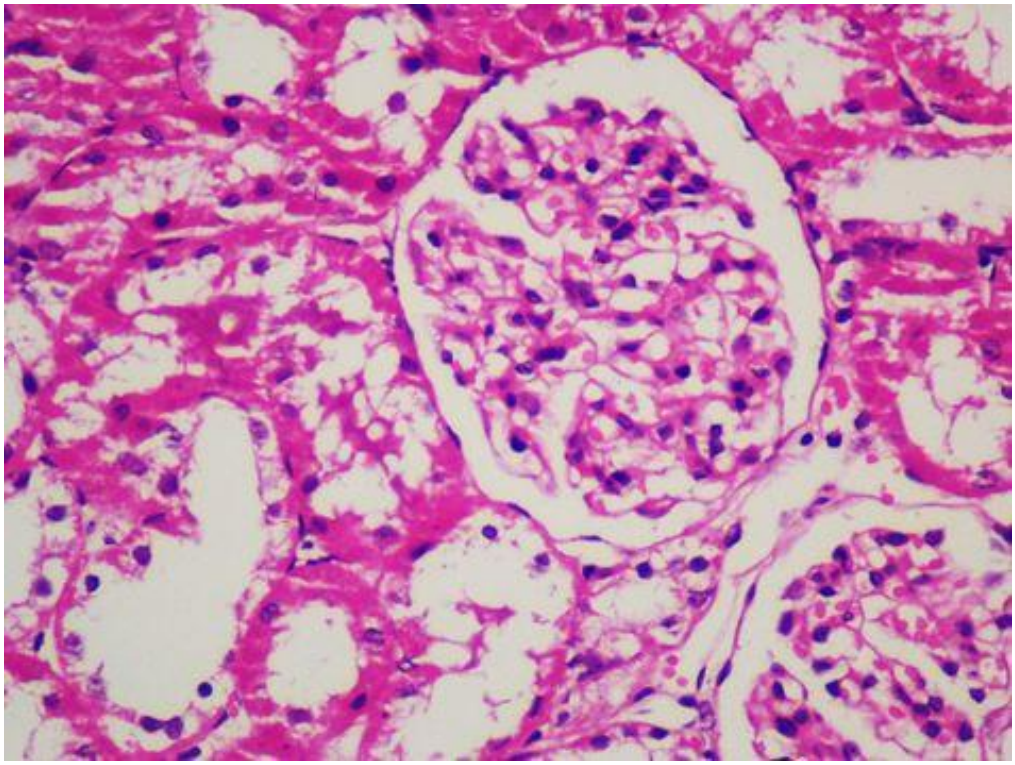


Şekil 24. Gruplar arası ortalama kast oluşumu değerlendirmesinin karşılaştırılması

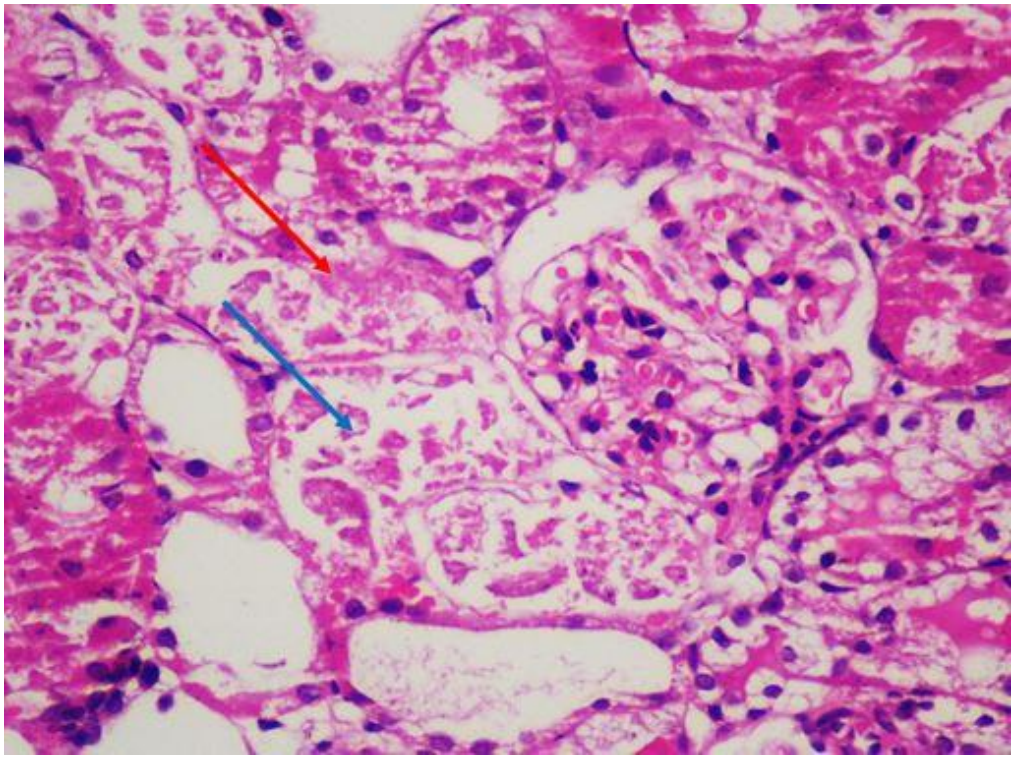
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

Sıçanlara ait hematoksilen-eozin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde,6, 24 ve 48. saat kontrol grubundaki mikroskobik kesitlerde tübül ve glomerüllerin düzenli yapıda olduğu izlendi, herhangi bir nekroz veya kast oluşumu izlenmedi (Şekil 25, Şekil 26 ve Şekil 27).

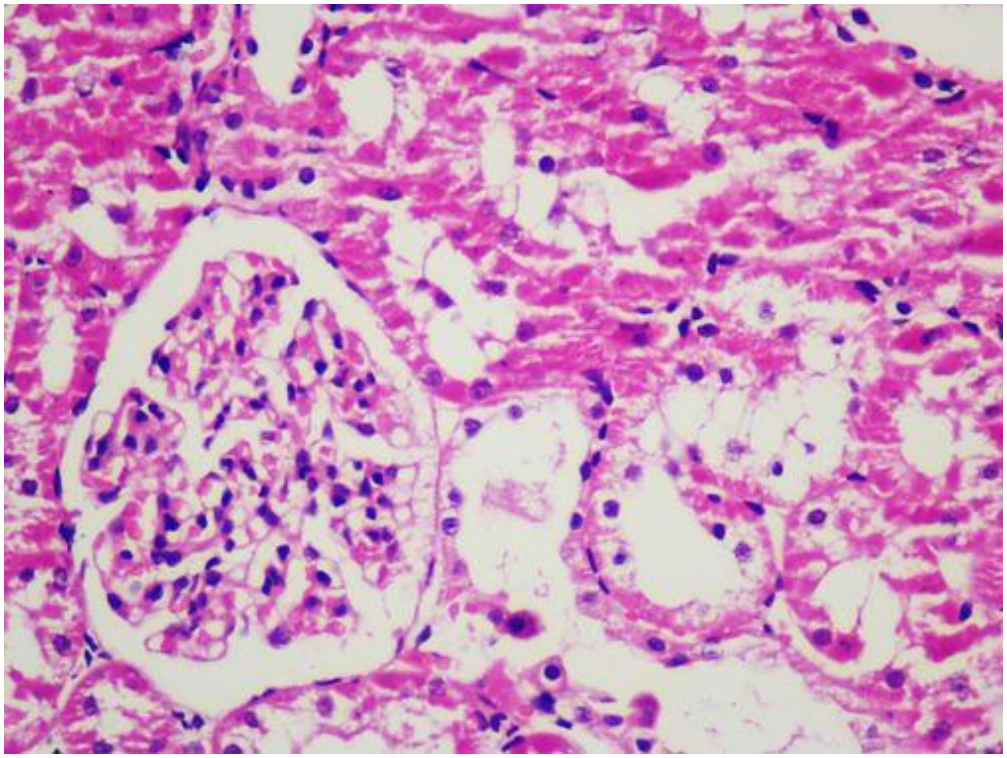
Sıçan böbreklerinin HE boyalı kesitlerinin ışık mikroskobu ile yapılan 6. saat MABH grubu incelemesinde, fokal tubuler nekroz (kırmızı ok) ve kast birikimi (mavi ok) izlendi (Şekil 28). 24. saat MABH grubu incelenmesinde tübüllerde geniş alanda nekroz (kırmızı ok) ve kast birikimi (mavi ok) izlendi (Şekil 29). 48. saat MABH grubu incelenmesinde yine tübüllerde dada geniş alanda nekroz (kırmızı ok) ve kast birikimi (mavi ok) izlendi (Şekil 30).



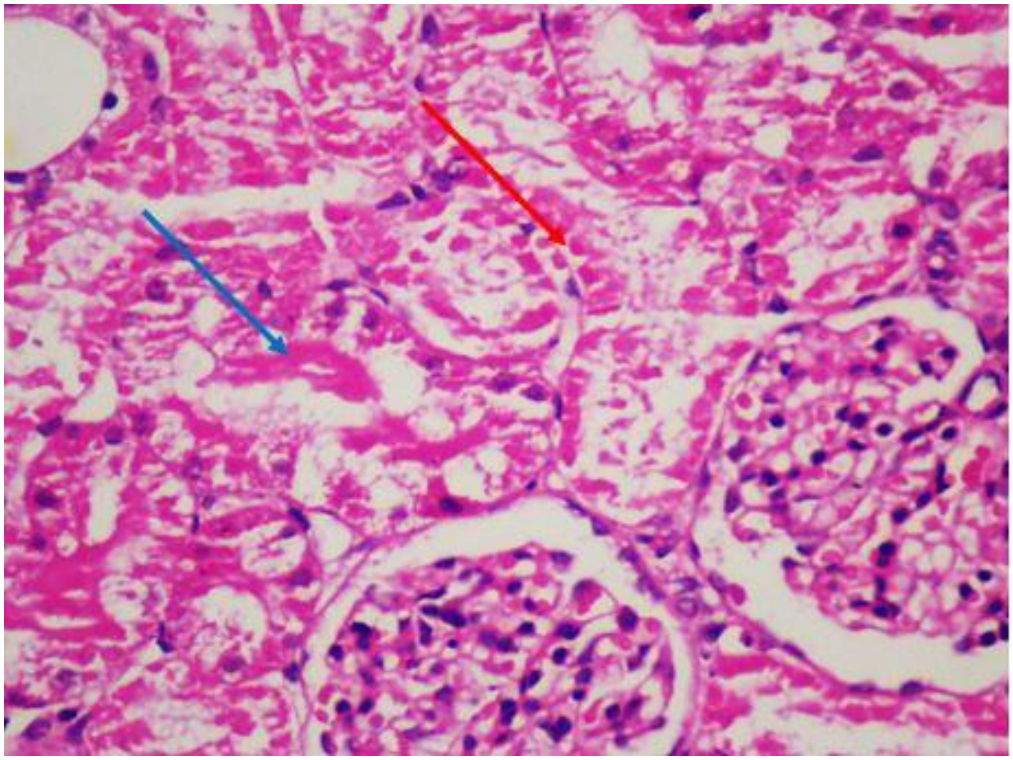
Şekil 25. K-6 grubunun böbrek kesiti (HEx400)



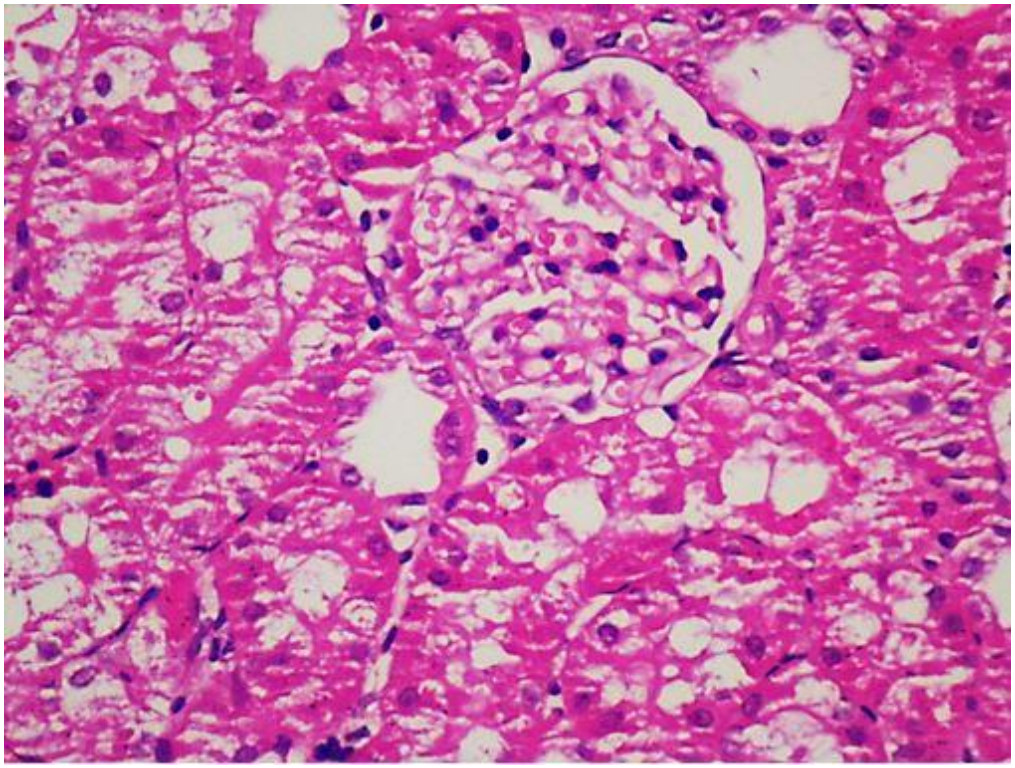
Şekil 26. MABH-6 grubunun böbrek kesiti (HEx400)



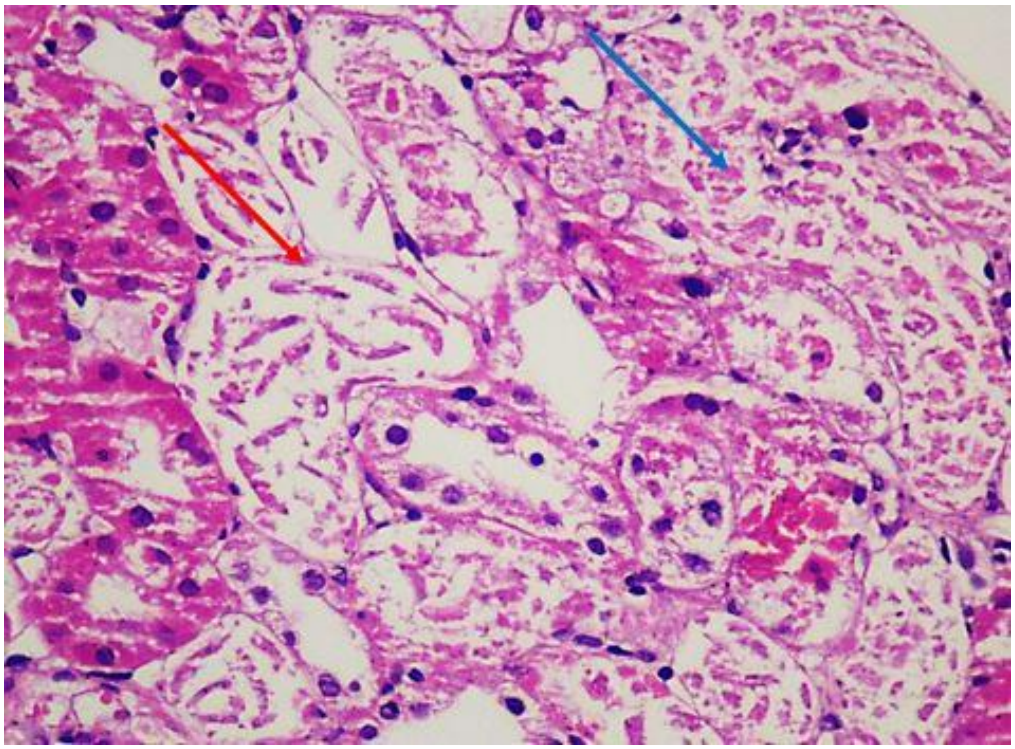
Şekil 27. K-24 grubunun böbrek kesiti (HEx400)



Şekil 28. MABH-24 grubunun böbrek kesiti (HEx400)



Şekil 29. K-48 grubunun böbrek kesiti (HEx400)



Şekil 30. MABH-48 grubunun böbrek kesiti (HEx400)

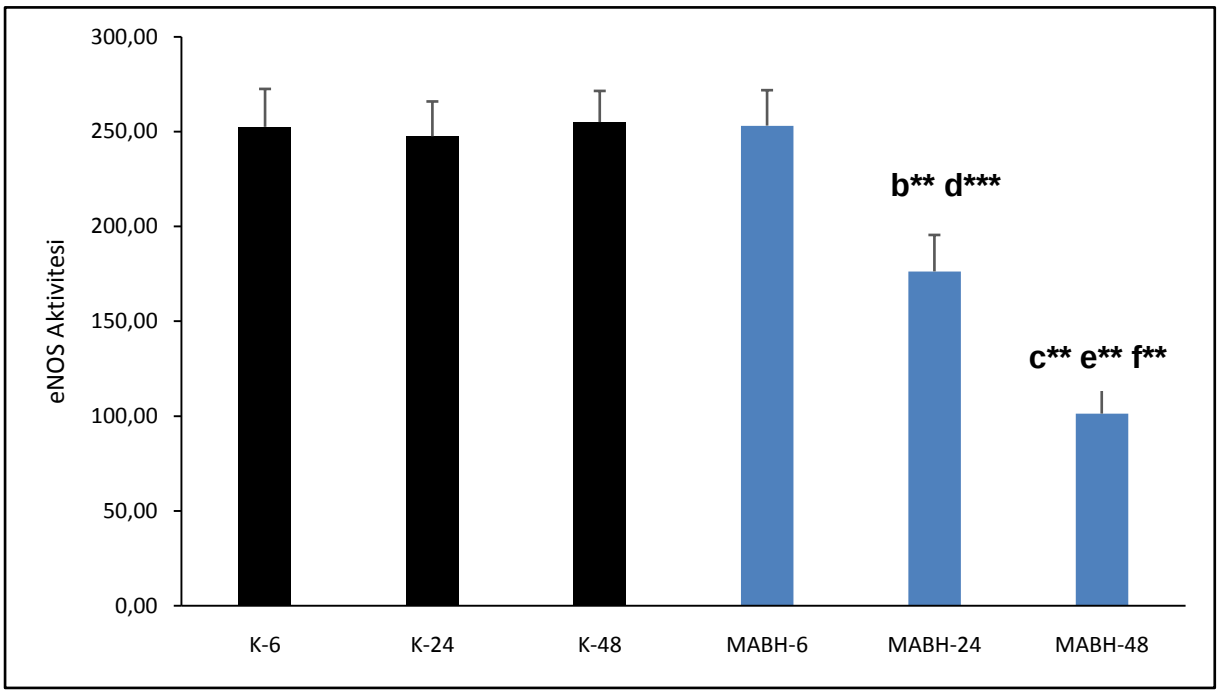
Böbrek Dokusunda eNOS İmmünreaktivitesinin Değerlendirilmesi

Gruplara ait eNOS immünreaktivitesi sonuçları ve ortalama değerleri Tablo 5'de gösterildi.

Tablo 5. Grupların eNOS immünreaktivitesi Sonuçları

Sıra No	Kontrol Grup (6. Saat) (K-6)	MABH Grup (6. Saat) (MABH-6)	Kontrol Grup (24. Saat) (K-24)	MABH Grup (24. Saat) (MABH-24)	Kontrol Grup (48. Saat) (K-48)	MABH Grup (48. Saat) (MABH-48)
1	225	270	270	180	270	90
2	270	270	270	180	240	120
3	240	270	225	210	240	120
4	240	240	240	180	270	90
5	270	240	240	180	270	90
6	270	240	240	150	240	120
7	-	225	-	180	-	90
8	-	270	-	150	-	90
Ort±SD	252,50 ± 19,84	253,13 ± 18,70	247,50 ± 18,37	176,25 ± 19,23	255,00 ± 16,43	101,25 ± 15,52

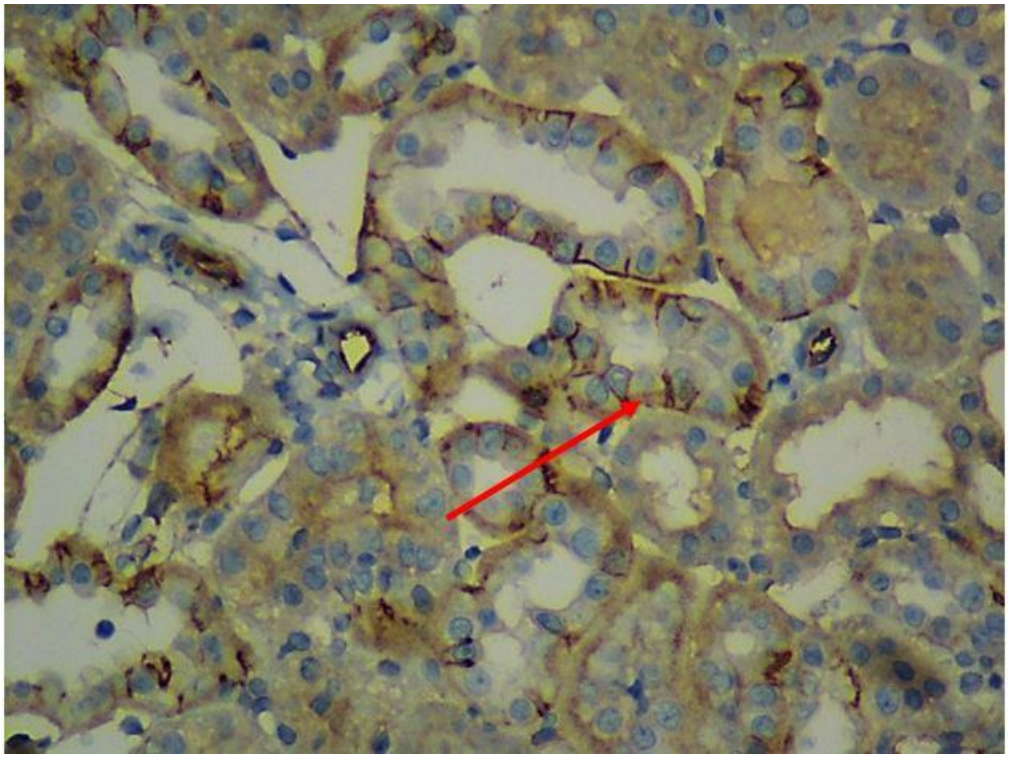
Histopatolojik eNOS aktivitesi için gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapıldığında, K-24 ile MABH-24, K-48 ile MABH-48, MABH-6 ile MABH-24, MABH-6 ile MABH-48 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,01$). Histopatolojik eNOS immünreaktivitesinin gruplara göre dağılımı Şekil 31'de gösterilmiştir.



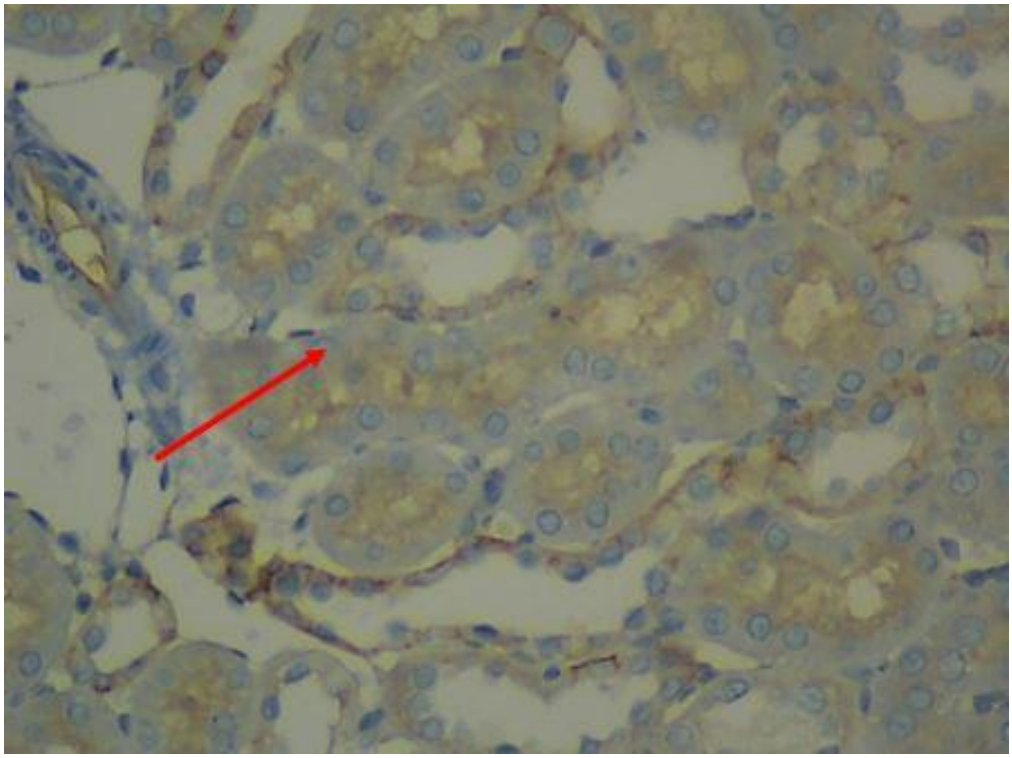
Şekil 31. Gruplar arası ortalama eNOS immünreaktivitesinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

İmmünohistokimyasal olarak eNOS antikoru ile boyalı sıçan böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde, kontrol gruplarına ait mikroskobik kesitlerde tübüllerde yaygın ve kuvvetli boyanma izlendi (Şekil 31, 33, 35).

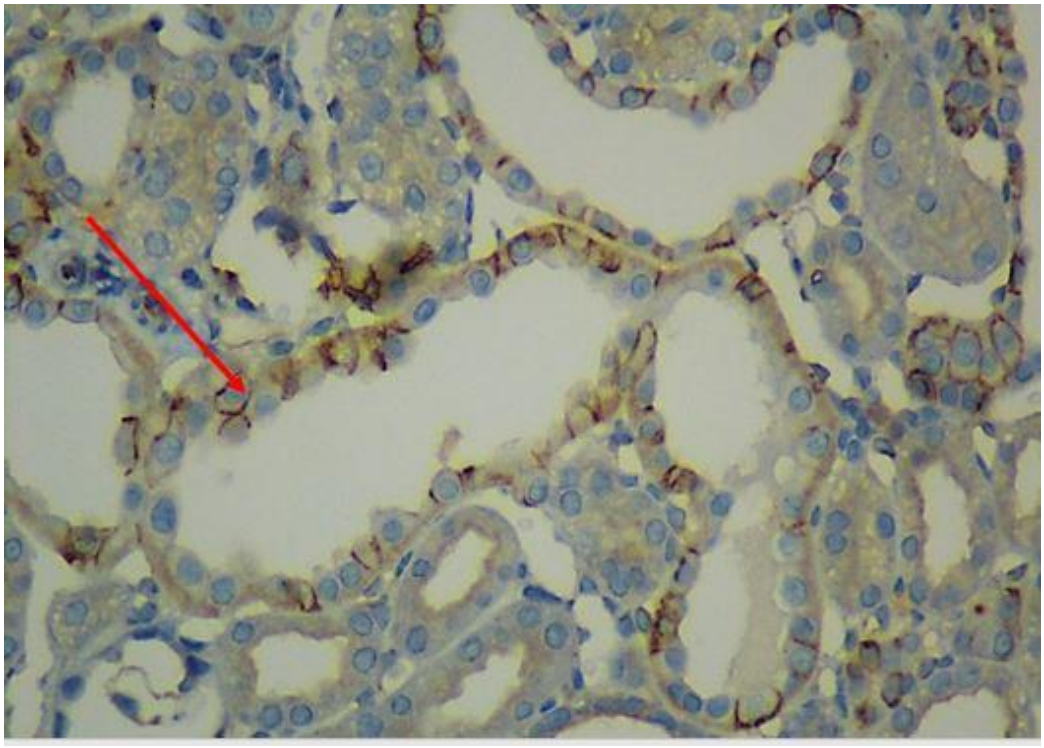
Işık mikroskobu ile incelenen immünohistokimyasal olarak eNOS antikoru ile boyalı sıçan böbrek kesitlerinde, 6, 24 ve 48. saat MABH gruplarında eNOS antikoru distal kıvrımlı tubullerde ve glomerüllerde zamana bağımlı olarak azalan şekilde, pozitif reaksiyonlu boyanma izlendi (Şekil 32, 34, 36).



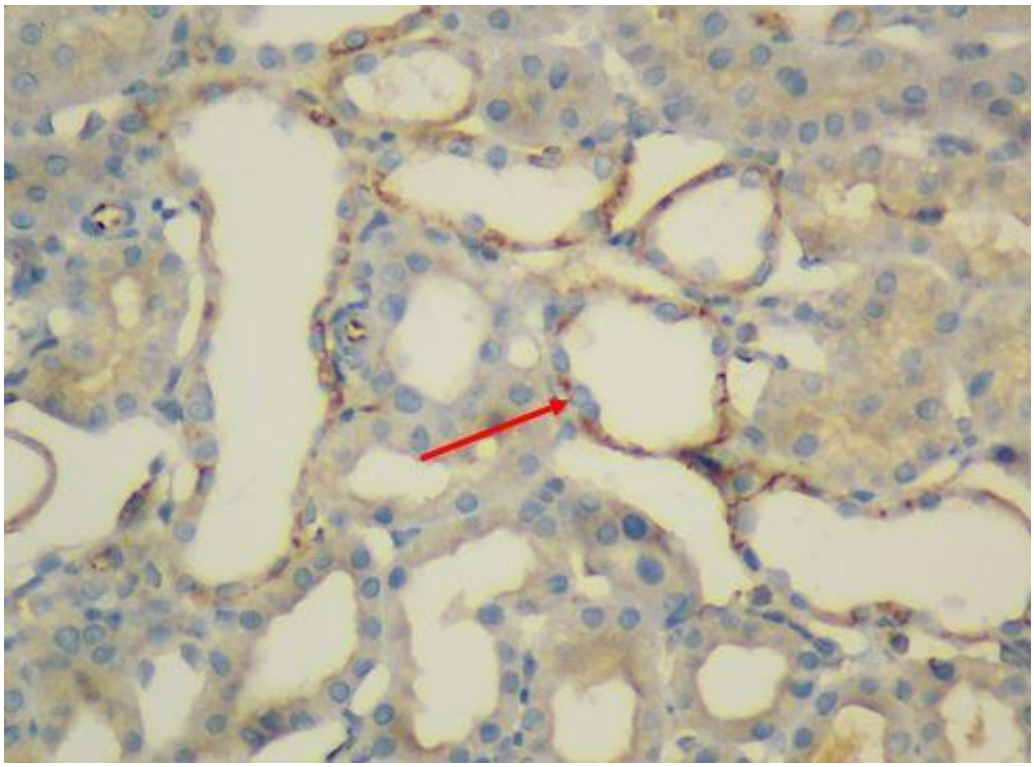
Şekil 32. K-6 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400)



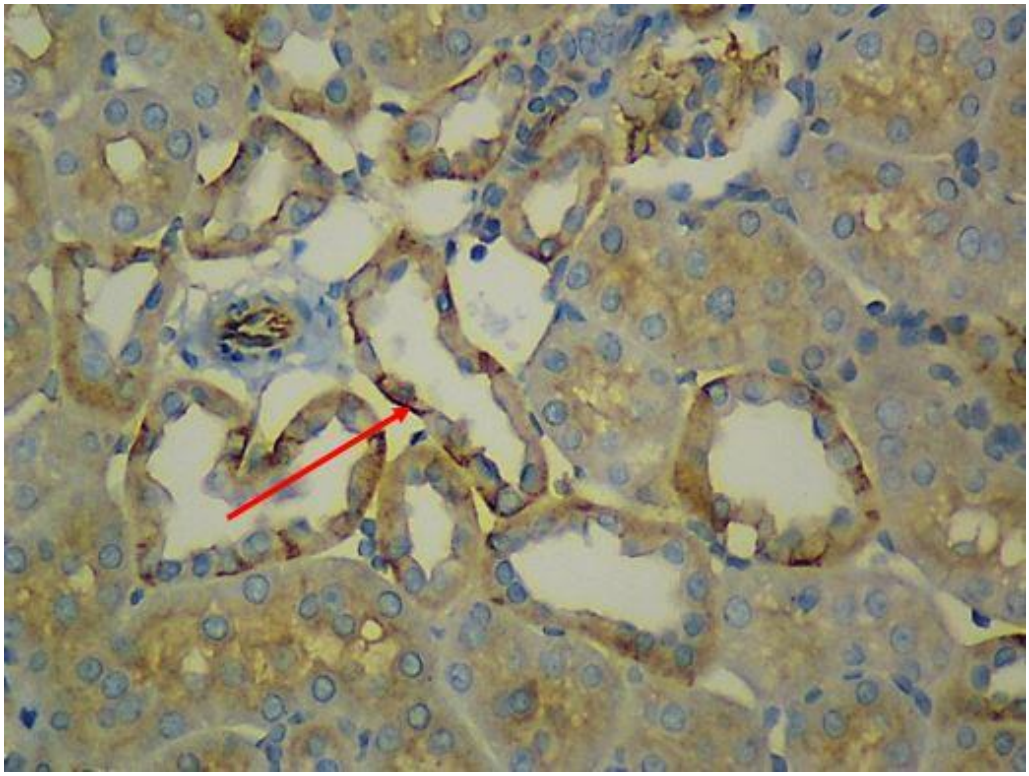
Şekil 33. MABH-6 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400)



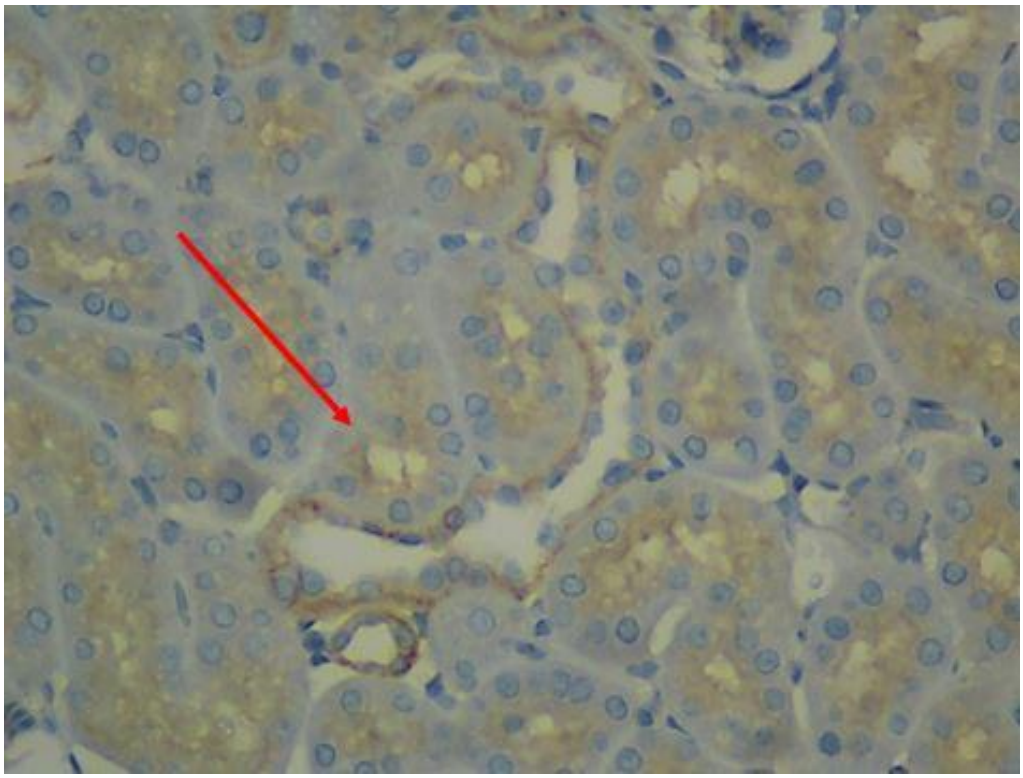
Şekil 34. K-24 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400)



Şekil 35. MABH-24 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400)



Şekil 36. K-48 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400)



Şekil 37. MABH-48 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400)

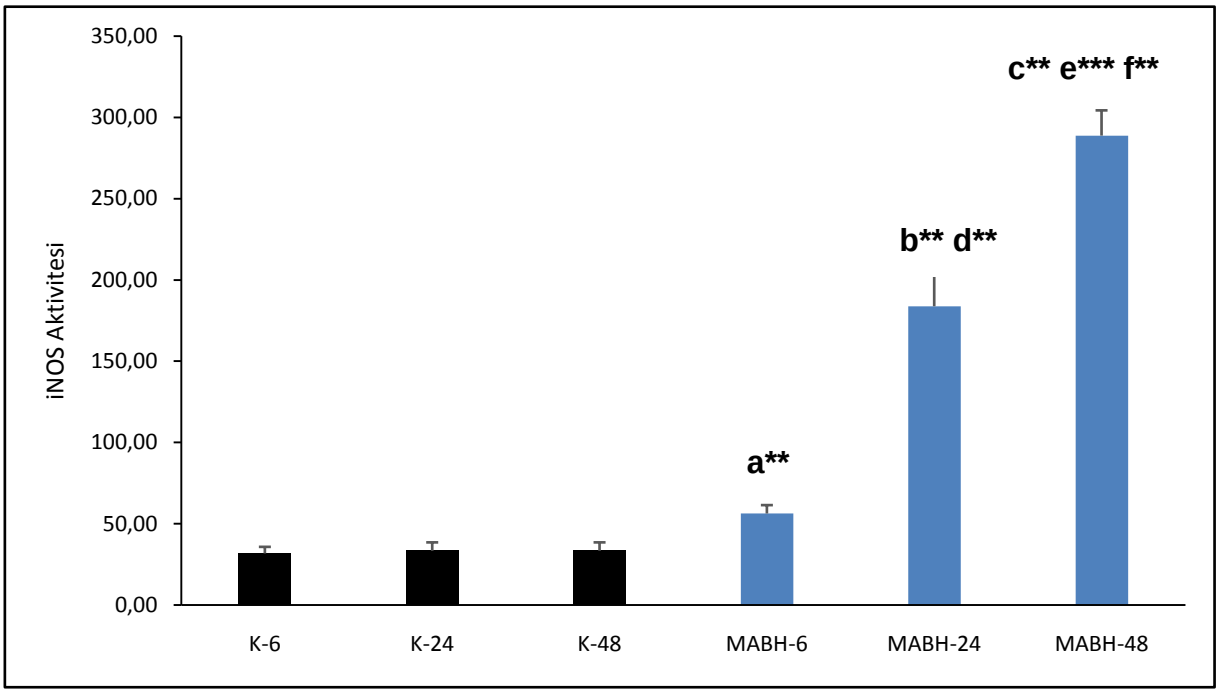
Böbrek Dokusunda iNOS İmmünreaktivitesinin Değerlendirilmesi

Gruplara ait iNOS immünreaktivitesi sonuçları ve ortalama değerleri Tablo 6'da gösterildi.

Tablo 6. Grupların iNOS İmmünreaktivitesi Sonuçları

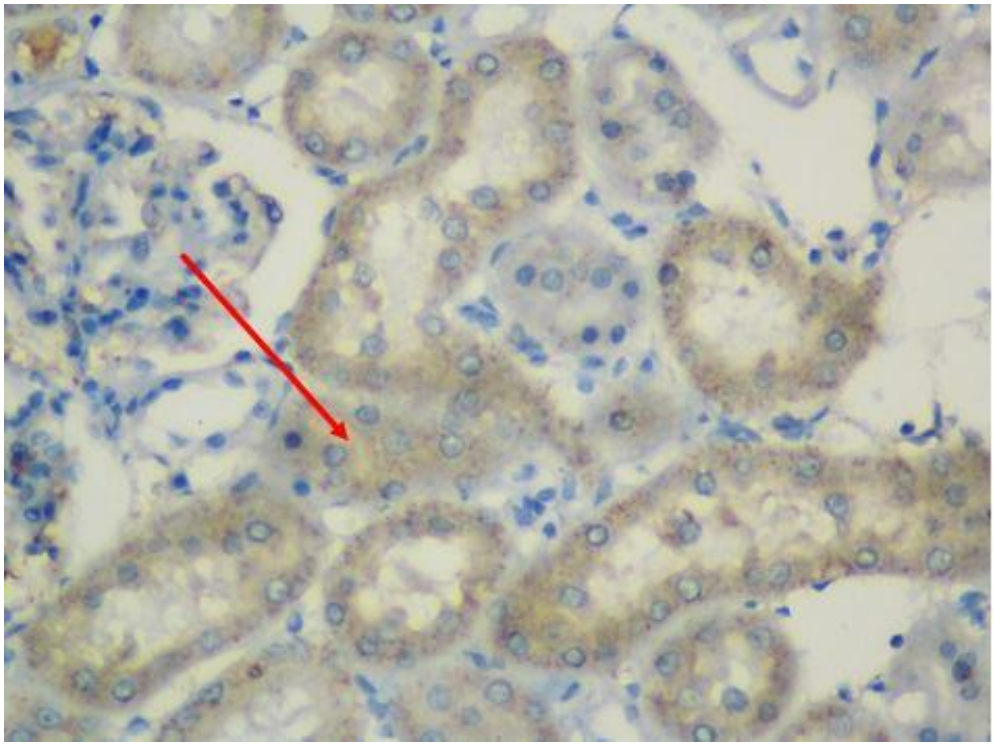
Sıra No	Kontrol Grup (6. Saat) (K-6)	MABH Grup (6. Saat) (MABH-6)	Kontrol Grup (24. Saat) (K-24)	MABH Grup (24. Saat) (MABH-24)	Kontrol Grup (48. Saat) (K-48)	MABH Grup (48. Saat) (MABH-48)
1	30	60	30	180	30	270
2	40	50	30	180	30	300
3	30	50	30	210	40	300
4	30	50	40	180	40	300
5	30	60	30	150	30	270
6	30	60	40	180	30	300
7	-	60	-	180	-	270
8	-	60	-	210	-	300
Ort±SD	31,67 ± 4,08	56,25 ± 5,18	33,33 ± 5,16	183,75 ± 19,23	33,33 ± 5,16	288,75 ± 15,53

Histopatolojik iNOS aktivitesi için gruplar arası istatistiksel karşılaştırma yapıldığında, K-6 ile MABH-6 ($p<0,01$), K-24 ile MABH-24 ($p<0,01$), K-48 ile MABH-48 ($p<0,01$), MABH-6 ile MABH-24 ($p<0,01$), MABH-6 ile MABH-48 ($p<0,001$) ve MABH-24 ile MABH-48 ($p<0,01$) arasında anlamlı bir artış görüldü ($p<0,01$). Histopatolojik iNOS immünreaktivitesi Şekil 33'de gösterilmiştir.

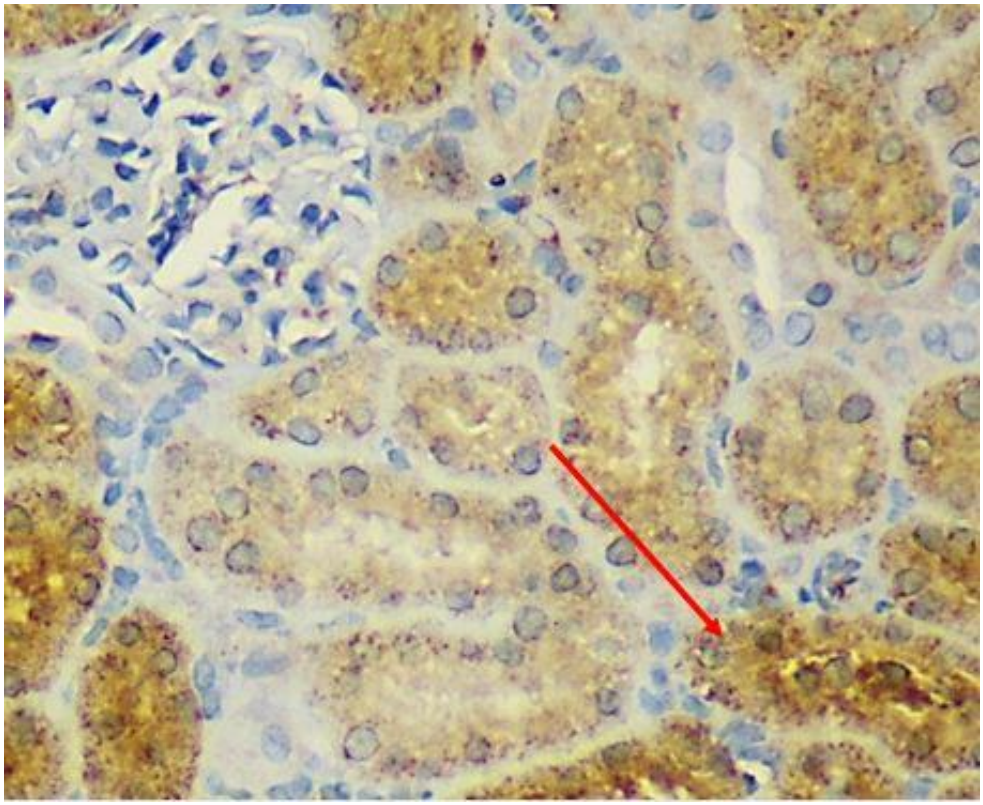


Şekil 38. Gruplar arası ortalama iNOS immünreaktivitesinin karşılaştırılması

Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, a: K-6 ile MABH-6 arasındaki karşılaştırma, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01, ***:p<0,001

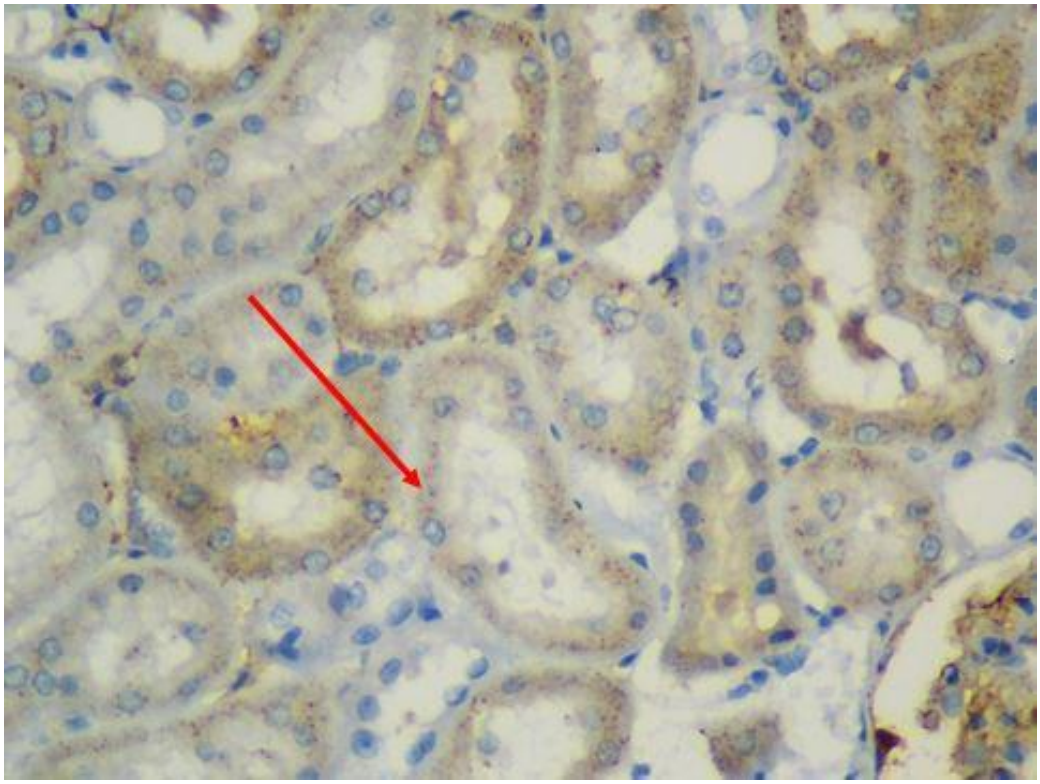


Şekil 39. K-6 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400)

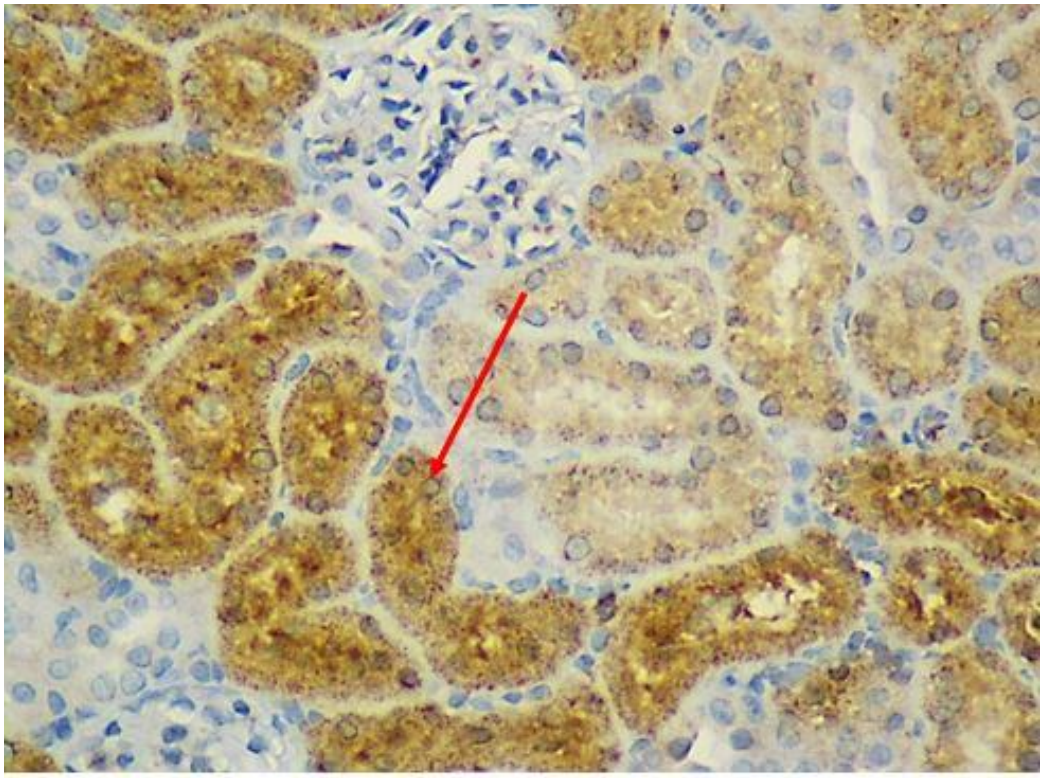


Şekil 40. MABH-6 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400)

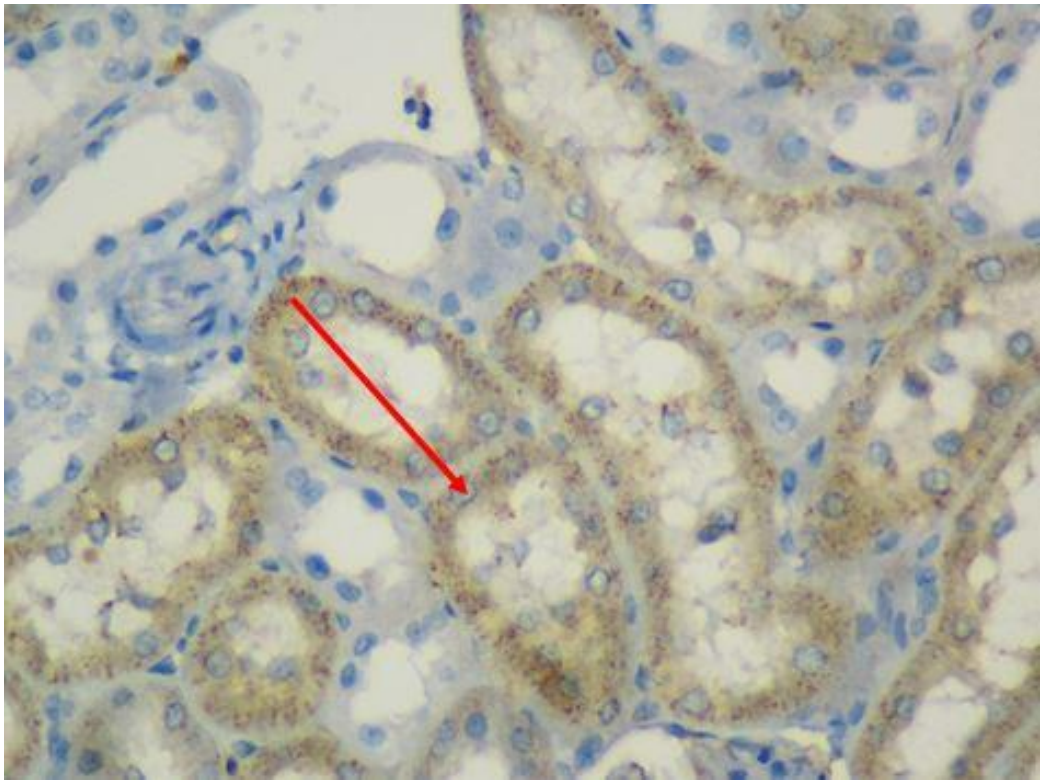
-



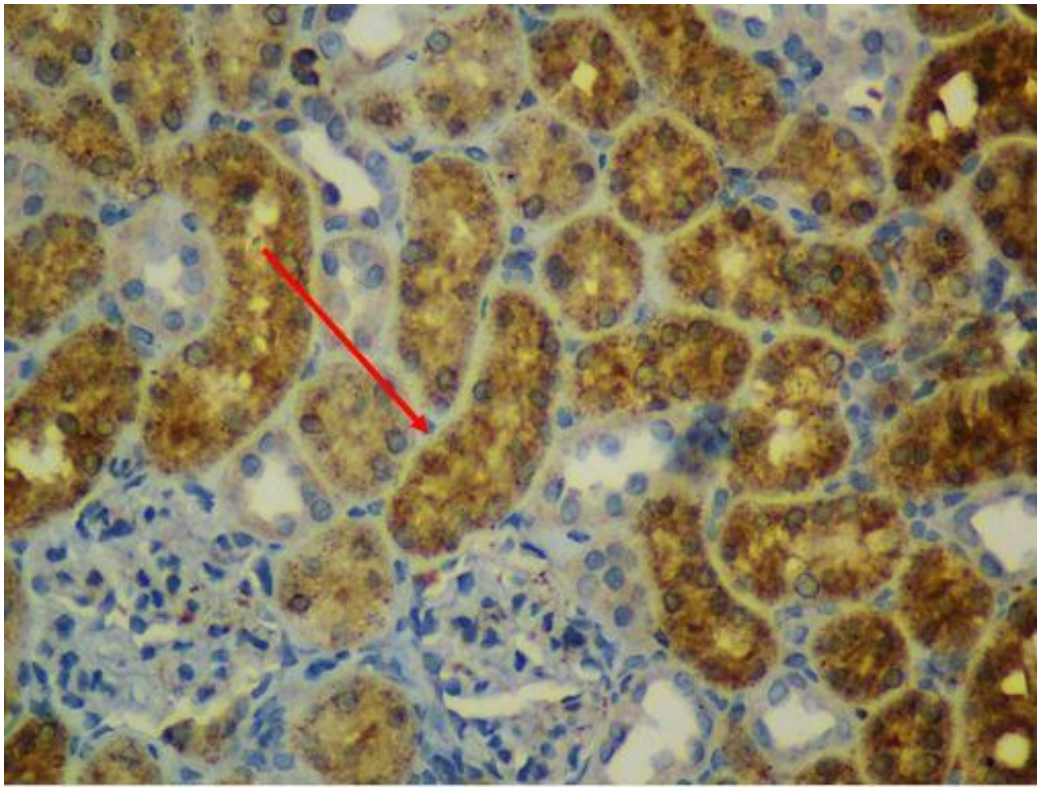
Şekil 41. K-24 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400)



Şekil 42. MABH-24 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400)



Şekil 43. K-48 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400)



Şekil 44. MABH- grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400)

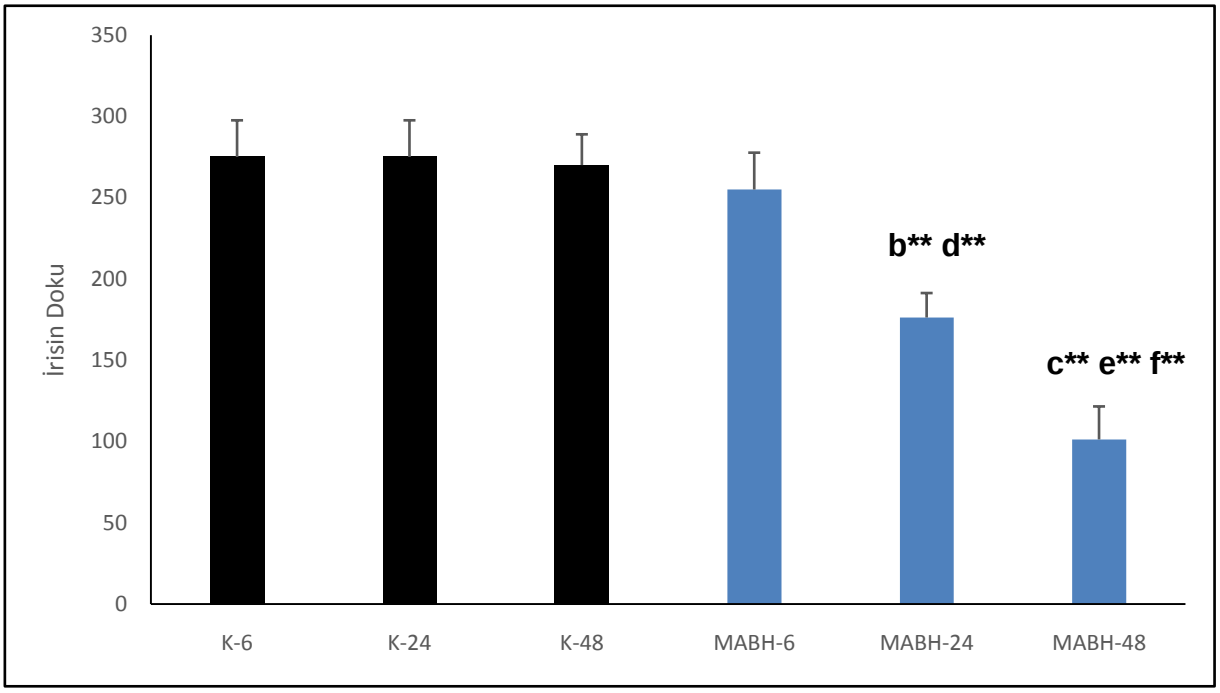
Doku İrisin Değerlendirilmesi

Gruplara ait böbrek dokusu irisin değerlendirilmesini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo7. Grupların böbrek dokusu irisin değerlendirilmesini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri

Sıra No	Kontrol Grup (6. Saat) (K-6)	MABH Grup (6. Saat) (MABH-6)	Kontrol Grup (24. Saat) (K-24)	MABH Grup (24. Saat) (MABH-24)	Kontrol Grup (48. Saat) (K-48)	MABH Grup (48. Saat) (MABH-48)
1	270	240	270	180	270	120
2	270	240	270	180	270	100
3	240	270	300	160	240	100
4	300	300	300	150	270	100
5	300	270	270	180	300	120
6	270	240	240	180	270	120
7	-	240	-	200	-	90
8	-	240	-	180	-	60
Ort±SD	275,00 ± 12,25	255,00 ± 22,68	275,00 ± 22,58	176,25 ± 15,06	270,00 ± 18,97	101,25 ± 20,31

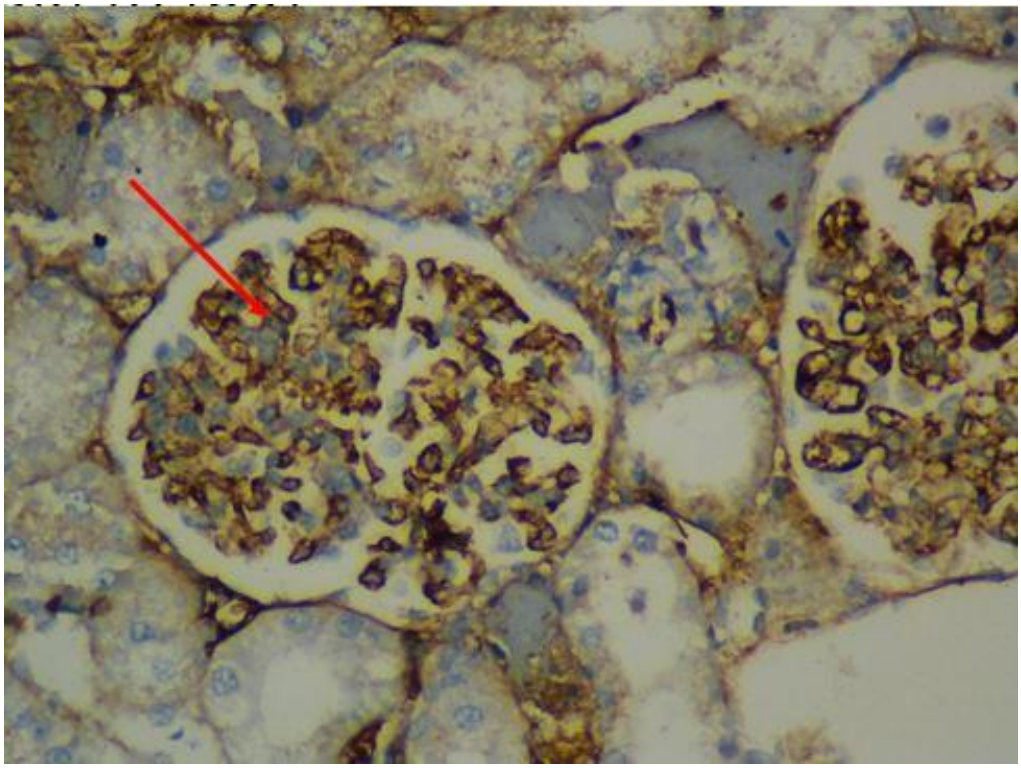
Gruplar arası doku irisin düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde, K-24 ile MABH-24, K-48 ile MABH-48, MABH-6 ile MABH-24, MABH-6 ile MABH-4 ve MABH-24 ile MABH-48 arasında anlamlı bir azalma görüldü ($p<0,05$). Gruplara göre doku irisin düzeylerinin dağılımı Şekil 48'de gösterildi.



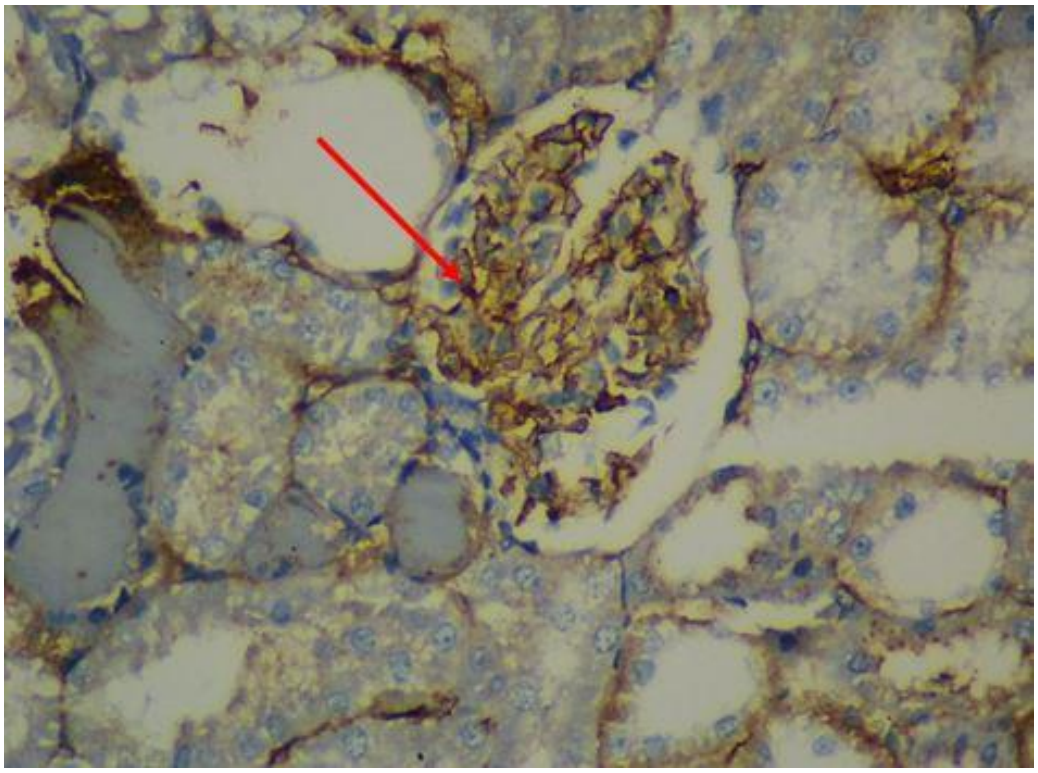
Şekil 45.Gruplar arası ortalama doku irisin düzeylerinin karşılaştırılması
Gruplar: K-6: 6 saatlik Kontrol Grubu K-24: 24 Saatlik Kontrol Grubu, K-48: 48 Saatlik Kontrol Grubu, MABH-6: 6 Saatlik MABH Grubu MABH-24: 24 Saatlik MABH Grubu, MABH-48: 48 Saatlik MABH Grubu, b: K-24 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, c: K-48 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, d: MABH-6 ile MABH-24 arasındaki karşılaştırma, e: MABH-6 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, f: MABH-24 ile MABH-48 arasındaki karşılaştırma, **:p<0,01

İmmünohistokimyasal olarak irisinin değerlendirmesi yapmak için FNDC5 antikoru ile boyalı sıçan böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde, kontrol grubuna ait sıçanların glomerüllerinde kuvvetli bir pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 45, 47, 49).

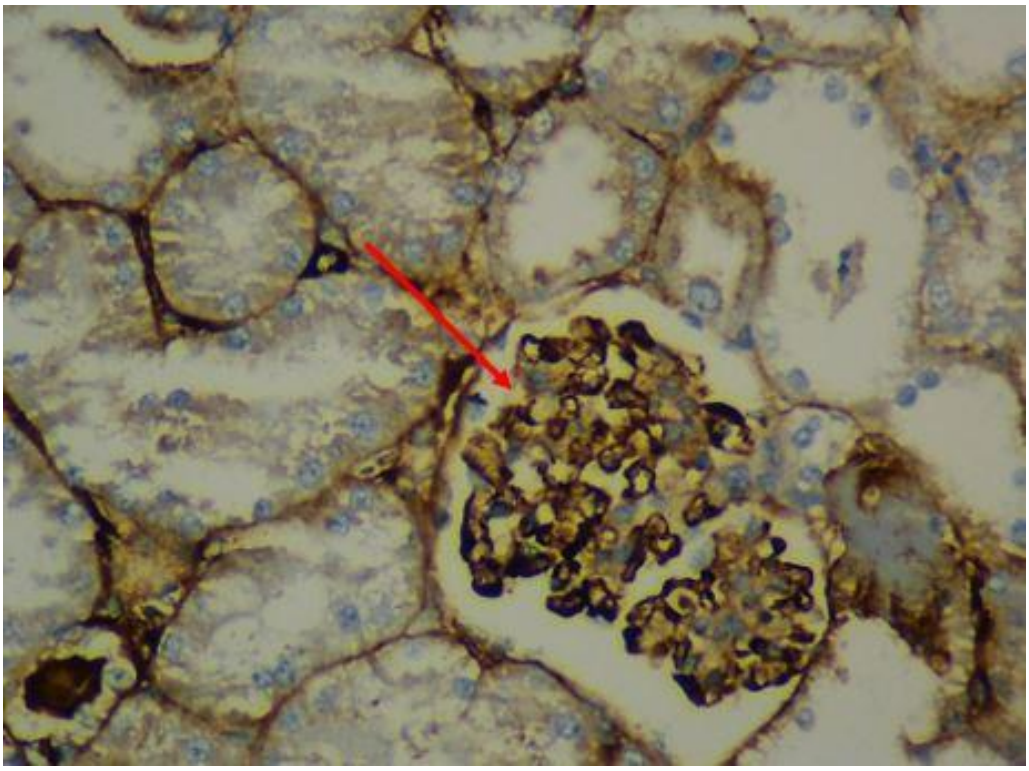
FNDC5 antikoru ile boyalı sıçan böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; 6, 24 ve 48. saat MABH gruplarına ait doku örnekleri glomerülerinde zamana bağımlı olarak giderek azalan şekilde, pozitif reaksiyonlu boyanma izlendi (Şekil 46, 48, 50)



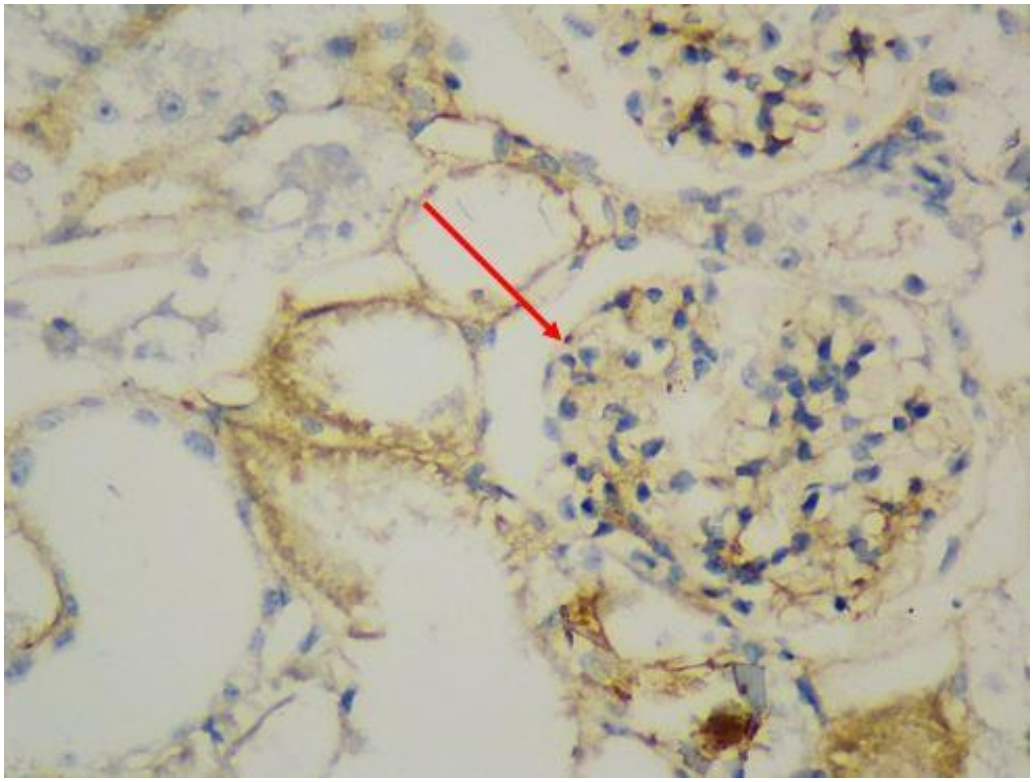
Şekil 46. K-6 grubu FNDC5 antikoru (x400)



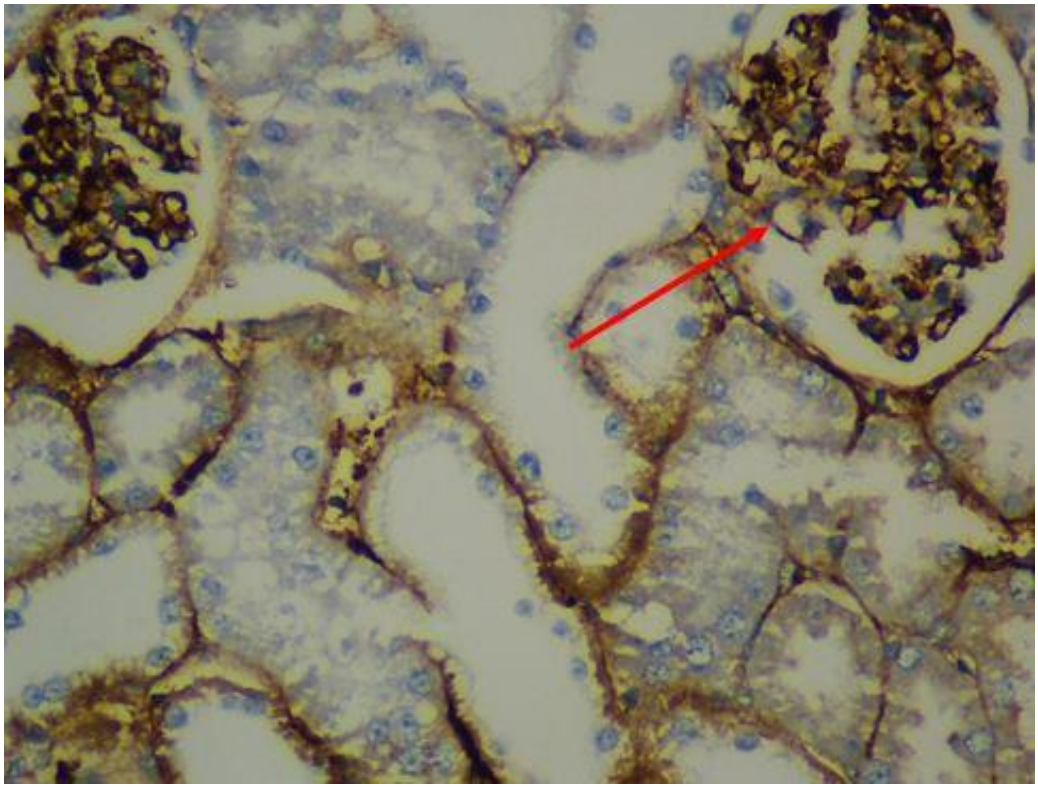
Şekil 47. MABH-6 grubu FNDC5 antikoru (x400)



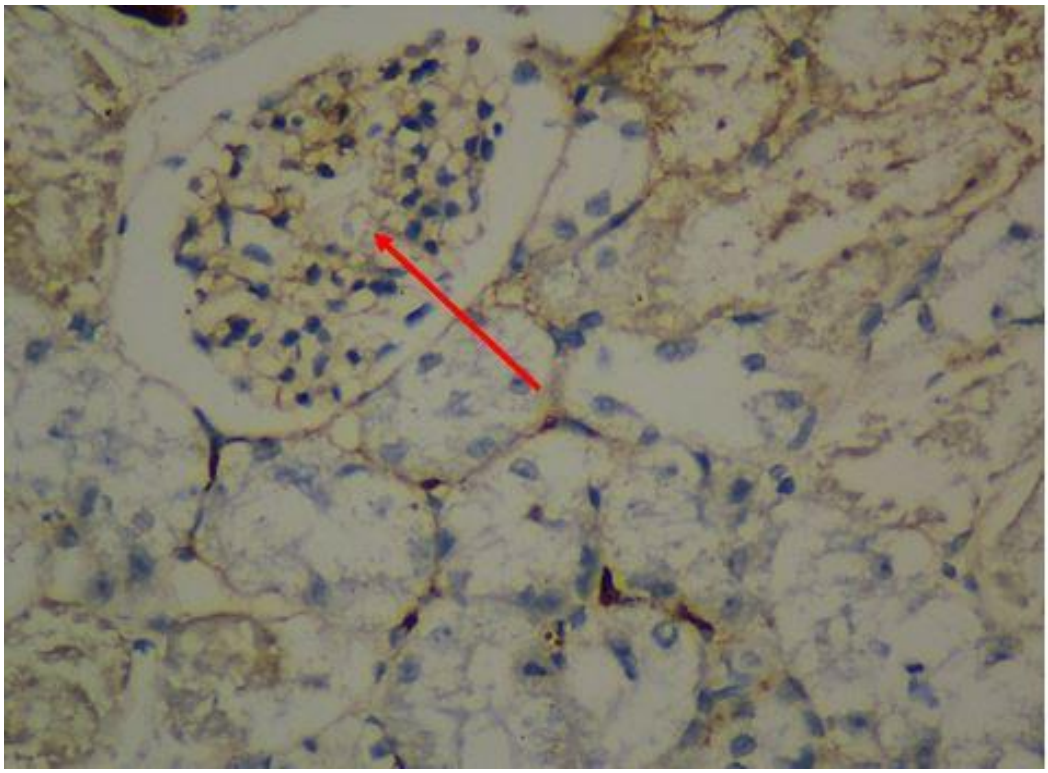
Şekil 48. K-24 grubu FNDC5 antikoru (x400)



Şekil 49. MABH-24 grubu FNDC5 antikoru (x400)



Şekil 50. K-48 grubu FNDC5 antikoru (x400)



Şekil 51. MABH-48 grubu FNDC5 antikoru (x400)

TARTIŞMA

Hipertonik gliserolün deney hayvanlarının arka bacak kaslarına enjeksiyonu ile oluşturulan deneysel hayvan modeli rabdomiyolize bağlı insanlarda gelişen MABH'ye özdeş olarak kabul edilir. Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu ciddi kas hasarına neden olması neticesinde intravasküler hacim azalması, ciddi kas hasarı sonucu vazokonstriktör etkili endotoksik sitokinlerin dolaşıma salınması, miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan hem proteinlerinin güçlü bir vazodilatatör olan NO'yu yakalayıcı etkileri böbrek damarlarında güçlü bir kontraksiyona neden olduğu rapor edilmektedir. Ayrıca bu modelde böbrek fonksiyonlarında azalma, oksidatif stres parametrelerinde artma, NO düzeylerinde azalma ve histopatolojik olarak böbrek hasarının arttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (1,2,4,50).Deneysel MABH'nin incelendiği çalışmalarda gliserolün 5, 6, 7, 8 ve 10 ml/kg dozunda verildiği ve 3, 6, 24, 48, 72, 96 ve 120. saatlerde ki etkilerinin incelendiği birçok çalışma literatürde mevcuttur (4,105,106).

Son yıllarda ABH'yi erken tesbit edilmesini ve oluşan hasarın derecesinin tespitine yönelik olarak farklı biyobelirteçlerin bulunması ve tanımlanması amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır (107). Bu moleküller idrar, kan veya böbrek dokusunun yapısında belirlenebilmektedir. Klinik olarak ABH'nin prognozunun belirlenmesi farklı böbrek hasarı tiplerinin teşhisive erken tanısı amacıyla idrar çıkışı ve serum kreatinin düzeyleri tespit edilmektedir. Yeni keşfedilen biyobelirteçlerin pek çoğu ABH'nin fizyopatolojisinin anlaşılmasında önemli rol oynadığı rapor edilmiştir. ABH'nin erken teşhis edilmesine yönelik geliştirilen biyobelirteçlerin çoğunun özgün olmadığı bildirilmektedir. ABH'nin tedavisindeki ilerlemelerin sağlanması, erken tanı konulması

ve tedavi yanıtının belirlenmesini sağlayacak duyarlı ve özgün biyobelirteçlerin saptanmasına yönelik çalışmaların önemli olduğu bildirilmektedir (9,108-111).

Çalışmamızda iskelet kaslarından salınan irisinin, kas hasarına bağlı olarak gelişen MABH'nın farklı zaman dilimlerinde plazma ve idrar irisin seviyelerindeki değişiklikler ile böbreklerdeki lokalizasyonunun immunohistokimyasal olarak incelemek ve serbest radikal hasarı, NO mekanizması ve böbrek fonksiyonları ile ilişkisini ve irisinin bir biyolojik belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmayı amaçladık.

İskelet kasının fonksiyonel durumunun belirlenmesinde hem fizyolojik hem de patolojik şartlarda serum CK, LDH, miyoglobin, AST, troponin ve K^+ kas hasarının belirteçleri olarak yaygın kullanılmaktadır(112). Deneysel MABH modelinin farklı zaman periyotlarında kas hasarı belirteçleri olarak CK, AST ve ALT'nin kullanıldığı çalışmalarda AST ve ALT düzeylerinin 24. saatlerde pik yaptığı ve 48. saatlerde yine yüksek olarak kaldıkları gösterilmiştir(112,113). Bu çalışmalarda serum CK düzeyinin ise ilk 12 saatte pik yaptığı ve daha sonra hızla düştüğü gösterilmiştir (66,68). Plotnikov ve ark.'nın(114) çalışmalarında LDH ve ALT düzeylerinin 1. günde arttığı daha sonraki zaman dilimlerinde azaldığı rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise CK, AST, ALT ve LDH düzeyleri 6. saate pik yaptı. 24. ve 48. saatlerde ise halen kontrol gruplarına göre; anlamı düzeyde yüksek olduğu görüldü.Çalışma sonuçlarımız daha önce yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (112,113,115-119).

Kas içi gliserol uygulanarak MABH geliştirilen gruplar ile kontrol grupları karşılaştırıldığında ALT, AST ve LDH aktivitelerinin MABH-6, MABH-24 ve MABH-48 saatlerde anlamlı düzeyde arttığı, CK enzim aktivitesinin ise MABH-6 ve MABH-24. saatlerde arttığı,MABH-48.sgrubundaki değişikliğin anlamlı olmadığı görüldü. Çalışmamızda skelet kas hasarının belirteci olarak kullandığımız CK, AST, ALT ve LDH aktivitelerinin düzeyleri mevcut literetüdeki çalışmaların sonuçları ile paralellik gösterdi(4,35,117,118,120,121).

Potasyum düzeyleri kontrol gruplarına göre MABH gruplarında anlamlı düzeyde artış görülürken MABH-48 grubunda hem MABH-6 ve MABH-24 grubuna göre de anlamlı bir artış meydana geldi. Bu sonuçlar geç dönemde enzim aktivitelerinde azalma görülmesine rağmen, potasyum düzeyinin zamana bağlı olarak arttığını göstermektedir. Sonuçlarımız yapılan MABH modellerinin literatür sonuçları ile uyumludur. (2,4,117,119,120).

Çalışmamızda glomerüler fonksiyon bozukluğunun göstergesi olarak kullanılan serum üre ve kreatinin düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü. Ayrıca zamana bağlı olarak MABH grupları arasında anlamlı artışlar gözlendi. Bu sonuçlar, daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışma sonuçları ve mevcut literatür bulgularıyla uyumluluk göstermektedir(2,4,122). Glomerüler filtrasyon hızının göstergesi olan kreatin klirensinde ise kontrol grubuna göre MABH (MABH-24 ve MABH-48) gruplarında anlamlı azalma gözlendi. Bu sonuçlarımız daha önce yapılan çalışma sonuçları ile benzerlik gösterdi(2,4,122).Çalışmamızda tübüler fonsiyonun bir göstergesi olan FeNa atılımında görülen anlamlı düzeydeki artış, mevcut literatür ve laboratuvarımızda yaptığımız çalışmalarda görüldüğü gibi tübüler fonksiyon bozukluğunun oluştuğunu gösterdi(2,4,122).

Çalışmamızda MABH'da serbest radikallerin oluşturduğu hasarın bir göstergesi olan, lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyleri kontrol gruplarına göre MABH-6 ve 24 gruplarında düzeylerinde anlamlı bir artış görülürken MABH-48'de anlamlı bir fark gözlenmedi. Bu sonuçlarımız MABH'de 6.saatte MDA'nın en yüksek seviyesine ulaştığı ve zamana bağlı olarak düzeylerinde azalma olduğu görüldü(2,4,122-124).

Endojen güçlü antioksidanlardan biri olan total glutatyon düzeyi 6.saatte yükselirken diğer zaman dilimlerinde oluşan farklılık anlamlı değildi. Bu durumda böbreklerde serbest radikal hasarını 6.saatte en yüksek seviyeye ulaştığı daha sonraki zaman periyotlarında giderek azaldığı ifade edilebilir.

Nitrik oksit, NO sentaz enzimlerinin katalizledikleri bir dizi reaksiyon sonucu sentezlenir. Böbreklerde glomerüler dinamiğin kontrolünde, tübüloglomerüler geri emilim mekanizmasında, renin salgılanmasında, sodyum ve su atılımının düzenlenmesinde önemli rol oynadığı rapor edilmiştir(125-127). Doku NO düzeyleri istatistiksel olarak incelendiğinde kontrol grubu ile kıyasladığımızda bir artış olmasına rağmen anlamlı bir farklılık olmadığı görüldü. Serum NO düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. İdrar NO kontrol grubuna göre NO düzeyi anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. İmmünohistokimyasal yöntemlerle incelediğimiz eNOS aktivitesi MABH-6 grubunda anlamlı değişikler görülmezken MABH-24 ve MABH-48'de anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. MABH grupları arasında zamana bağlı olarak azalma gösterdiği görüldü. iNOS aktivitesi kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde artış gösterdi. iNOS aktivitesinde zamana bağlı olarak anlamlı düzeyde artış olduğu

gözlendi. Bu sonuçlar daha önceki literatürsonuçlar ile benzerlik göstermektedir(2,4,122).

Çalışmamızda kontrol grubu böbrek kesitleri histopatolojik olarak incelendiğinde glomerüllerde tübüler yapılarda patolojik bir bulgu ve herhangi bir nekroz ve kast oluşumuna rastlanmadığı görüldü. MABH oluşturulan 6, 24 ve 48.saatlerdeki gruplara ait sıçanların hematoksilen-eozin ile boyanan böbrek kesitlerinde renal hasar skorunda belirgin anlamlı bir artış gözlendi. Bu artışın zamana bağlı olarak artmış olduğu gözlendi(2,4,118,120,122,123).

İrisinin en önemli bilinen fizyolojik rolü, beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna dönüştürdüğü ve bunu iki yolla yaptığı çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (85,128). İlk yol siklik adenozin monofosfat **(**cAMP), protein kinaz A (PKA), kormon sensitif lipaz (HSL), perilipin yolağı aktive edilmesiyle ikinci yol ise Uncoupling (eşleşmemiş) protein 1(UCP1) ekspresiyonunu artışının sağlanmasıyla yapıldığı literatürde gösterilmiştir (88,91). İrisin ile ilgili ilk çalışmalarda yalnızca isleket kasında varlığı gösterilirken daha sonraki çalışmalar subkutan adipoz doku, kalp kası, beyin-omurilik sıvısı, insan anne sütü, tükürük ve serebellumdaki purkinje hücrelerinde de gösterilmiştir (8).

Çalışmamızda plazma irisin düzeyleri kontrol gruplarına göre MABH6, MABH24 gruplarında anlamlı farklılık görülmedi, K-48 ve MABH-48 ile MABH-24 ve MABH-48 arasında bir artış olduğu saptandı. Doku irisin immünreaktivitesinin immünohistokimyasal yöntemle değerlendirilmesinde, kontrol gruplarına göre MABH24 ve MABH 48.saatlerde anlamlı bir azalma görüldü.Bu azalmanın zamana bağlı olarak anlamlı düzeyde devam ettiği görüldü. İdrar irisin düzeylerinde ise, kontrol grubuna göre MABH 24 ve 48 saatlik gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlendi. MABH grupları arasında anlamlı farklılık olmadığı saptandı.

Liu ve ark.(129), 365 Tip 2 diyabet hastasının katılımıyla yaptıkları çalışmada, plazma irisin düzeyinin diyabetik böbrek yetmezliği olan hastalarda anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmektedir. Benzer şekilde Ebert ve ark.(96), kronik böbrek hastalığı olan 532 hastada evre 1-5 arasında derecelendirilmiş hastalarda hastalığın derecesi arttıkça serum irisin düzeyi azaldığı rapor etmişlerdir. Wen ve ark.(10), kronik böbrek hastalarında irisin düzeyinin sağlıklı insanlara göre azaldığını rapor etmişlerdir. Diğer taraftan, Yang ve ark.(130), obezite ile ilgili olarak yaptıkları çalışmalarında kronik böbrek hasarı olan hastalarda plazma irisin seviyesinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Gürel ve ark.(131), diyabetik olmayan nefropatili hastalar ile diyabetik nefropatili

hastaların hem plazma hem de tükürük irisin düzeyleri karşılaştırıldığında, diyabetik olmayan nefropatili hasta irisin düzeylerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda akut böbrek hasarı oluşturduğumuz gruplarda MABH48 grupta serum irisin seviyesinde artış olduğu görüldü. Çalışmamızın mevcut literatürlerdeki çalışmalar ile farklı sonuçlar göstermesi; literatürdeki çalışmaların kronik böbrek hasarı sonucu gelişmesi ve insan serum veya plazmasındaincelenmesi sonucu olabilir.

Kuloğlu ve ark.(9), akut miyokard enfarktüsü geçiren hastalarının tükürük ve serum irisin düzeylerinin 48 saat içerisinde azaldığını ve tükürük ve serum irisin düzeylerinin bu hastalık için biyobelirteç olabileğini bildirmişlerdir. Fatahian ve ark.(132), miyokard enfarktüsü geçiren hastalarda irisin konsantrasyonunun azalması koruyucu bir yanıt olabileceği ve eğer irisin azalma olmazsa, enerji boşalımı nedeniyle daha fazla doku zararı olabileceği mümkün olduğu rapor edilmiştir.Ijiri ve ark.(133), serum irisin düzeynin KOAH'lı hastalarda 8 haftalık fiziksel aktivite sonrasında artığı ve rutin olarak KOAH'lı hastaların klinik takibinde biyobelirteç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.Bakal ve ark.(134), serum, tükürük ve idrar irisin konsantrasyonlarının akut apandisit gibi inflamasyon durumlarında arttığı ve bu artışın çocuklarda akut apandisitin bir habercisi olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.Balgetir ve Kocaman(135), diyabetik sıçanlarda beyin dokusunda irisin immünreaktivitesinin incelenmesi sonucunda kontrol grubu ile diyabet grubu arasında istatistiksel bir azalma gösterdiği rapor edilmiştir. Benzer şeklide çalışmamızdada MABH geliştirilen sıçanların 6. saatte böbreklerinde anlamlı farklılık görülmezken, 24 ve 48. saatlerde anlamlı olarak azaldığı görüldü. Özçelik ve ark. (136), sabah ve gece saatlerinde akut aerobik egzersiz sırasında antremanlı bireylerin irisin seviyelerinde görülebilecek değişimleri incelenmesi için yapılan çalışma sonucunda, akut egzersiz ile irisin seviyesinin arttığını ancak egzersiz zamanının irisin üzerinde ilave etkisinin gözlenmediğini rapor etmişleridir.

Yukarıda verilen literatürler birarada değerlendirildiğinde, irisinin birçok hastalığın fizyopatolojisinde rol oynadığı görülmektedir. Çalışmamız akut böbrek hasarı modelinde ilk defa irisin düzeylerinin araştırılması yönünden özgünlük taşımaktadır. Bizim çalışmamızda irisinin deneysel MABH'de önemli rol oynadığı söylenebilir. Ayrıca 48.saatteki gruptaki irisin seviyesinin artışı ve böbreklerdeki immünohistokimyasal olarak irisin reaktivitesinin geç dönemde azalması irisinin

iskelet kas hasarına bağlı olarak gelişen MABH'nin teşhiş edilmesinde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bulgularımız deneysel MABH modelinde irisinin böbreklerde geç dönemde immunoreaktivitesi azalırken serumda geç dönemde 48.saatte artmış olmasının mekanizmasını kesin olarak göstermede yetersiz kalmaktadır. Literatür bulguları incelendiğinde irisinin tedavi edici etkilerinin ve biyobelirteç rolünün daha kapsamlı çalışmalarda araştırılmasına ihtiyaç olduğu düşüncesindeyiz.

SONUÇLAR

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulmuş MABH ile kontrol gruplarının 6, 24 ve 48. saatlerdeki böbrek dokusunda MDA, GSH, NO düzeyleri, serum irisin, NO, üre, kreatinin, sodyum, potasyum düzeyleri ile AST, ALT, CK, LDH enzim aktiviteleri ve idrar kreatinin, sodyum düzeyleri ile böbrek dokusunda renal hasar ve kast oluşumundaki değişimlerini ve irisin, iNOS ve eNOS lokalizasyonunu immunohistokimyasal olarak inceledik.

Karşılaştırılan deney gruplarının sonuçları incelendiğinde;

MABH-6 veK-6 gruplarına ait ortalama veriler karşılaştırıldığında, MDA, GSH, üre, kreatinin, ALT, AST, CK, LDH ve potasyum düzeyleri ile immünohistokimyasal olarak renal hasar, kast ve iNOS aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, idrar kreatin düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü. .

MABH-24 ve K-24 gruplarına ait ortalama veriler karşılaştırıldığında, MDA, üre, kreatinin, ALT, AST, CK, LDH ve potasyum ile idrar sodyum, fraksiyonel sodyum atılımı ile immünohistokimyasal olarak renal hasar, kast değerlendirmesi ve iNOS aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, idrar NO, idrar irisin, idrar kreatinin ile 24 saatlik kreatinin klirens düzeyi ile immünohistokimyasal olarak eNOS aktivitesi ve doku irisin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü.

MABH-48 ve K-48 gruplarına ait ortalama veriler karşılaştırıldığında; plazma irisin, serum üre, kreatinin, ALT, AST, LDH, potasyum ve FeNa düzeyleri ile immünohistokimyasal olarak renal hasar, kast değerlendirilmesi ve iNOS aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, idrar NO, idrar irisin, idrar kreatinin ve kreatinin klirensi düzeyi ile immünohistokimyasal olarak eNOS aktivitesi ve doku irisin değerlendirlmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü

MABH-6 ve MABH-24 gruplarına ait ortalama veriler karşılaştırıldığında, serum üre, kreatinin düzeyleri ile immünohistokimyasal olarak renal hasar, kast değerlendirilmesi ve iNOS aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, MDA, ALT, CK ve LDH düzeyi ile immünohistokimyasal olarak eNOS aktivitesi ve doku irisin değerlendirilmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü.

MABH-6 ve MABH-48 gruplarına ait ortalama veriler karşılaştırıldığında, serum üre, kreatinin ve potasyum ile idrar sodyum düzeyleri ile immünohistokimyasal olarak renal hasar, kast değerlendirilmesi ve iNOS aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış,MDA, GSH, doku NO, ALT, AST, CK ve LDH düzeyleri ile immünohistokimyasal olarak eNOS aktivitesi ve doku irisin değerlendirlmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü.

MABH-24 ve MABH-48 gruplarına ait ortalama veriler karşılaştırıldığında, plazma irisin, üre, kreatinin ve potasyum düzeyleri ile immünohistokimyasal olarak renal hasar, kast değerlendirilmesi ve iNOS aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış, MDA, GSH, AST, CK, LDH ve idrar kreatin düzeyi ile immünohistokimyasal olarak doku irisin değerlendirlmesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görüldü.

Gruplar arasında serum NO ve sodyum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi.

Bu sonuçlar dikkate alındığında, gliserol ile oluşturulan MABH modelinde doku irisin ve idrar irisin düzeylerindeki değişimin ABH'nin tanısında bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Fakat plazmada geç dönemde artış göstermesinin mekanizmasını göstermekte yetersiz kalmaktadır.

ÖZET

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı, iskelet kas hasarı sonucu gelişen üremik bir sendromdur. Bu çalışmamızda, iskelet kası tarafından üretilen irisinin deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarı modelinin fizyopatolojindeki rolünü araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada, 42 sıçan (170-200 gr, erkek, Sprague Dawley) kullanıldı.Kontrol ve MABH grupları 3 alt gruba ayrıldı. Tüm sıçanlar 24 saat susuz bırakıldı.kontrol gruplarına saline ve MABH gruplarına %50 gliserol solusyonu intramusküler injekte edildi (8 ml/kg).Her gruptaki sıçanların idrarları toplandı sonra eksanguinasyon yöntemi ile ötenazi yapıldı.

Çalışmamızda, K-48 ve MABH-48 ile MABH-24 ve MABH-48 arasında plazma irisin seviyesinde anlamlı artış gösterildi.K-24 ve MABH-24 ile K-48 ve MABH-48 arasında idrar irisin düzeyinde anlamlı azalma bulundu. K-6 ve MABH-6 arasında böbrek doku irisin ekspresyonu arasında anlamlı artış yokken, K-24 ve MABH-24 ile K-48 ve MABH-48 arasında anlamlı bir azalma bulundu. K-6 ve MABH-6, K-24 ve MABH-24, K-48 ve MABH-48, MABH-6 ve MABH-48 ile MABH-24 ve MABH-48 arasında böbrek hasarı skorunda anlamlı bir artış gösterildi. Kontrol ve MABH grupları arasında serum üre, kreatinin, potasyum düzeyleri, ALT, AST, LDH ve CK aktiviteleri karşılaştırıldığında anlamlı bir artış bulundu.

Böbrek fonksiyonunda zamana bağlı bozulma ve histopatolojik hasarda artış gösterildi. İdrar irisin seviyesi ve böbrek dokusu irisin ekspresiyonunda azalma olurken, serum irisin seviyesi zamana bağlı olarak artığı gösterildi.Bu bulgular irisinin MABH'nin patogenezinde biyobelirteç olarak kullanılabileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Miyoglobinüri, Akut Böbrek Hasarı, Rabdomiyoliz, Nitrik Oksit, İrisin

THE EFFECTS OF IRISIN ON EXPERIMANTEL MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL FAILURE

SUMMARY

Myoglobinuric acute kidney injury (MAKI) is an uremic syndrome that develops after a damage in the skeletal muscle cells. In this study, we aimed to investigate role of irisin which produced by the skeletal muscle, on physiopathologyof experimental MAKI.

In the study, 42 rats (170-200 g, male, Sprague Dawley) were used. The control and MAKI groups were divided into 3 subgroups. All rats were deprived of water for 24 hours. Control groups were given saline and MAKI groups were injected intramuscular 50% glycerol solution (8ml/kg). The urine samples of the rats in each groups were collected than euthanasia was performed by the exsanguination method.

There was a significant increase in plasma irisin levels between C-48 and MAKI-48 groups and between MAKI-24 and MAKI-48 groups ($p<0,05$). There was a significant decrease in the urine irisin levels between C-24 and MAKI-24 groups and between C-48 and MAKI-48 groups. There was no significant increase in the kidney tissue irisin expression immunohistochemically between C-6 and MAKI-6 groups. On the other hand, there was a significant between decrease C-24 and MAKI-24 groups between C-48 and MAKI-48 groups. For the renal injury score, there was a significant between increase C-6 and MAKI-6 groups, between C-24 and MAKI-24 groups between C-48 and MAKI-48 groups between MAKI-6 and MAKI-24 groups between MAKI-6 and MAKI-48 groups and between MAKI-24 and MAKI-48 groups. There was a significant increase in serum urea, creatinine, potassium levels, ALT, AST, LDH, CK activities between control and MAKI groups ($p<0.05$).

We observed a time-dependent decrease in the renal function and increase in the histopathological damage. While there was a decrease in the urinary irisin levels and kidney tissue irisin expression, serum irisin levels were increased depending on the time basis. These findings support that irisin might be used as a diagnostic marker in the pathogenesis of MAKI.

Key words: Myoglobinuri, Acute Renal Injury, Rhabdomyolysis, Nitric Oxide, Irisin

KAYNAKLAR

1. Sever MŞ. Crush (ezilme) Sendromu ve Marmara Depreminden Çıkarılan Dersler.Türk Nefroloji Derneği Yayınları; 2002.

2. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batcioglu K, Kaymak K. Effects of exogenous melatonin on myoglobinuric acute renal failure in the rats. Ren Fail. 2004;26(5):479-86.

3. Shah SV, Walker PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in glycerol-induced acute renal failure. Am J Physiol. 1988;255(3 Pt 2):F438-43.

4. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taskiran R, Tastekin E, Kaymak K. Protective effects of L-carnitine on myoglobinuric acute renal failure in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2006;33(1-2):119-24.

5. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. Kidney Int. 1996;49(2):314-26.

6. Horoz M, Özgür Ö. Akut Böbrek Yetmezligi. Harran Tıp Fak Der. 2004;1(3).

7. Aydin S. Three new players in energy regulation: preptin, adropin and irisin. Peptides. 2014;56:94-110.

8. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Celik A, Yilmaz M, et al. Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. Peptides. 2014;52:68-73.

9. Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Sahin I, Kalayci M, et al. Irisin: a potentially candidate marker for myocardial infarction. Peptides. 2014;55:85-91.

10. Wen MS, Wang CY, Lin SL, Hung KC. Decrease in irisin in patients with chronic kidney disease. PLoS One. 2013;8(5):e64025.

11. Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. 12 ed. Yeğen BÇ, editor. İstanbul: Nobel Yıp Kitapları; 2013.

12. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. Fizyoloji 5ed. Derneği TFB, editor. Ankara: Güneş Tıp Kitapları; 2008.

13. Wyckelsma VL, McKenna MJ. Effects of Age on Na(+),K(+)-ATPase Expression in Human and Rodent Skeletal Muscle. Front Physiol. 2016;7:316.

14. Petejova N, Martinek A. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. Critical Care. 2014;18(224).

15. Nelson DL, Cox MM. Lehninger Biyokimyamın İlkeleri. N K, editor: Palme Yayıncılık; 2005.

16. Karol S, Ayvalı C, Suludere Z. Hücre Biyolojisi. IV. Baskı (Düzeltilmiş ve Genişletilmiş) ed2000.

17. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P, Acute Dialysis Quality Initiative w. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. Crit Care. 2004;8(4):R204-12.

18. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. N Engl J Med. 1996;334(22):1448-60.

19. Albright RC, Jr. Acute renal failure: a practical update. Mayo Clin Proc. 2001;76(1):67-74.

20. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. Lancet. 2005;365(9457):417-30.

21. Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N. Developing a consensus classification system for acute renal failure. Curr Opin Crit Care. 2002;8(6):509-14.

22. Süleymanlar G, Serdengeçti K, Altıparmak MR, Seyahi N. Türkiye'de Nefroloji – Diyaliz ve Transplantasyon. 1 ed. İstanbul: Yorum Danışmanlık; 2008.

23. Feest TG, Round A, Hamad S. Incidence of severe acute renal failure in adults: results of a community based study. BMJ. 1993;306(6876):481-3.

24. Wang HE, Muntner P, Chertow GM, Warnock DG. Acute kidney injury and mortality in hospitalized patients. Am J Nephrol. 2012;35(4):349-55.

25. Bicik Z, Ersan S. Akut Renal Yetmezlik. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 1999;3:113-7.

26. Abuelo JG. Diagnosing vascular causes of renal failure. Ann Intern Med. 1995;123(8):601-14.

27. Lameire N. The definitions and staging systems of acute kidney injury and their limitations in practice. Arab J Nephrol Transplant. 2013;6(3):145-52.

28. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. Crit Care. 2007;11(2):R31.

29. Torres PA, Helmstetter JA, Kaye AM, Kaye AD. Rhabdomyolysis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. Ochsner J. 2015;15(1):58-69.

30. Kuzeyli Kahraman N, Kantarcı G, Kahraman C. Rabdomiyoliz ve Hipovolemiye Bağlı Akut Üremi ile Başvuran Nefrotik Sendromlu Olgu Sunumu. Turkish Nephrology, Dialysis and Transplantation Journal. 2009;18(2):90-3.

31. Stewart IJ, Faulk TI, Sosnov JA, Clemens MS, Elterman J, Ross JD, et al. Rhabdomyolysis among critically ill combat casualties: Associations with acute kidney injury and mortality. J Trauma Acute Care Surg. 2016;80(3):492-8.

32. Sever MS, Erek E, Vanholder R, Ozener C, Yavuz M, Kayacan SM, et al. Lessons learned from the Marmara disaster: Time period under the rubble. Crit Care Med. 2002;30(11):2443-9.

33. Beetham R. Biochemical investigation of suspected rhabdomyolysis. Ann Clin Biochem. 2000;37 (Pt 5):581-7.

34. Tintinalli JE. Tintinalli Acil Tıp. Çete Y, Denizbaşı A, A.A. Ç, Oktay C, Atilla R, editors: Nobel Tıp Kitabevleri; 2013.

35. Bagley WH, Yang H, Shah KH. Rhabdomyolysis. Intern Emerg Med. 2007;2(3):210-8.

36. Altıntepe L, Güney Ş, Tonbul HZ, Türk S, Mazı M, Agca E. Konya'da Zümrüt apartmanı çökmesi sonucu olusan Crush sendromu olguları. Türk nefroloji ve transplantasyon dergisi. 2005;14(1):18-22.

37. Eknoyan G. Acute renal failure in the Armenian earthquake. Ren Fail. 1992;14(3):241-4.

38. Yakut A, Kayataş K, Demirtunç R, Sezgin G. Rabdomiyoliz ile takip edilen hastaların taburculuk kararında kreatinin kinaz düzeyinin önemi: Olgu sunumu. Maltepe Tıp Dergisi. 2013;5(2).

39. Erek E, Sever MS, Serdengecti K, Vanholder R, Akoglu E, Yavuz M, et al. An overview of morbidity and mortality in patients with acute renal failure due to crush syndrome: the Marmara earthquake experience. Nephrol Dial Transplant. 2002;17(1):33-40.

40. Sever MS, Erek E, Vanholder R, Akoglu E, Yavuz M, Ergin H, et al. The Marmara earthquake: epidemiological analysis of the victims with nephrological problems. Kidney Int. 2001;60(3):1114-23.

41. He Q, Wang F, Li G, Chen X, Liao C, Zou Y, et al. Crush syndrome and acute kidney injury in the Wenchuan Earthquake. J Trauma. 2011;70(5):1213-7; discussion 7-8.

42. Vanholder R, Sever MS, Erek E, Lameire N. Rhabdomyolysis. J Am Soc Nephrol. 2000;11(8):1553-61.

43. Gburek J, Birn H, Verroust PJ, Goj B, Jacobsen C, Moestrup SK, et al. Renal uptake of myoglobin is mediated by the endocytic receptors megalin and cubilin. Am J Physiol Renal Physiol. 2003;285(3):F451-8.

44. Zager RA, Burkhart KM, Conrad DS, Gmur DJ. Iron, heme oxygenase, and glutathione: effects on myohemoglobinuric proximal tubular injury. Kidney Int. 1995;48(5):1624-34.

45. Nath KA, Balla G, Vercellotti GM, Balla J, Jacob HS, Levitt MD, et al. Induction of heme oxygenase is a rapid, protective response in rhabdomyolysis in the rat. J Clin Invest. 1992;90(1):267-70.

46. Takahashi K, Nammour TM, Fukunaga M, Ebert J, Morrow JD, Roberts LJ, 2nd, et al. Glomerular actions of a free radical-generated novel prostaglandin, 8-epi-prostaglandin F2 alpha, in the rat. Evidence for interaction with thromboxane A2 receptors. J Clin Invest. 1992;90(1):136-41.

47. Flogel U, Merx MW, Godecke A, Decking UK, Schrader J. Myoglobin: A scavenger of bioactive NO. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(2):735-40.

48. Trifillis AL, Kahng MW, Trump BF. Metabolic studies of glycerol-induced acute renal failure in the rat. Exp Mol Pathol. 1981;35(1):1-13.

49. Akimau P, Yoshiya K, Hosotsubo H, Takakuwa T, Tanaka H, Sugimoto H. New experimental model of crush injury of the hindlimbs in rats. J Trauma. 2005;58(1):51-8.

50. Abul-Ezz SR, Walker PD, Shah SV. Role of glutathione in an animal model of myoglobinuric acute renal failure. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991;88(21):9833-7.

51. Coskun O, Armutcu F, Kanter M, Kuzey GM. Protection of endotoxin-induced oxidative renal tissue damage of rats by vitamin E or/and EGb 761 treatment. J Appl Toxicol. 2005;25(1):8-12.

52. Çakatay U, Kayalı R. Serbest Radikal Biyokimyasının Tarihsel Süreçteki Gelişimi. Cerrahpasa J Med 2006;37:162-7.

53. Karabulut H, Gülay MŞ. Serbest Radikaller. MAKÜ Sag Bil Enst Derg. 2016;4(1).

54. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med. 1991;91(3C):31S-8S.

55. Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. Kemoterapi, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi. 2011;31(2):137-50.

56. Ratliff BB, Abdulmahdi W, Pawar R, Wolin MS. Oxidant Mechanisms in Renal Injury and Disease. Antioxidants & Redox Signaling. 2016;25(3):119-46.

57. Delibaş N, Özcankaya R. Serbest Radikaller. SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 1995;2(3):11-7.

58. Dizdaroglu M, Karakaya AE. Advances in DNA damage and repair : oxygen radical effects, cellular protection, and biological consequences. New York: Plenum Press; 1999. 511 s. p.

59. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006;160(1):1-40.

60. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem. 1999;32(8):595-603.

61. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin Biochem. 2004;37(2):112-9.

62. Cure E, Kirbas A, Tumkaya L, Cure MC, Sahin OZ, Kalkan Y, et al. Effect of infliximab against cisplatin-induced nephrotoxicity. Saudi Med J. 2014;35(9):953-8.

63. Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar Tıp Araştırmaları Dergisi. 2011;9(2):73-83.

64. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik oksit biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri. Ankara: Palme Yayıncılık, ; 2003.

65. Sugita H, Fujimoto M, Yasukawa T, Shimizu N, Sugita M, Yasuhara S, et al. Inducible nitric-oxide synthase and NO donor induce insulin receptor substrate-1 degradation in skeletal muscle cells. J Biol Chem. 2005;280(14):14203-11.

66. Eich RF, Li T, Lemon DD, Doherty DH, Curry SR, Aitken JF, et al. Mechanism of NO-induced oxidation of myoglobin and hemoglobin. Biochemistry. 1996;35(22):6976-83.

67. Köksel O, Tamer L, Özdülger A, Erçil M, Ercan B, Kanık A. Oleik Asit ile Oluşturulan Akut Akciğer Hasarında Görülen Nitrik Oksit Metabolitlerinin Artışı Üzerine N-Asetilsistein'in Etkisi. T Klin J Med Sci. 2004;24.

68. Geller DA, Billiar TR. Molecular biology of nitric oxide synthases. Cancer Metastasis Rev. 1998;17(1):7-23.

69. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri. T Klin J. 2000;20(107).

70. Bolotina VM, Najibi S, Palacino JJ, Pagano PJ, Cohen RA. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. Nature. 1994;368(6474):850-3.

71. Bruckdorfer R. The basics about nitric oxide. Mol Aspects Med. 2005;26(1-2):3-31.

72. Sessa WC. Regulation of endothelial derived nitric oxide in health and disease. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005;100 Suppl 1:15-8.

73. Ergüven M, Doğu A, Yılmaz Ö. Obez çocuklarda kan homosistein düzeylerinin ve diğer potansiyel erken aterosklerotik risk faktörlerinin değerlendirilmesi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2007;50:241-7.

74. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2007;34(9):906-11.

75. Raij L. Mechanisms of vascular injury: the emerging role of the endothelium. J Am Soc Nephrol. 1991;2(2 Suppl 1):S2-8.

76. Guan Z, Gobe G, Willgoss D, Endre ZH. Renal endothelial dysfunction and impaired autoregulation after ischemia-reperfusion injury result from excess nitric oxide. Am J Physiol Renal Physiol. 2006;291(3):F619-28.

77. Atmaca G. Nitrik Oksit, Nitrik Oksit Sentaz ve Sarımsak. Kocatepe Tıp Dergisi 2001;2:217-33.

78. Davies PF. Multiple signaling pathways in flow-mediated endothelial mechanotransduction: PYK-ing the right location. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002;22(11):1755-7.

79. Lee J, Bae EH, Ma SK, Kim SW. Altered Nitric Oxide System in Cardiovascular and Renal Diseases. Chonnam Med J. 2016;52(2):81-90.

80. Tekin İ, Kiriş İ, Karahan N, Aktürk O, Delibaş N, Öcal A. İloprostun Deneysel Aortik İskemi-Reperfüzyon Modelinde İskelet Kası Hasarına Etkisi. Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Sci 2009;21(2).

81. Loscalzo J VJ. Nitric Oxide and the cardiovascular System. XI ed: Springer; 2000.

82. Türköz Y, Özerol E. Nitrik Oksit'in Etkileri ve Patolojik Rolleri. Journal of Turgut Özal Medical Center. 1997;4(4).

83. Çıtak EÇ, İleri T. Nitrik Oksitin Böbrek Fonksiyonları ve Hastalıklarından Yeri. T Klin Pediatri. 1999;8:98-105.

84. Dellamea BS, Leitao CB, Friedman R, Canani LH. Nitric oxide system and diabetic nephropathy. Diabetol Metab Syndr. 2014;6(1):17.

85. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature. 2012;481(7382):463-8.

86. Dun SL, Lyu RM, Chen YH, Chang JK, Luo JJ, Dun NJ. Irisin-immunoreactivity in neural and non-neural cells of the rodent. Neuroscience. 2013;240:155-62.

87. Al-Daghri NM, Alkharfy KM, Rahman S, Amer OE, Vinodson B, Sabico S, et al. Irisin as a predictor of glucose metabolism in children: sexually dimorphic effects. Eur J Clin Invest. 2014;44(2):119-24.

88. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. Metabolism. 2012;61(12):1725-38.

89. Zhang W, Chang L, Zhang C, Zhang R, Li Z, Chai B, et al. Irisin: A myokine with locomotor activity. Neurosci Lett. 2015;595:7-11.

90. Elsen M, Raschke S, Eckel J. Browning of white fat: does irisin play a role in humans? J Endocrinol. 2014;222(1):R25-38.

91. He H, Yang D, Ma L, Luo Z, Ma S, Feng X, et al. Telmisartan prevents weight gain and obesity through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-delta-dependent pathways. Hypertension. 2010;55(4):869-79.

92. Yang Z, Chen X, Chen Y, Zhao Q. Decreased irisin secretion contributes to muscle insulin resistance in high-fat diet mice. Int J Clin Exp Pathol. 2015;8(6):6490-7.

93. Czarkowska-Paczek B, Zendzian-Piotrowska M, Gala K, Sobol M, Paczek L. One session of exercise or endurance training does not influence serum levels of irisin in rats. J Physiol Pharmacol. 2014;65(3):449-54.

94. Balgetir F, Kocaman N. Deneysel Diyabetik Ratların Beyin Dokusunda İrisin İmmünaktivitesi Üzerine Losartının Etkileri. Fırat Tıp Derg/Firat Med J. 2016;21(2):63-6.

95. Rodriguez-Carmona A, Perez Fontan M, Sangiao Alvarellos S, Garcia Falcon T, Pena Bello ML, Lopez Muniz A, et al. Serum levels of the adipomyokine irisin in patients with chronic kidney disease. Nefrologia. 2016;36(5):496-502.

96. Ebert T, Focke D, Petroff D, Wurst U, Richter J, Bachmann A, et al. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. Eur J Endocrinol. 2014;170(4):501-6.

97. Adams TD, Patel M, Hosgood SA, Nicholson ML. Lowering Perfusate Temperature From 37 degrees C to 32 degrees C Diminishes Function in a Porcine Model of Ex Vivo Kidney Perfusion. Transplant Direct. 2017;3(3):e140.

98. Datta D, Foley RJ, Wu R, Grady J, Scalise P. Renal Function, Weaning, and Survival in Patients With Ventilator-Dependent Respiratory Failure. J Intensive Care Med. 2017:885066617696849.

99. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979;95(2):351-8.

100. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. Clin Chim Acta. 2000;293(1-2):53-62.

101. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. Clin Chem. 1990;36(8 Pt 1):1440-3.

102. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193(1):265-75.

103. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. Can J Surg. 2013;56(1):6-14.

104. Rabb H. Role of leukocytes and leukocyte adhesion molecules in renal ischemic-reperfusion injury. Front Biosci. 1996;1:e9-14.

105. Crippen D. The World Trade Center attack. Similarities to the 1988 earthquake in Armenia: time to teach the public life-supporting first aid? Crit Care. 2001;5(6):312-4.

106. Richards NT, Tattersall J, McCann M, Samson A, Mathias T, Johnson A. Dialysis for acute renal failure due to crush injuries after the Armenian earthquake. BMJ. 1989;298(6671):443-5.

107. Koçan H, Yıldırım Ş, Özdemir E. Böbrek Biyobelirteçleri. İKSST Derg 2016;8(2):71-4.

108. Schrezenmeier EV, Barasch J, Budde K, Westhoff T, Schmidt-Ott KM. Biomarkers in acute kidney injury - pathophysiological basis and clinical performance. Acta Physiol (Oxf). 2017;219(3):554-72.

109. Nguyen MT, Ross GF, Dent CL, Devarajan P. Early prediction of acute renal injury using urinary proteomics. American Journal of Nephrology. 2005;25(4):318-26.

110. Devarajan P. Proteomics for biomarker discovery in acute kidney injury. Semin Nephrol. 2007;27(6):637-51.

111. Zhou H, Hewitt SM, Yuen PS, Star RA. Acute Kidney Injury Biomarkers - Needs, Present Status, and Future Promise. Nephrol Self Assess Program. 2006;5(2):63-71.

112. Yang FL, Subeq YM, Chiu YH, Lee RP, Lee CJ, Hsu BG. Recombinant human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. Injury. 2012;43(3):367-73.

113. Subeq YM, Wu WT, Lee CJ, Lee RP, Yang FL, Hsu BG. Pentobarbital reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in conscious rats. J Trauma. 2009;67(1):132-8.

114. Plotnikov EY, Chupyrkina AA, Pevzner IB, Isaev NK, Zorov DB. Myoglobin causes oxidative stress, increase of NO production and dysfunction of kidney's mitochondria. Biochim Biophys Acta. 2009;1792(8):796-803.

115. Dai CS, Tang SS, Deng SJ, Zhang S, Zhou Y, Velkov T, et al. Lycopene Attenuates Colistin-Induced Nephrotoxicity in Mice via Activation of the Nrf2/HO-1 Pathway. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2015;59(1):579-85.

116. Ayvaz S, Aksu B, Kanter M, Uzun H, Erboga M, Colak A, et al. Preventive effects of hyperbaric oxygen treatment on glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. J Mol Histol. 2012;43(2):161-70.

117. Cebi G, Yildiz S, Uzun G, Oztas Y, Sabuncuoglu S, Kutlu A, et al. The effect of hyperbaric oxygen therapy on rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. Ren Fail. 2016;38(9):1554-9.

118. Estaphan S, Eissa H, Elattar S, Rashed L, Farouk M. A study on the effect of cimetidine and L-carnitine on myoglobinuric acute kidney injury in male rats. Injury. 2015;46(7):1223-30.

119. Nara A, Yajima D, Nagasawa S, Abe H, Hoshioka Y, Iwase H. Evaluations of lipid peroxidation and inflammation in short-term glycerol-induced acute kidney injury in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2016;43(11):1080-6.

120. Ustundag S, Sen S, Yalcin O, Ciftci S, Demirkan B, Ture M. L-Carnitine ameliorates glycerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. Ren Fail. 2009;31(2):124-33.

121. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. Clin Chem Lab Med. 2010;48(6):757-67.

122. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batcıoglu K, Kaymak K. Effects of cafeic acid phenethyl ester on glycerol-induced acute renal failure in rats. Clin Exp PharmacoPhysiol 2004;31(9).

123. Singh D, Chander V, Chopra K. Protective effect of naringin, a bioflavonoid on glycerol-induced acute renal failure in rat kidney. Toxicology. 2004;201(1-3):143-51.

124. Zhang HA, Wang M, Zhou J, Yao QY, Ma JM, Jiang CL. Protective effect of ginsenoside against acute renal failure and expression of tyrosine hydroxylase in the locus coeruleus. Physiol Res. 2010;59(1):61-70.

125. Mount PF, Power DA. Nitric oxide in the kidney: functions and regulation of synthesis. Acta Physiol (Oxf). 2006;187(4):433-46.

126. Baylis C. Nitric oxide synthase derangements and hypertension in kidney disease. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2012;21(1):1-6.

127. Palm F, Teerlink T, Hansell P. Nitric oxide and kidney oxygenation. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2009;18(1):68-73.

128. Novelle MG, Contreras C, Romero-Pico A, Lopez M, Dieguez C. Irisin, two years later. Int J Endocrinol. 2013;2013:746281.

129. Liu JJ, Liu S, Wong MD, Tan CS, Tavintharan S, Sum CF, et al. Relationship between circulating irisin, renal function and body composition in type 2 diabetes. J Diabetes Complications. 2014;28(2):208-13.

130. Yang S, Xiao F, Pan L, Zhang H, Ma Z, Liu S, et al. Association of serum irisin and body composition with chronic kidney disease in obese Chinese adults: a cross-sectional study. BMC Nephrol. 2015;16:16.

131. Gürel A, Atlı H, Düzenci D, Aydın S, Doğukan A. Plasma and Saliva Irisin Levels of Patients with Diabetic Nephropathy and Non-Diabetic Proteinuria. Turk Neph Dial Transpl 2015;24(3):302-6.

132. Fatahian A, Nayeri H, Sadeghi M. Irisin, a New Biomarker in Diagnosis of Atherosclerosis and Myocardial Infarction. Journal of Isfahan Medical School. November 2015;33(350).

133. Ijiri N, Kanazawa H, Asai K, Watanabe T, Hirata K. Irisin, a newly discovered myokine, is a novel biomarker associated with physical activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respirology. 2015;20(4).

134. Bakal U, Aydin S, Sarac M, Kuloglu T, Kalayci M, Artas G, et al. Serum, Saliva, and Urine Irisin with and Without Acute Appendicitis and Abdominal Pain. Biochem Insights. 2016;9:11-7.

135. Balgetir F, Kocaman N. Deneysel Diyabetik Ratların Beyin Dokusunda İrisin İmmünreaktivitesi Üzerine Losartanın Etkileri Fırat Tıp Derg/Firat Med J 2016;21(2):63-6.

136. Özçelik O, Algül S, Deniz M, Baydaş F, Tan F, . Sabah ve gece yapılan aerobik egzersizin antrenmanlı deneklerde serum irisin düzeyine etkilerinin belirlenmesi. Genel Tıp Dergisi. 2017;27(1):1-5.

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Reaktif oksijen ve azot türleri.....11
Tablo 2. Tüm grupların değişkenlerine ait Ortalama ± Standart Sapma verileri 32
Tablo 3. Grupların böbrek hasarı derecesini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri.....48
Tablo 4. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri.....48
Tablo 5. Grupların eNOS immünreaktivitesi Sonuçları 54
Tablo 6. Grupların iNOS İmmünreaktivitesi Sonuçları 59
Tablo7. Grupların böbrek dokusu irisin değerlendirilmesini gösteren histopatolojik sonuçları ve ortalama değerleri 64

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.Egzersizle uyarılan yağ dokusunun PGC-1α ve irisin yoluyla kahverengileşmesi.....19
Şekil 2.Standart solüsyonların dilüsyonu.....28
Şekil 3. Gruplar arası ortalama MDA düzeylerinin karşılaştırılması.....34
Şekil 4. Gruplar arası ortalama GSH düzeylerinin karşılaştırılması.....35
Şekil 5. Gruplar arası ortalama böbrek dokusu NO düzeylerinin karşılaştırılması.....35
Şekil 6. Gruplar arası ortalama serum NO düzeylerinin karşılaştırılması.....36
Şekil 7. Gruplar arası ortalama idrar NO düzeylerinin karşılaştırılması.....37
Şekil 8. Gruplar arası ortalama plazma irisin düzeylerinin karşılaştırılması.....37
Şekil 9. Gruplar arası ortalama idrar irisin düzeylerinin karşılaştırılması.....38
Şekil 10. Gruplar arası ortalama serum sodyum düzeylerinin karşılaştırılması.....39
Şekil 11. Gruplar arasıortalama serum potasyum düzeylerinin karşılaştırılması.....39
Şekil 12. Gruplar arası ortalama üre düzeylerinin karşılaştırılması.....40
Şekil 13. Gruplar arası ortalama serum kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması.....41
Şekil 14. Gruplar arası ortalama ALT düzeylerinin karşılaştırılması.....41
Şekil 15. Gruplar arası ortalama AST düzeylerinin karşılaştırılması.....42
Şekil 16. Gruplar arası ortalama CK düzeylerinin karşılaştırılması.....43
Şekil 17. Gruplar arası ortalama LDH düzeylerinin karşılaştırılması.....43
Şekil 18. Gruplar arası ortalama idrar kreatinin düzeylerinin karşılaştırılması.....44
Şekil19. Gruplar arası ortalama idrar sodyum düzeylerinin karşılaştırılması.....45
Şekil 20. Gruplar arası ortalama idrar hacmi düzeylerinin karşılaştırılması.....45
Şekil 21. Gruplar arası ortalama kreatin klirensi düzeylerinin karşılaştırılması.....46
Şekil 22. Gruplar arası ortalama FeNa düzeylerinin karşılaştırılması.....47

Şekil 23. Gruplar arası ortalama renal hasar düzeylerinin karşılaştırılması 49
Şekil 24. Gruplar arası ortalama kast oluşumu değerlendirmesinin karşılaştırılması.50
Şekil 25. K-6 grubunun böbrek kesiti (HEx400).....51
Şekil 26. MABH-6 grubunun böbrek kesiti (HEx400).....51
Şekil 27. K-24 grubunun böbrek kesiti (HEx400).....52
Şekil 28. MABH-24 grubunun böbrek kesiti (HEx400).....52
Şekil 29. K-48 grubunun böbrek kesiti (HEx400).....53
Şekil 30. MABH-48 grubunun böbrek kesiti (HEx400).....53
Şekil 31. Gruplar arası ortalama eNOS immünreaktivitesinin karşılaştırılması.....55
Şekil 32. K-6 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400) 56
Şekil 33. MABH-6 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400) 56
Şekil 34. K-24 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400) 57
Şekil 35. MABH-24 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400) ...57
Şekil 36. K-48 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400) 58
Şekil 37. MABH-48 grubunun böbrek dokusunda eNOS immünreaktivitesi (x400) ...58
Şekil 38. Gruplar arası ortalama iNOS immünreaktivitesinin karşılaştırılması 60
Şekil 39. K-6 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400) 61
Şekil 40. MABH-6 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400) 61
Şekil 41. K-24 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400) 62
Şekil 42. MABH-24 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400) 62
Şekil 43. K-48 grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400) 63
Şekil 44. MABH- grubunun böbrek dokusunda iNOS immünreaktivitesi (x400) 63
Şekil 45.Gruplar arası ortalama doku irisin düzeylerinin karşılaştırılması.....65
Şekil 46. K-6 grubu FNDC5 antikoru (x400) 66
Şekil 47. MABH-6 grubu FNDC5 antikoru (x400) 66
Şekil 48. K-24 grubu FNDC5 antikoru (x400) 67
Şekil 49. MABH-24 grubu FNDC5 antikoru (x400) 67
Şekil 50. K-48 grubu FNDC5 antikoru (x400) 68
Şekil 51. MABH-48 grubu FNDC5 antikoru (x400) 68

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Kahramanmaraş'ın Elbistan ilçesinde doğdum. Lise eğitimini Elbistan Gazi Mustafa Kemal Lisesi'nde tamamladım. Lisans eğitimini 2005 yılında, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tamamladım.

2013-2014 Eğitim-Öğretim yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım.

Yayınlar;

1. M. Ozdemir, N. Aydogdu, E. Tastekin and N. Sut,' Investigation of the role of irisin on physiopathology in the experimental myoglobinuric acute kidney injury', Physiology 2016 Joint Meeting of the American Physiological Society and The Physiological Society 29 - 31 July 2016, Dublin, Ireland (Poster)
2. İ.Kozanoğlu, F.Kandemir, M.D. Özdemir, S.Sönmez, H.Özdoğu. Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi Hemaferez Ünitesi Deneyimi. 5.Ulusal Aferez Kongresi (09,2010) (Poster)
3. Ayrım A, Çayırgan F, Korkmaz E, Özdemir M.D, Özdemir T, Selçuk G, Yetişen E. Biyoteknolojide Mikroalgler. Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Sergisi. 23-25 Mayıs 2002, Ankara. (Poster)

EKLER

EK-1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 2014/08 **Karar Tarihi: 29.08.2014**

KARAR NO: 2014.08.02

Yürütücülüğünü, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞODU'nun yaptığı, Yüksek Lisans Öğrencisi Mehmet Deniz ÖZDEMİR'in Yüksek Lisans Tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2014/28 protokol nolu "**Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarında İrisinin Etkileri**" başlıklı çalışma görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri yerel etik kurulu yönergesinde belirtilen ilke ve kurallara uygun bulunarak, çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Vet. Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	İZİNLİ
Doç. Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Tevfik AKTOZ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	İZİNLİ
Yrd. Doç. Dr. Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	İZİNLİ