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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA OKSİTOSİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hatice ÖZATA

Referans no: 10268108

EDİRNE 2019

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

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA OKSİTOSİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hatice ÖZATA

Tez No:10268108

EDİRNE 2019

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 Hatice ÖZATA tarafından tez başlığı "**Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarında Oksitosinin Etkilerinin Araştırılması**" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı **03/07/2019** tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **"Yüksek Lisans Tezi"** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR
JÜRİ BAŞKANI

Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU
ÜYE

Prof. Dr. Bayram YILMAZ
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Tammam SİPAHİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimde ve tez çalışmamda katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen başta tez danışmanım Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya, eğitimimde emekleri olan Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR'a, Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK ve Yrd. Doç.Dr. Mevlüt YAPRAK'a; çalışmalarımda yardımlarıyla yanımda olan Doç. Dr. Ebru TAŞTEKİN, Öğr. Gör. Dr. Oktay KAYA, Araş. Gör. Muhammed Ali AYDIN, Nihayet KANDEMİR, Esra TOSUNOĞLU AKBAŞ'a, Fizyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ.....1

GENEL BİLGİLER 3

KASLARIN YAPISI VE FONKSİYONU 3

AKUT BÖBREK HASARI 3

RABDOMİYOLİZ 8

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARI.....11

NİTRİK OKSİT.....12

SERBEST RADİKALLER.....13

SERBEST RADİKALLERİN ETKİLERİ.....16

ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ 18

OKSİTOSİN 19

GEREÇ VE YÖNTEMLER 21

BULGULAR 31

TARTIŞMA 55

SONUÇLAR 61

ÖZET.....62

SUMMARY 63

KAYNAKLAR 65

RESİMLEMELER LİSTESİ.....74

ÖZGEÇMİŞ.....76

EKLER 78

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABH	:	Akut Böbrek Hasarı
ALT	:	Alanin Aminotransferaz
AST	:	Aspartat Aminotranferaz
ATN	:	Akut Tübüler Nekroz
CK	:	Kreatin Kinaz
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
eNOS	:	Endotelial Nitrik Oksit Sentaz
$FeNa^+$	:	Fraksiyonel sodyum atılımı
FeK^+	:	Fraksiyonel potasyum atılımı
GFH	:	Glomerüler Filtrasyon Hızı
GSH	:	Redükte Glutatyon
H_2O_2	:	Hidrojen Peroksit
I/R	:	İskemi/Reperfüzyon
im	:	İntramüsküler
iNOS	:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz
ip	:	İntraperitonal
K	:	Kontrol
MABH	:	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı
MDA	:	Malondialdehit
NO	:	Nitrik Oksit
NOS	:	Nitrik Oksit Sentaz
$O_2^{-\bullet}$	:	Süperoksit Radikali
OH^-	:	Hidroksil Radikali

OT	:	Oksitosin
RM	:	Rabdomiyoliz
nNOS	:	Nöronal Nitrik Oksit Sentaz

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek hasarı (ABH) günler veya saatler içerisinde glomerüler filtrasyon hızında (GFH) azalma, vücuttan azotlu atıkların atılımının azalması ve sıvı elektrolit dengesini bozacak kadar böbrek fonksiyonlarının gerilemesidir (1).

Rabdomiyoliz travmatik ya da nontravmatik olarak çizgili kas hücrelerinin hasarıyla miyoglobin, kreatin kinaz (CK), aldolaz, laktat dehidrojenaz (LDH), elektrolitler gibi hücre içi bileşenlerinin kan dolaşımına doğrudan salınmasıyla oluşan klinik bir sendromdur. Rabdomiyoliz miyoglobinüri kaynaklı ABH'ye neden olur.(2).

Sıçanlarda hipertonik gliserolün arka bacak kaslarına intramüsküler (im) enjeksiyonu ile miyoglobinürik akut böbrek hasarı (MABH) modeli geliştirilir. Bu modelin fizyopatolojisi insanlarda gelişen MABH'ye özdeş kabul edilmektedir. Hipertonik gliserolün im enjeksiyonu sonucu miyoliz, hemoliz ve hipovolemi gelişir. Miyoliz ve hemoliz sonucu yoğun bir şekilde salınan miyoglobin ve hemoglobin yapısında bulunan serbest demir MABH'nin fizyopatolojisinde önemli bir rol oynar. Serbest demir bir geçiş elementi olması nedeniyle serbest radikallerin oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (3).

Serbest radikaller metabolizmada düşük seviyelerde sürekli olarak üretilen ve antioksidanlar tarafından etkisi yok edilen atom veya moleküllerdir(4). Oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler. UV ışınları, çevre kirliliği, çeşitli kimyasal maddeler serbest radikal oluşumuna neden olmaktadır. Süper oksit ($O_2^{-\cdot}$), hidroksil (HO^-), peroksil, alkoksil, nitrik oksit (NO) serbest radikallerden bazılarıdır. Metabolizmada yoğunlukları arttığında lipidler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde yapısal bozukluklara neden olarak zararlı etkilerini gösterirler (5).

Oksitosin (OT) hipotalamusta paraventriküler ve supraoptikal çekirdeklerden salgılanan bir peptit hormonudur. Asıl görevi doğum sırasında uterus kasılması ve laktasyon döneminde

süt ejekülasyonu yapmaktır (6). Ayrıca böbrek, kalp, timüs, pankreas gibi dokularda reseptörleri bulunan OT kardiyovasküler sistem, hidroelektrolitik regülasyon, adenohipofiz hormonlarının salınımının düzenlenmesinde rol alır. Birçok çalışmada OT'nin antioksidan etki gösterdiği, serbest radikalleri yakaladığı, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir. OT'nin böbrek iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarında, sisplatinin oluşturduğu nefrotoksisiteye karşı ve piyelonefritik ratlarda koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir (7-9). Literatür araştırmalarımıza göre OT'nin deneysel MABH'nin fizyopatolojisindeki rolü ile tedavi edici etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Çalışmamızda gliserol ile oluşturulan MABH modelinde OT'nin böbrek hasarının fizyopatolojisindeki rolü ile OT tedavisinin böbrek fonksiyonları, oksidatif hasar, NO ve böbrek histopatolojisi üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

KASLARIN YAPISI VE FONKSİYONU

İnsan vücudunda kitlesel olarak en büyük yapı olan iskelet kasları, doğumda vücut kütlesinin %25'den biraz azını, genç erişkinlikte %40'dan fazlasını ve yaşlı erişkinlikte %30'dan biraz azını oluştururlar (11). Kas hücreleri birleşerek kas liflerini, kas lifleri de kasları oluşturur.

İskelet kası içerik bakımından %75 su, %20 protein, %5 organik ve inorganik bileşiklerden meydana gelmektedir (11). İskelet kasının temel bileşenleri sarkolemma (kas hücresi membranı), sarkoplazma (kas hücresi sitoplazması), Ca^{++} alımının düzenlenmesi, salınımı ve depolanmasından görevli sarkotübüler sistem, miyoglobin, golgi aparatı, mitokondri ve miyofibrillerden oluşur. Uyarının iletilebilmesi için hücre içi ve dışındaki elektrolit düzeylerinin birbirinden farklı olması önemlidir (12).

AKUT BÖBREK HASARI

Akut böbrek hasarı, nitrojenli atıkların vücuttan atılımının ve asit-baz dengesinin bozulmasına neden olacak kadar böbrek fonksiyonlarının saatler ya da günler içerisinde ani değişmesi olarak kendini gösteren, birçok organ ve sistemi etkileyen bir durumdur (1). Akut böbrek hasarı GFH'de ani düşme, serum kreatinin ve üre seviyesinin sürekli olarak artışından kaynaklanan klinik bir sendrom olarak da tanımlanmaktadır (13)

Akut böbrek hasarı terimi, akut böbrek disfonksiyonunun tüm özelliklerini tam olarak yansıttığından, ABH'nin ileri seviyesi olan akut böbrek yetmezliği (ABY) terimine göre daha

yaygın olarak kullanılmaktadır. ABH'nin evrensel, standart bir tanımı yapılamamıştır ve hala tartışmalı bir konudur. Farklı tanımlarının olması hasta gruplarının kıyaslanabilirliğini güçleştirmiştir. Bu nedenle tek bir basit tanımlama ile ABH tanısı koymak amacıyla Akut Diyaliz Kalite Grubu (ADQI) tarafından 2004 yılında RIFLE (Risk, Yaralanma, Yetmezlik, Kayıp, Son dönem böbrek hastalığı) sınıflandırma sistemi yayınlanmıştır (Tablo 1). Daha sonra 2007 yılında AKIN (Akut Böbrek Hasarı Ağı) tarafından evreleme kriterleri (Tablo 2) ve son olarak 2012 yılında KDIGO'nun ABH kriterleri yayınlanmıştır (Tablo 3) (14-16).

Tablo 1. Akut Böbrek Hasarı Evrelemesi, RIFLE kriterleri (14)

GFH KRİTERİ	İDRAR VOLÜM KRİTERİ	EVRELEME
Skor x 1.5 veya GFH azalışı>%25	<0.5 ml/kg/s x6 saat	**Risk**
Skor x 2 veya GFH azalışı>%50	<0.5 ml/kg/s x12 saat	**Yaralanma**
Skor x 3 veya GFH azalışı>%75 veya Serum kreatinin≥4	<0.3 ml/kg/s x24 saat veya Anüri x12 s	**Hasar**
Tam fonksiyon kaybı>4 hafta		**Kayıp**
Son Düzey Böbrek Hastalığı>3 ay		**Son Dönem Böbrek Hastalığı**

Tablo 2. Akut Böbrek Hasarı-AKIN (Acute Kidney Injury Network) Evrelemesi (14)

1	Kreatinin artışı x 1,5-2 ya da >0,3 mg/dl (48 saat içerisinde)	<0,5 ml/kg/s x 6sa
2	Kreatinin artışı x 2-3	<0,5 ml/kg/s x 12sa
3	Kreatinin artışı x 3 ya da >4 mg/dl (akut artış >0,5 mg/dl) ya da Renal Replasman Tedavisi	<0,3 ml/kg/s x 24sa ya da anüri x 2sa

Tablo 3. Akut Böbrek Hasarı-KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes Evrelemesi (14)

Evre	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Miktarı
1	Bazal değerden 1,5 kat ya da ≥ 0,3mg/dl artış	6 saat boyunca <0,5 ml/kg/saat
2	Bazal değerden 2,0–2,9 kat artış	12 saat boyunca <0,5 ml/kg/saat
3	Bazal değerden 3 kat artış ya da Serum kreatinin >4,0 mg/dl	24 saat veya daha uzun süre boyunca <0,3 ml/kg/saat ya da 12 saatten daha uzun süre anüri

Akut böbrek hasarının etiyolojisi ve prognozu gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde farklılık gösterirken aynı ülkede dahi bölgesel farklılıklar göstermektedir. Sosyoekonomik faktörler, sağlık hizmetlerine erişebilirlik ve çevresel faktörler ABH'nin etiyolojisini ve prognozunu etkilemektedir (17). ABH daha çok yoğun bakım ünitelerinde olmak üzere hastanede yatan tüm hastalarda yüksek insidans, morbidite ve mortalite oranları açısından ciddi bir sorun oluşturmaktadır (18). Yetişkin hastaların %25-40'ında görülen ABH tipik kortikosteroid ve sıvı replasman tedavisiyle geri dönüşümlü olabilmektedir (19). Serum kreatinin seviyesindeki artış, GFH'deki değişiklikler, oligüri (<400 ml/24st^{-1}) veya anüri (idrar çıkışının olmaması) gibi parametreler ABH'nin önemli belirtilerindendir. Bunun yanında hiper-hipokalsemi, yükselmiş magnezyum seviyesi, anemi, perikardit, bulantı, kusma ve iştahsızlık gibi semptomlar ABH'nin varlığını desteklemektedir (1). Tablo 4'de ABH oluşumundaki risk faktörleri verilmiştir.

Tablo 4. ABH için risk faktörleri (20)

ABH için risk faktörleri	
Hasta ile ilgili faktörler	**Uygulama ile ilgili faktörler**
Erkek cinsiyeti Siyah ırk İleri yaş Yüksek vücut kitle indeksi Kalp-damar hastalığı Kronik böbrek hastalığı Diyabet Hipertansiyon Kronik obstrüktif akciğer hastalığı Hipoalbüminemi Anjiyotensin dönüştürücü enzim ya da anjiyotensin-reseptör kullanımı Metastatik kanser Yüksek MELD, revize kardiyak indeksi ve SAPS Ⅱ puanı Travma	Diüretikler ve vazopresörlerin kullanımı İntraoperatif hemodinamik dengesizlik İnvaziv işlemler Kolloid infüzyonu Toksisite Karaciğer rezeksiyonunda epidural anestezi İntravenöz kontrast kullanımı

ABH'nin nedenlerini prerenal, intrinsik renal ve postrenal olmak üzere 3 kategoride inceleyebiliriz.

Prerenal Akut Böbrek Hasarı

Toplumsal ABH vakalarının %25-60'ı prerenal nedenlere bağlanmaktadır. Böbrek parankimine zarar vermeden renal perfüzyon basıncının azalmasına bağlı olarak GFH'de azalma olarak tanımlanır. İlaçlar (anjiotensin enzim inhibitörleri, anjiotensin reseptör blokerleri, siklosporin gibi), kardiyorenal-hepatorenal sendromlar, abdominal kompartman sendromu, hiperkalsemi gibi durumların neden olduğu intrarenal vazokonstriksiyon, bozulmuş kardiyak output, sistemik vazodilatasyon ve hipovolemi prerenal ABH nedenleridir. Prerenal ABH olan hastalarda yeterli volüm sağlandığında böbrek fonksiyonları normale döner (22).

İntrinsik Renal Akut Böbrek Hasarı

İntrinsik renal etiyolojileri ABH olgularının %35-70'ini oluşturmaktadır. İntrinsik renal ABH etiyolojisinin %80-90'ına katkıda bulunan nefrotoksinler ve iskemik yaralanmalar böbreğin tübüler, glomerüller, interstisyel ve intrarenal kan damarları olmak üzere 4 ana yapısını etkileyerek yapısal hasar vermektedir. Akut tübüler nekroz (ATN) olarak da bilinen intrinsik ABH, prerenal ABH'nin aksine yeterli miktarda intravasküler hacim ve böbrek perfüzyonuyla düzelmez. ABH'nin glomerüler hasar nedenleri kan damarlarının ve glomerüllerin akut inflamasyonudur. Akut interstisyel hasardan kaynaklanan ABH çeşitli ilaçlara (penisilinler, sefalosporinler, sülfonamidler gibi); viral, bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara (ebstein-bar virüsü, legionella, kandida gibi); sarkoidoz ve lupus gibi sistemik hastalıklara bağlı akut interstisyel nefrite bağlı gelişebilir. Renal arterleri veya damarları içeren akut olaylar da intrinsik ABH'ye yol açabilir. En sık nedeni ateroembolik hastalık olan intrinsik ABH'nin ağırlıklı olarak yakın zamanda arteriyel kateterizasyon öyküsü, antikoagülasyon gerektiren bir durumun varlığı veya vasküler cerrahi sonrası geliştiği düşünülmektedir (21-23).

Post Renal Akut Böbrek Hasarı

Post renal ABH'nin en sık nedeni idrar yolunun herhangi bir seviyesindeki tıkanıklıktır. Bu durum intratübüler basıncı arttırır ve dolayısıyla GFH'yi azaltır. Postrenal ABH'nin nedenleri erkeklerde iyi huylu prostat hiperplazisi ve prostat kanseri, jinekolojik kanserler, özellikle kadınlarda serviks kanseri, retroperitoneal fibroz, üreter taşları, papiller nekroz, nörojenik mesane ve asiklovir veya indinavir gibi çeşitli maddelerin çökelmesine bağlı intratübüler tıkanıklıktır (22-24).

Akut Tübüler Nekroz

Akut tübüler nekroz, tübüllere verilen hasardan kaynaklanan ABH'yi tanımlamak için kullanılan terimdir. ATN terimi, nispeten az sayıda renal epitel hücresinin derin nekroza uğramasına rağmen, hasar bölgesini doğru bir şekilde tanımlamaktadır. Daha çok renal tübüler epitelyal hücrelerde subletal değişiklikler olması nedeniyle akut tübüler yaralanma terimi daha uygundur. ATN'nin başlıca iki nedeni:

1. İskemik: Böbrek perfüzyonunda ciddi veya uzun süreli düşüşten kaynaklanır.

2. Nefrotoksik: Çeşitli eksojen bileşikler (aminoglikozitler, amfoterisin B, sisplatin, radyo kontrast madde) ve endojen bileşikler (hemoglobin, miyoglobin) nedeniyle böbrekte potansiyel olarak toksik olan maddelerden kaynaklanır (22,23).

RABDOMİYOLİZ

Rabdomiyoliz (RM), iskelet kasının hasara uğraması sonucu hücre içeriğindeki elektrolitler, CK, miyoglobin, diğer hücre içi proteinler ve protein olmayan kompenentlerin sistemik dolaşıma katılmasıyla karakterize klinik bir sendromdur. Travmatik ya da nontravmatik gelişebilir. Bu durumun klasik bulgusu kas ağrısı, kas güçsüzlüğü, çay renginde idrar ve serum CK normal düzeyinin 5-10 katı seviyesine yükselmesidir. Sıklıkla miyoglobinüri ve ağır vakalarda ABH ile sonuçlanır (22,25). Miyoglobin 17.500 Da ağırlığında oksijen ve demir bağlayıcı bir proteindir. Omurgalıların kas dokusunda bulunur ve hemoglobine göre oksijen afinitesi daha yüksektir. İskelet kasının kuru ağırlığının %1-3'ünü oluşturur. Miyoglobin, idrarda 5 μg/l'den daha küçük düzeylerde tespit edilebilir, ancak miyoglobinüri tanısı konulabilmesi için 20 μg/l'den yüksek düzeyde olması gereklidir. Miyoglobinüri oluşumu için en az 100 gr kas hasarı gereklidir. (2,26)

Rabdomiyolizin tarihte bilinen en eski tanımı Eski Ahit Sayılar Kitabı'nda yapılmıştır. İsrail oğullarının Mısır'dan büyük göçleri sırasında baldıran otu olarak da bilinen Conium Maculatum bitkisini tüketen bıldırcınların yenilmesiyle görülen bulguların rabdomiyolizle benzerlik gösterdiği bildirilmektedir. 1900'lerin başında rabdomiyolizin ilk tıbbi tanımlarından biri Alman tıp literatüründe Meyer-Betz hastalığı olarak adlandırılmıştır (27).

Epidemiyolojik olarak erkeklerde, Amerikalı ve Afrikalılarda, 10 yaş altı ve 60 yaş üstü hastalarda, vücut kitle indeksi 40 kg/m²'yi aşan insanlarda sık görülür (21,28). Rabdomiyoliz çeşitli edinsel ve genetik etiyolojilere bağlı olarak gelişebilir. Travma, intoksikasyonlar, koma vb. nedenlere bağlı olarak uzun süre hareketsiz kalınması, aşırı fiziksel aktivite, epileptik nöbetler, hipertermi, hipotermi, alkol kullanımı, ilaç kullanımı, hipopotasemi, hipokalsemi ve hiponatremi gibi elektrolit dengesizlikleri, enfeksiyonlar, nöromüküler monogenik bozukluklara bağlı olarak RM görülebilir (29-32). RM'nin etiyolojik sınıflandırılması Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5: Rabdomiyolizin Etiyolojik Sınıflandırılması (28)

ETKEN	HASTALIK
EDİNSEL	
Travma	Crush sendromu
Efor	Yoğun kas aktivitesi, enerji tüketimi, elektrolit dengesizliği
İskemi	İmmobilizasyon, kompresyon, tromboz
Narkotikler	Kokain, eroin, LSD
Alkol	Akut veya kronik tüketim
İlaçlar	Doza bağlı, çoklu etkileşimler
Enfeksiyonlar	Bakteriyel, viral, paraziter
Yüksek sıcaklık	Hipertermi, hipotermi, nöroleptik maning sendrom
Endokrinopatiler	Hiper/hipo-tiroidizm, diyabetik komplikasyonlar
Toksinler	Örümcek ısırıkları, yaban arısı sokmaları,yılan zehiri
KALITSAL	
Metabolik miyopatiler	Glikojen depolanması, yağ asidi, mitokondriyal bozukluklar
Yapısal miyopatiler	Distrofinopati, disferlinopati
Gen mutasyonları	RYR 1 gen mutasyonu, SCN4A gen mutasyonu
Diğerleri	Orak hücreli anemi, iyi huylu eforlu rabdomiyoliz

Kas hücresi ya doğrudan hücre zarı tahribatından ya da enerji tükenmesinden etkilenir. Serbest iyonize Ca^{+2} hücre içi boşluğa girer, proteazları ve apoptoz yolaklarını aktive eder. Serbest radikallerin üretimi zincirleme tepkimeler sonucu hücre yapısını bozarak mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna ve sonucunda hücre ölümüne yol açar. Enerji (ATP) tükenmesi Na^+/K^+/ATPaz aktivasyonun inhibe eder, böylece hücre içi Na^+ düzeyi yükselir. $2Na^+/Ca^{+2}$ değiştiricisinin çalışamaması hücre içi Ca^{+2}'yı artırır. Kalsiyum ATPaz, enerji tükenmesinden dolayı hücre içi Ca^{+2}'yı dışarı pompalayamaz. Hücre içi Ca^{+2}, hücre zarının yapısal bileşenlerini yok eden, daha fazla Ca^{+2} girişine izin veren fosfolipaz A_2 (PLA_2) gibi proteazları aktive eder. Kalsiyumun aşırı yüklenmesi mitokondriyal bütünlüğü bozarak kas hücresi nekrozuna yol açar. Kas hücre nekrozunun ardından, sitotoksik hücre içi bileşenlerin salınımı kılcal zarara neden olur ve sıvıların hasarlı bölgede toplanmasına yol açar. Gelişen ödem, iskemi ve hücre nekrozu metabolik asidoz ve elektrolit anormalliklerine neden olur (27,33).

Akut böbrek hasarı, RM'nin en sık görülen komplikasyonudur. Rabdomiyolize bağlı ABH tüm olguların %13-%50'sinde görülür. Rabdomiyoliz kaynaklı ABH'nin renal fonksiyon bozukluğuna neden olan miyoglobin tarafından indüklendiği savunulmaktadır. Bu sonuç hayvanlarda gliserol ile indüklenen ABH modeli yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. 10 mg/kg im gliserol enjeksiyonu yapılan tavşanlarda gelişen ABH modeli çalışmaları, insanlarda rabdomiyoliz sonucu miyoglobin salınımının neden olduğu ABH'ye benzediğini ortaya

koymuştur. Gliserolün neden olduğu ABH miyoglobinüri, tübüler nekroz ve renal vazokonstriksiyon ile karakterizedir. Miyoglobinin neden olduğu ABH'de olduğu gibi gliserolün neden olduğu nefrotoksisitedeki en önemli neden serbest radikallere, özellikle de HO^- radikaline bağlanmıştır.(2)

Crush Sendromu

Crush sendromunun (CS) ilk tanımı, modern tıp literatüründe 1909'daki Messina depreminden sonra yapılmıştır (34**)**. Kas ezilmesi nedeniyle gelişen RM, sıvı sekestrasyonu ve miyoglobinüri varlığının sistemik etkilerinin bütünüdür (35). Londra'nın 1941 yılında bombalanması sırasında 4 ezilme vakasının klinik incelenmesi sonrasında hastaların oligürik ve koyu renkli idrar ürettikleri ve böbreklerin histopatolojik incelemesinde pigmentli atıklar, polimorfonükleer invazyon ve ATN görüldüğü rapor edilmiştir (34).

Sistemik bulguları gergin, ödemli ve ağrılı kaslar, kanama, hipovolemik şok, kalp yetmezliği, aritmi, hiperkalemi, psikolojik travma, ABH, sepsis, sistemik inflamatuar yanıt sendromu (SIRS), akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS), çoklu organ disfonksiyonu sendromu (MODS) içerebilir ve yayılmış intravasküler pıhtılaşmadır (DIC) (35). Crush sendromu ile ilişkili mortaliteye sebep olan en önemli mekanizma I/R kaynaklı RM ve ardından serbest radikallere bağlı sistemik inflamasyonun başlamasıdır. Crush sendromuna bağlı gelişen ABH'nin patogenezi multifaktöriyeldir. En önemli faktör hipovolemidir, böbrek hipoperfüzyonuna ve iskemiye yol açar. Uygun tedavi uygulanmaz ise ATN gelişir. Miyoglobinüri, hiperkalemi ve hipokalseminin olumsuz etkileri nedeniyle gelişen böbrek hipoperfüzyonu, ABH patogenezinde rol oynayabilir (34).

Kompartman Sendromu

Kompartman sendromu (KS), fasya ile kaplı kas ve sinir dokusunun bulunduğu kapalı bir alanda doku basıncının artması ve perfüzyonun bozulmasıdır. Daha çok ekstremitelerde, derin ve fraktüre yakın kas dokularında görülür. Genellikle kırıklar, ezilme yaralanmaları, baskılı pansumanlar, yanıklar, sıvı ekstravazasyonları veya ısırıklar gibi travmatik kökenli çeşitli etiyolojilerde ortaya çıkabilir (36). Bulguları iskeminin 6P bulgusuyla özetlenebilir; travma bölgesinde ağrı (pain), basınç artışı (pressure), parestezi (paresthesia), nabızsızlık (pulselessness), parezi (paresis), solukluk (pallor). Hipovolemik şok, ABH, hipotansiyon, aritmi, solunum sıkıntısı, yaygın damar içi pıhtılaşma sistemik olarak görülebilir (10).

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARI

Rabdomiyolize bağlı olarak gelişen miyoglobinürik ABH hayatı tehdit eden önemli bir üremik sendromdur. Patogenezinde demir, serbest radikaller ve NO rol alır (37). Miyoglobine bağlı nefrotoksisitenin altında yatan 3 temel mekanizma vardır:

1. Renal vazokonstriksiyon
2. Hem proteinlerinin oluşturduğu tübüler nekroz
3. Tübüler obstrüksiyon

1- Renal vazokonstriksiyon: Renal vazokonstriksiyon birkaç mekanizmayla açıklanabilir. İlk olarak ağır yaralanmalar sonucu gelişen kas nekrozu üçüncü boşluklarda sıvı birikimine neden olur. Gelişen hipovolemiyle birlikte renin-anjiotensin-aldosteron sistemini aktive ederek vazokonstriksiyonu şiddetlendirir. İkinci olarak ciddi kas hasarı endotelin-1, tromboksan A2, TNF-α gibi endotoksinler üreterek vazokonstriksiyona neden olan endotoksin-sitokin zincirini aktive eder. Üçüncü olarak güçlü bir endojen vazodilatör olan NO'nun etkisi miyoglobin tarafından yok edilir ve sitokin salınımını uyararak vazokonstriksiyona neden olur (38).

2- Hem proteinlerinin oluşturduğu tübüler nekroz: Hem pigmenti içeren hemoglobin ve miyoglobinin proksimal tübüller üzerine sitotoksik etkisi vardır. Miyoglobinin yıkım ürünlerinden ferrihematinin doğrudan toksik etkisiyle tübüllerde obstrüksiyona neden olarak tübüler nekroza yol açmaktadır (38,39).

3- Tübüler obstrüksiyon: Tübüler tıkanıklık öncelikle distal tübüllerde oluşur. Metabolik asidoz, yüksek miyoglobin seviyesi, distal tübüllerde sentezlenen Tamm-Horsfall proteinlerinin varlığı tübüler döküntüye neden olur. Asidik pH'da miyoglobin çözünmeye başlar, Tamm-Horsfall proteinleriyle birleşerek neden olduğu tübüler döküntü sonucu tıkanıklık oluşur (38).

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit fiziksel olarak gaz yapısında, nitrik oksit sentaz (NOS) ile çoğu hücrede enzimatik olarak üretilen, plazma proteinlerini etkileyerek hücreler arası sinyal görevi yapan bir moleküldür (40). Endotel kaynaklı gevşeme faktörü (EDRF) olarak tanımlanır (41). Asetilkolin, bradikinin, glutamat gibi fizyolojik uyaranlarla ya da transkripsiyonel olarak NOS enzimi aktive edilir. Kalsiyum-kalmoduline duyarlı bu enzim aracılığıyla damar endotelinde L-arginin amino asidinin oksijenle birleşmesiyle L-sitrulin ve NO oluşur (42). Reaksiyonda

nikotinamid adenin dinükleotid (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahidrobiyopterin (BH4) kofaktör olarak kullanılır (43). Oluşan NO düz kas hücrelerine diffüze olur ve enzimin hem çekirdeğine bağlanarak guanozin trifosfattan (GTP) siklik guanosin monofosfatın (cGMP) oluşumunu katalize eden çözünebilir guanil siklazı (sGC) aktive eder. cGMP de kas gevşemesine neden olur (44).

Nitrik oksit lipid ve suda hızlıca çözünür. Lipofilik özellikte olan bu molekül herhangi bir taşıyıcıya ihtiyaç duymaksızın hücre membranından kolayca diffüze olur (45). Yarı ömrü çok kısa olup oksijen ve su varlığında 3-20 saniye kadardır. Oksijensiz ortamda inaktif olan NO, oksijen ile temasında tepkimeye girerek doku hasarına neden olan nitrojen dioksite (NO_2) dönüşür (40,42). Düşük düzeyde bulunduğunda birçok fizyolojik olayda önemli role sahipken, yüksek düzeyde bulunduğunda toksiktir. Nitrik oksit oksijene oranla hemoglobine karşı afinitesi oldukça yüksek bir moleküldür. Özellikle hemoglobin olmak üzere hem proteinlerine bağlanarak nitrata (NO_3^-) dönüşür. Böylece NO metabolitleri 5-8 saat içerisinde böbrekler yoluyla vücuttan uzaklaştırılır (40).

Nitrik oksit sentazın nöronal (nNOS/NOS-1), endotelyal NOS (eNOS/NOS-3) ve indüklenebilir NOS (iNOS/NOS2) olmak üzere 3 izoformu vardır. Yapısal NOS (cNOS) olarak da bilinen nNOS ve eNOS vücutta sürekli olarak bulunur. İndüklenebilir NOS ise uyarıya bağlı olarak bulunur (46).

Nöronal NOS ve eNOS enzimlerinin özelliği aktivasyonunun Ca^{+2}'ya bağlı olmasıdır. Hücre içi Ca^{+2} seviyesinin artmasıyla Ca^{+2} kalmoduline bağlanır. Oluşan bu kompleks, cNOS'u aktive ederek NO sentezini başlatır. Bu formda NO sentezi kısa süreli ve düşük seviyededir (47). Bunun sebebi hücre içi Ca^{+2} düzeyinin azalmasıyla enzim aktivitesinin de azalmasıdır (45). nNOS enzimi, daha çok merkezi ve periferik sinir sisteminde ve epitel hücrelerinde üretilir. Kalp kası, iskelet kası ve akciğer epitel hücreleri tarafından da üretildiği gösterilmiştir (47). İşitme, koku alma, hafıza oluşumu, ağrının algılanması, beyinde kan akımın düzenlenmesi, gastrointestinal sistem (GIS) motilitesi gibi fizyolojik olaylarda görev alır (43). eNOS enzimi başta endotelyal ve düz kas hücreleri olmak üzere farklı kromozomlarda bulunan genler tarafından farklı hücrelerde üretilir (48). Kalp, karaciğer, beyin gibi hayati organlarda lokal dolaşımı düzenler. Damar bütünlüğünün korunması, kan basıncı ve akış hızının regüle edilmesi, trombosit agregasyonunun inhibe edilmesi gibi olaylarda görev alır (43). iNOS enzimi TNF-α, interferon, interleukin-1 gibi inflamatuar ajanların etkisiyle makrofajlar ve düz kas hücrelerinde eksprese edilirler. Aktivasyonu için Ca^{+2}'ya gereksinim yoktur. İmmünolojik

olaylarda görev almasının yanı sıra inflamatuar hastalıklarda da önemli rol oynamaktadır (43). iNOS enzimine bağlı olarak üretilen yüksek miktardaki NO ortamda bulunan $O_2^{-\bullet}$ radikaliyle tepkimeye girerek NO_2^- ve HO^- radikali oluştururlar. Böylece hücrelerde lipid peroksidasyonunu başlatır ve çeşitli peroksitler oluşturur (41).

Böbreklerde eNOS enzimi renal arteriol endotelinde, nNOS enzimi makula densada, iNOS enzimi ise afferent arteriyollerin preglomerüler kısmında üretilmektedir. Bradikin ve asetilkolin NOS sentezini uyararak renal vazodilatasyonu sağlar. Böbrekte NO sentezi inaktive edilirse renal kan akımı ve Na^+ atılımı azalır. Makula densadan salınan NO tübüllerde herhangi bir daralma olduğunda tübüloglomerüler emilimi düzenler. Proksimal tübüllerdeki NO, distal tübüllerde aldosteron ile etkileşerek solüt transportunu düzenlenmesinde rol alır (41).

SERBEST RADİKALLER

Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran yüksek enerjili moleküllerdir. Vücutta bulunan oksijenin %3-5'i serbest radikale dönüşür. Hücre metabolizması sırasında gelişen enzim reaksiyonlarında ara ürün olarak sürekli oluşmaktadır. Eşleşmemiş elektronlarından dolayı kararsız yapıda olan serbest radikaller, kararlı hale geçebilmek için diğer moleküllerle reaksiyona girme eğilimleri yüksektir. Fe^+, Cu^+ gibi metaller eşlenmeyen elektronları olduğu halde serbest radikal olarak adlandırılmazlar. Reaksiyona girerek serbest radikal oluşumuna katkıda bulunurlar.(4, 12)

Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilirler. Oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS), nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak adlandırılırlar. Reaktif oksijenler, kararlı hale gelebilmek için lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA ile reaksiyona girmektedirler. Bu radikaller yüksek düzeyde olduğunda hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olarak membran geçirgenliğinin bozulmasına, dolayısıyla hücre içi iyon dengesizliğine yol açmaktadır. Ekstrasellüler matrikste hyaluronik asit ve kollajen yapısında değişiklik meydana getirerek dokularda hasara neden olurlar. DNA ve RNA gibi moleküllerin yapısını bozarak birçok hastalığın oluşumuna neden olmaktadırlar.(4, 5, 70)

Mitokondrial aerobik solunumda elektron transportu sırasında, inflamatuar hücrelerin varlığında, stres, yara iyileşmesi ve immün sistem hücrelerinin patojenlere verdiği yanıt kaynaklı olarak serbest radikal üretilebilir. Ayrıca alkol ve sigara kullanımı, UV ışınlar,

iyonizan radyasyon, ilaç ve çeşitli gazlara maruziyet, I/R durumları, yaşlanma süreci, çevre ve su kirliliği ile beslenme bozukluklarında toksik olarak serbest radikal üretimi artmaktadır (3,48,49).

Düşük seviyelerde bulunduğunda serbest radikallerin bazı yararlı etkilerinden söz edilmektedir. Fagositoz aracılığıyla enfeksiyonlardan koruma, lenfositler ve makrofajlar tarafından kanserli hücrelerin yok edilmesi, mitokondride ATP üretimi, platelet agregasyonu, anjiogenesis, trombozis ve damar düz kaslarının kan basıncını düzenlenmesinde yardımcı olur. Guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesinde ve gen transkripsiyonu gibi önemli yaşamsal faaliyetlerde rol almaktadır (5). Çok kısa bir yarı ömrü (mikrosaniye) vardır. Serbest radikal türleri $O_2^{-\bullet}$ radikalleri, hidrojen peroksit (H_2O_2), OH^- ve lipid peroksil radikallerini ($LOO^\bullet$) içerir (53).

Süperoksit Radikali ($O_2^{-\bullet}$)

Süperoksit radikali, hemen hemen tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle oluşur ve oluştuğu yerden fazla uzağa diffüze olamaz (50).

$$O_2 + e^o- \rightarrow O_2^{-\bullet}$$

İndirgenmiş $O_2^{-\bullet}$ mitokondriyal elektron transfer zincirinde redükte NADPH'nin NAD^+'a okside olması ile üretilir. Bu radikalin moleküler düzeyde en önemli özelliği sekonder radikal oluşturmasıdır(12). Süperoksit radikali direkt olarak zarar vermez, asıl önemi H_2O_2 kaynağı olması ve serbest radikal reaksiyonlarında kullanılmak üzere geçiş metal iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (51). Bu radikal anyon ortamın pH değerine göre protonlanarak perhidroksi radikaline ($HO_2^{\cdot}$) dönüşebilir. Süperoksit radikali ile $HO_2^{\cdot}$ radikali birbirleriyle reaksiyona girdiğinde biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda moleküler oksijen ve H_2O_2 meydana gelir (52).

$$HO_2 + O_2^{-\bullet} + H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

Süperoksit radikalinin fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu bir reaktif oksijen türü olan peroksinitrit ($ONOO^-$) meydana gelir. Doğrudan proteinlere zararlı olan $ONOO^-$ azot dioksit (NO_2), OH^- radikali ve nitronyum iyonu (NO_2^+) gibi toksik ürünlere dönüşebilir ki NO'nun zararlı etkilerinden $ONOO^-$ sorumludur (52).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, $O_2^{-\bullet}$'nin süperoksit dismutaz enzimi (SOD) aracılığıyla çevresindeki moleküllerden bir elektron alması veya moleküler oksijenin iki elektron almasıyla oluşur. Radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu reaksiyon dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir (51).

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

$$O_2 + 2\ e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$$

Hidrojen peroksit aslında bir radikal değildir. Üretildiği yerde kalan $O_2^{-\bullet}$'nin aksine membranlara diffüze olabilen uzun ömürlü bir oksidandır. Burada $O_2^{-\bullet}$ ya da demir veya diğer geçiş metalleriyle tepkimeye girerek en zararlı ve en reaktif bir radikal olan HO^- radikaline dönüşür. Bu özelliğinden dolayı peroksidaz ve katalaz enzimleri aracılığıyla biyolojik sistemden hızlıca yıkılarak uzaklaştırılır (50).

Hidrojen peroksit serbest radikallerin vermiş olduğu zararı iletmek için hücreler arası bir haberci olarak görev yapar. H_2O_2 varlığında, miyeloperoksidaz hipoklorik asit ve singlet oksijen üretir, fagositler tarafından bakteri öldürmede önemli bir rol oynayan reaksiyon üretir (12).

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)

Hidroksil radikali lipidler, karbonhidratlar, aminoasitler, organik asitler, nükleik asitler gibi biyolojik maddelerle reaksiyona girebilen en reaktif ve son derece zararlı bir radikaldir. Hidrojen peroksit, demir ve bakır veya diğer geçiş elementleri (Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) ya da $O_2^{-\bullet}$ ile indirgenerek $HO^{\cdot}$'ye dönüştürülür (51).

Fenton Reaksiyonu: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^-$

Haber-Weiss reaksiyonu: $O_2^- + H_2O_2 \rightarrow OH^- + OH^{\cdot} + O_2$ (52)

Singlet Oksijen

Singlet oksijen orbitalinde paylaşılmamış iki elektron bulundurduğu için radikal olmayan bir oksijen türüdür. Serbest radikal reaksiyonlarında başlatıcı olarak görev yapması

nedeniyle önemlidir. Singlet oksijen, elektronlar enerji alarak bulunduğu yörüngenin tersi yönünde hareket eden bir başka yörüngeye geçmesiyle, $O_2^{-\bullet}$ radikalinin dismutasyonuyla ya da H_2O_2'nin hipoklorit ile reaksiyonu sonucu oluşabilir (54). Delta (δ) ve sigma (σ) olmak üzere iki şekli mevcuttur. Delta formu, sigma formuna göre daha uzun ömürlüdür (51).

SERBEST RADİKALLERİN ETKİLERİ

Fizyolojik şartlarda serbest radikal oluşumu savunma sistemi kapasitesini aştığı durumlarda hücrede nükleik asit, lipid, karbonhidrat, protein, hücresel organeller gibi yaşamsal kompanentlere zarar verir. Ayrıca bazı savunma sistemlerini inhibe eder.

Serbest Radikallerin Nükleik Asit ve Deoksiribonükleik Asite (DNA) Etkileri

İyonize radyasyon nedeniyle oluşan serbest radikaller DNA ve tüm yapılarında değişikliğe yol açarlar. Hidroksil radikali DNA üzerindeki çift bağlara bir hidrojen (H^+) atomu vererek ya da alarak DNA molekülü ile reaksiyona girer. Deoksiribo nükleik asitin yapısındaki pürin ve pirimidin bazlarını etkileyerek hücre mutasyonuna ve ölümüne yol açar. Hücre membranından kolayca geçebilen H_2O_2, DNA çekirdeğine zarar vererek hasarına neden olur (54).

Serbest Radikallerin Lipidlere Etkileri

Lipidler serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı en hassas olan moleküllerdir. Serbest radikaller hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlarıyla kolayca tepkimeye girerek çeşitli toksik peroksidasyon ürünü oluştururlar. Bu ürünlerin açığa çıktığı çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır (55).

Lipid peroksidasyonu başta en reaktif radikal olan HO^- radikali olamak üzere serbest radikallerin doymamış yağ asiti zincirinin α-metilen gruplarından bir H^+ atomu çıkarılmasıyla başlar. Hidrojen atomunu uzaklaştırılmasıyla yağ asiti zinciri bir radikal karakteri kazanarak lipid radikaline ($L^\bullet$) dönüşür. Dayanıksız bir bileşik olan lipid radikali hücre membranında çözünmüş olarak bulunan moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu $LOO^\bullet$ radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikalleri, membranda bulunan diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni $L^\bullet$ oluştururken, açığa çıkan H^+ atomlarını alarak H_2O_2'ye dönüşürler. Olay bu şekilde zincirleme otokatalitik bir reaksiyon olarak devam eder (56-58).

Geçiş metalleri iyon kataliziyle H_2O_2'nin yıkımı sonucu aldehitler meydana gelir. Lipid peroksidasyonunun en toksik ürünü olan aldehitler hücrede enzimler tarafından metabolize olurlar ya da hücrenin diğer bölümlerine düffüze olarak hasarı yayarlar. Oluşan hasarla hücre içi Ca^{+2} seviyesi artar. Bu artışdan dolayı membran fosfolipidlerinden PLA_2 salınır. Bu olay sonucunda, araşidonik asit miktarında artış olur. Bu artış da lipooksijenaz yolu üzerinden hidroperoksi eikosatetraenoikasidin (HPETE) oluşmasına neden olur. Hidroperoksi eikosatetraenoikasidinin etkisi ile peroksidasyon ve sonuçta hücre canlılığının kaybolması gelişir (12,59).

Lipid peroksidasyonu, H_2O_2'nin yıkımı sonucu aldehit ve etan, pentan gibi uçucu gazlara dönüşmesiyle son bulur. Oluşan metabolitlerden malondialdehit (MDA), fosfolipidlerin, nükleik asitlerin veya proteinlerin amino gruplarına bağlanır ve membranlardan kolayca geçerek DNA yapısındaki nitrojen bazlar ile reaksiyona girerek toksik etkisini gösterir. Bundan dolayı mutajenik ve genotoksiktir(12).

Membran yapısındaki lipid yapısında deformasyon, enzim aktivitesi, H^+ ve diğer iyonlara karşı membran permeabilitesinin bozulması, hücre organellerinin fonksiyonlarındaki bozukluklar ve sonucunda hücrenin canlılığını yitirmesi MDA'nın etkisinin bir sonucudur (59).

Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Hücre içi proteinlerinin ROS'un yarattığı hasara karşı duyarlılığı aminoasitlerin türüne, bağlarının yapısına ve dizilimine göre değişmektedir (60). Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerin serbest radikallere eğilimi çok yüksektir. Bu reaktiviteye sahip olan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitler serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerler. (5,51)

Başta HO^- radikali olmak üzere ROS, hücre proteinlerinde dönüşümlü ya da dönüşümsüz olarak yapısal değişikliğe yol açar (61). Proteinlerin oksidasyonu sonucu sülfür radikalleri ve karbon merkezli radikal grupları meydana gelir. Bunun sonucunda protein moleküllerinin bütünlüğünde bozulma, protein agregasyonu veya HO^- radikali nedeniyle amino asitler arasında çapraz bağlanmanın indüklenerek protein yapısında değişiklik görülebilir (12, 62).

Serbest radikallerden ciddi düzeyde zarar gören proteinler ise hemoglobin gibi hem grubu proteinleridir. Özellikle oksihemoglobinin $O_2^{-\bullet}$ veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur (51).

Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Karbonhidratlar, lipid ve proteinlere göre serbest radikallerin zararlı etkilerinden daha az etkilenmektedirler. HO^- gibi serbest radikaller karbonhidrat polimerleri ile tepkimeye girerek kırılmalarına neden olurlar. Bu kırılma sonucunda H_2O_2, peroksit ve okzoaldehid yapısında ürünler oluşur. Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere kolayca bağlanarak aralarında çapraz bağ oluşturduklarından antimitotik etki gösterirler. Ayrıca hyaluronik asit gibi önemli molekülleri etkileyerek bağ dokuda bozulmalara yol açar. Bu nedenle kanser ve yaşlanma gibi durumlarda önemli rol oynarlar (54,63).

ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

Biyolojik sistemde sürekli, kontrollü olarak serbest oksijen radikalleri (SOR) ve antioksidanlar üretilir. Doku bütünlüğünün ve fonksiyonların normal işlevlerinin SOR'dan korunması antioksidan sistem tarafından sağlanmaktadır (63). Patolojik durumlarda, iskemi, travma, sepsis gibi durumlarda antioksidan/oksidan dengesi oksidanlar lehine bozulur. Bu dengenin bozularak antioksidan sistemin oksidanların zararlı etkilerini ortadan kaldırmada yetersiz kalmasına oksidatif stres denir (52).

Oksidatif stres lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna, DNA mutasyon ve kırıklarına, sitotoksik etkilere ve sinyal iletilerinde bozulmaya neden olabilir. Serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarının yaşlanma süreci ve yaşlanmaya bağlı ateroskleroz, katarakt, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, immun sistem bozuklukları, kanser oluşumu gibi dejeneratif hastalıkların gelişimde önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Oksidatif stres yaklaşık 50 kadar hastalık patogeneziyle ilişkilendirilmiştir (53).

Antioksidan savunma sistemlerin etki mekanizması şu şekilde gerçekleşir:

a) Süpürücü etki; $O_2^{-\bullet}$, H_2O_2 gibi önemli role sahip radikalleri tutarak ortamdan uzaklaştırır ya da çok daha zayıf moleküllere çevirir.
b) Bastırıcı etki; ROS'u daha kararlı hale getirerek etkilerini azaltır ya da inaktif hale getirir.

c) Zincir kırıcı etki; Fe^{+}, Cu^{+} gibi metal iyonlarını ortamdan uzaklaştırarak serbest radikal hasarını başlatan zincir reaksiyonları kırar.
d) Onarıcı etki; serbest radikallerin oluşturduğu hasara onarıcı etki gösterir (62).

Antioksidanları endojen ve eksojen kaynaklı, serbest radikallerin oluşumunu önleyenler ve etkisiz hale getirenler olmak üzere iki şekilde gruplandırılır. Endojen antioksidanlar da kendi içinde enzim olanlar ve enzim yapıda olmayanlar şeklinde iki grupta toplanır. Endojen antioksidanlar albümin, seruloplazmim, transferrin, laktoferrin, haptoglobin, hemopeksin, bilirubin, glikoz, ürat, melatonin ve glutatyon enzim olmayan antioksidanlardır. SOD, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve sitokrom oksidaz enzim yapıda olan antioksidanlardır. Ekzojen antioksidanlara ise askorbik asit, β-karoten ve E vitamini örnek olarak verilebilir (61).

Böbrekte üretilen radikalleri enzimatik katalaz, SOD, GPx antioksidanları ve non-enzimatik GSH, askorbik asit antioksidanları etkisiz hale getirir (12).

OKSİTOSİN

Beyinde nörotransmitter rolü oynayan OT, İtalyan bilim insanı Nicholas Farraye tarafından 1835 yılında bulunmuştur. Sistein-tirozin-isolösin-glutamin-asparagin-sistein-prolin-lösin-glisin olmak üzere 9 aminoasitten oluşur. Moleküler formülü $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$'dir (64). Hipotalamusdaki supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerin salgılanan OT, fizyolojik ve biyolojik etkilerini G-proteinine bağlı reseptörü vasıtasıyla oluşturan bir peptid hormonudur (7). Arka hipofizden perifere katılan OT kanda serbest dolaşan bir peptitdir. Bu hormon vücuttan karaciğer ve böbrekler vasıtasıyla uzaklaştırılır. Etki süresi kısa olup plazmadaki yarılanma ömrü 3-10 dakikadır. Plazmada yüklü olarak bulunduğundan kan-beyin bariyeri boyunca geçirgenliği çok zayıftır (65,66). Oksitosin reseptörleri sinir sistemi, vasküler düz kas, miyokard, timus, böbrek, pankreas ve adipositlerde tanımlanmıştır. Antioksidan, antienflamatuar ve anti-apoptotik etkilere sahiptir (6).

Temel olarak OT, doğum sürecinde uterus kasılması ile laktasyon döneminde süt salınımından sorumludur. Aynı zamanda kardiyovasküler ve hidroelektrolitik düzenleme, beslenme, ağrı duyusu, annelik davranışı, sosyal ve cinsel davranış gibi çok çeşitli davranışların yanı sıra adenohipofiz hormonlarının salınımının düzenlenmesinde etkilidir (66).

Büyüme ve farklılaşma faktörü olarak da bilinen OT, meme kanseri ve diğer tümör türlerinde hücre büyümesini engelleyici etkisinin olmasına karşılık mitojenik aktivite gösterdiği

bilinmektedir. Kalpte direkt olarak ya da atriyal natriüretik peptid (ANP) aracılığıyla apoptozu önlemektedir (64). Farklılaşma potansiyeline sahip embriyonik ve kardiyak kök hücrelerinde kardiyomyogenezi düzenler (67). Çeşitli kök hücre tiplerinde kalp hücrelerinin oluşumu için belirli bir OT seviyesinin varlığı görülmüştür (68). Oksitosin, kardiyovasküler olaylarda kan basıncını azaltma, vazodilatasyon, anti-inflamatuar aktivite, antioksidan aktivite ve metabolik etkilere sahiptir. Oksitosinin bu etkileri NO ve ANP aracılığıyla sağlanır (69). Yapılan çalışmalarda iskemik kalpte OT maruziyetinin ölen hücrelerin tekrar üretimini stimüle ettiği, infarktüs boyutunu azalttığı, yeniden yapılanamayan kardiyak genlerde ifade artışını etkilediği ve mitokondriyal korunumu sağladığı görülmüştür (64**)**.

Oksitosinin enflamatuar ve oksidatif hasar üzerindeki etkileri de yapılan çalışmalarda araştırılmıştır. Sıçanlarda yapılan I/R modelindeki çalışmalarda OT uygulamasının over, uterus, böbrek ve karaciğerde hücresel hasarı ve MDA düzeylerini azalttığı, SOD aktivitesini ve glutatyon düzeyini artırdığı görülmüştür. Bu çalışmalar sonucunda OT'nin I/R tarafından tetiklenen doku hasarını iyileştirdiği, oksidan-antioksidan dengesini düzenlediği ve inflamasyonu ve apoptozu baskıladığı ortaya konmuştur (8,71).

GEREÇLER VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda; Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilen standart koşullarda (22±1℃ oda sıcaklığı, %60 nem oranı, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan, 190-230 gr ağırlığında, Spraque-Dawley erkek sıçanlar kullanıldı. Tüm deney aşamalarında aynı birimde tutulan sıçanlara standart sıçan yemi ve musluk suyu verildi. Çalışma için Trakya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan (Ek-1) onay alındı.

Çalışmamızda 32 adet erkek sıçan kullanıldı. Denekler, Kontrol (K) , Oksitosin (K+OT), Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı (MABY) ve Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+OT (MABY+OT) gruplarında 8'er adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Kontrol ve K+OT gruplarındaki sıçanlara im fizyolojik serum (FS), MABH ve MABH+OT gruplarındaki sıçanlara im %50'lik gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce susuz bırakıldı. İlk enjeksiyondan sonra serbest su ve diyet alımı sağlandı. Kontrol ve K+OT gruplarındaki sıçanlara FS, MABH ve MABH+OT gruplarındaki sıçanlara %50'lik gliserol solüsyonundan 8 ml/kg'a göre bulunacak toplam hacim eşit miktarlarda her iki arka bacak kaslarına im olarak enjekte edildi.

K Grubu sıçanlara FS'nin im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra FS intraperitoneal (ip) verildi.
K+OT Grubu sıçanlara FS'nin im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra 40 IU/kg OT ip verildi.
MABH Grubu sıçanlara %50'lik gliserolün im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra FS ip verildi.
MABH+OT Grubu sıçanlara %50'lik gliserolün im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra 40 IU/kg OT ip verildi.

Kontrol ve MABH grubu sıçanlara ip FS enjeksiyonundan sonra, K+OT ve MABH+OT gruplarındaki sıçanlara ip OT verildikten sonra sıçanlar metabolik kafeslere alındı. Sıçanların

24 saatlik idrarları toplandıktan sonra 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alınarak sakrifiye edildi. Batın ön duvarı insizyonla açıldı. Diyafragmadan kalbe ulaşılarak alınan kan örnekleri biyokimyasal incelemeler için jelli tüplere alındı. Sonrasında her iki böbrek çıkarılarak buz kabı üzerine konuldu. Böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bistüri yardımıyla longitudinal kesiyle ikiye ayrıldı. Sağ böbreğin bir yarısı histopatolojik incelemeler için %10'luk formalin solüsyonuna alındı, diğer yarısı ve sol böbreğin her iki yarıları soğuk FS ile yıkandıktan sonra alüminyum folyo ile paketlendi. Laboratuar çalışmaları yapılıncaya kadar -80℃'de saklandı. Metabolik kafeslerde toplanan idrar hacimleri ölçüldükten sonra kan ve idrar örnekleri soğutmalı santrifüjde +4 derecede, 3000 rpm'de 10 dk süreyle santrifüj edilerek serum ve idrar örnekleri ependorf tüplere alınarak laboratuar çalışmaları yapılıncaya kadar -80℃'de saklandı.

Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre : Spectronic Unicam Helios α, İngiltere

Hassas terazi : Mettler Toledo, AB204-S, İsviçre

Soğutmalı santrifüj : MPW 350R, Polonya

Su banyosu : Nickel Clifton Elektro LTD, İngiltere

Otomatik pipetler : Biohit Proline, Finlandiya, Mettler Toledo, İsviçre

Eppendorf Multipipette/Repeate(Xstream), Amerika

Vorteks : Heidolp, Almanya

Derin dondurucu : Thermo Elektron Corporation, USA

pH metre : InoLab, Level 1, Almanya

Manyetik karıştırıcı : Remi Equipments, Hindistan

Homojenizatör : Polytron Kinematica AG, İsviçre

Otoanalizör : C16000, Architect, ABBOTT, Amerika

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Oksitosin	: Teknovet, Türkiye
Tiyobarbitürik asit	: 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 Dodesil Sülfat	: Merck, Almanya
NaOH	: Merck, Almanya
KH_2PO_4	: Merck, Almanya
Na_2PO_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

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum üre, kreatinin, Na^+, K^+ düzeyleri ile alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), CK, LDH aktiviteleri; idrar üre, kreatinin, Na^+, K^+ ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Laboratuarı'nda bulunan otoanalizör (C16000, Architect, ABBOTT Amerika) kullanılarak ölçüldü. Kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanak kg/vücut ağırlığına bölündü. Fraksiyonel Na^+ ve K^+ atılımı % olarak hesaplandı.

Böbrek Homojenizasyonu

Böbrek dokuları -80℃'dan alındıktan sonra buzu çözülmeden kesilerek tartıldı. Bistüri ile kesilen dokular tüplere konuldu. Glutatyon 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 dk +4 ℃'de santrifüj edildi ve ardından süpernatant kısmı ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar spektrofotometrik MDA, NO, GSH ve protein düzeylerinin ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Lipit peroksidasyon son ürünü olan MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile sıcak ve asit ortamda reaksiyona girmesi sonucu oluşan pembe renk spektrofotometrik olarak ölçüldü (67,68).

Çözeltiler:

1. %8.1'lik Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. %20'lik Asetik asit (NaOH ile pH 3.5'e ayarlandı)
3. %0.8'lik tiyobarbitürik asit (TBA)
4. n-Butanol/Piridin (15:1)

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 üzerine 1 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin (15:1) eklenerek 1 dABHka vorteksle karıştırıldı. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj

edildi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu.

Sonuçların hesaplanması:

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

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 içeriğinin belirtilmesi için kullanıldı (74).

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: 4 mg 5.5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit) (DNTB), 10 ml %1'lik sodyum sitrat 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 dk santrifüj edildikten sonra 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na_2HPO_4 ve 0.5 ml Ellman ayıracı eklendi. Absorbanslar homojenat içermeyen ayıraç körüne karşı 412 nm'de okundu. GSH düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\sum$=1.36 104 $M^{-1}cm^{-1}$) 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 (75).

Kullanılan reaktifler:

1. Kadmiyum granülleri: 0.1 mol/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'sı 9.7'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-Naphthylethylene diamine (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 KNO_3 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 dk santrifüj 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 kağıdı ile kurutulur.

KNO_3 standardından 1; 5; 10; 25; 50; 75; 100; 200 milimolarlık seri dilüsyonlar hazırlanır ve numunelere uygulanan tüm işlemler standartlara da uygulanır. 1 ml glisin-NaOH buffer 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

Doksan dakikalık bekleme süresinin ardından bu tüplerden 2'şer ml alınarak üzerine 1 ml sülfanilamid ve 1 ml NNDA ilave edilir. Karıştırılır ve 45 dk beklendikten sonra 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 miktarı tayini Lowry metoduna göre yapıldı (76).

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

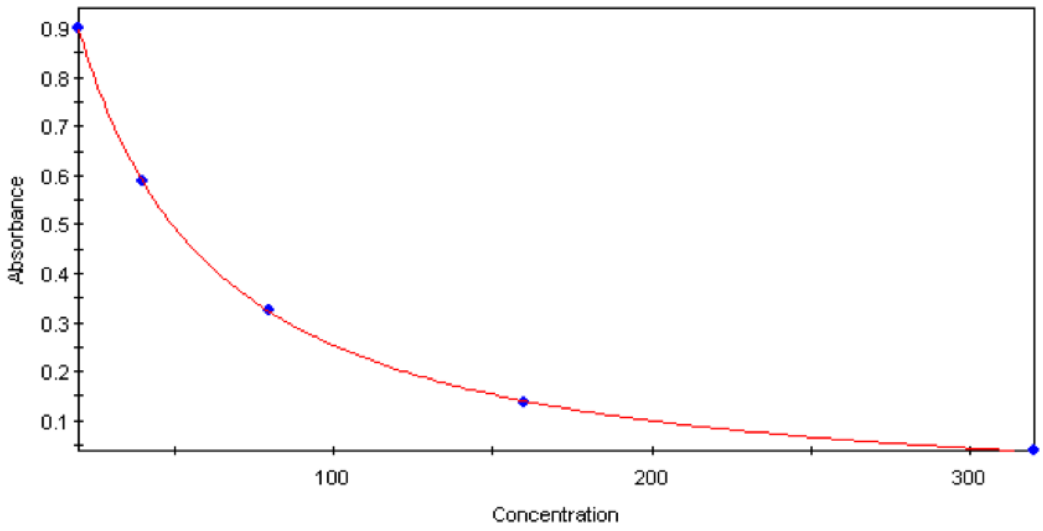
Bovin Serum Albumin (BSA) Çözeltisi: Standart protein çözeltisi olarak kullanılan BSA 10 mg/ml konsantrasyondaki stok çözeltiden 1, 2, 3, 5, 7, 5, 10 mg/ml'lik çözeltileri hazırlandı.

Deneyin Yapılışı:

Test ve standart tüplerine 490 µl, kör tüpüne 500µl distile su kondu. Tüm tüplere 2,5 ml D çözeltisi ilave edildikten sonra, test tüplerine 10 kat dilüe edilmiş numuneden 10µl; 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 ºC'de 30 dk beklediltikten sonra, spektrofotometrede 650 nm'de köre karşı sıfırlanarak okuma yapıldı.

Oksitosin Aktivitesinin Ölçülmesi

Serum, doku ve idrar örneklerinde oksitosin aktivitesi ölçümü Biyoassay Rat Oxytocin ELISA (katalog no: EA0071Ra) ticari test kiti kullanılarak yapıldı. Deneysel çalışmalar yapılıncaya kadar -80°C'de saklanan örnekler ve kullanılacak çözeltiler oda ısısına getirildi. Kit prosedüründe belirtilen yönteme göre ilgili kuyucuklara 50 µl standart/numune ile 50 µl biyotinlenmiş antijen eklendi. Plaka nazikçe karıştırıldıktan sonra kapatıcıyla kapatılarak 30 dk 37 ℃ 'de inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda plaka içeriği dikkatli bir şekilde boşaltılarak laboratuvarımızda bulunan otomatik plaka yıkama cihazı ile kitte belirtilen koşullarda 5 kez yıkama yapıldı. Sonrasında standart ve numune kuyucuklarına 50 µl avidin-HRP eklendi. Kapatıcıyla kapatılarak 30 dk inkübasyona alındı. Kit prosedüründe belirtildiği gibi otomatik yıkama cihazında 5 kez yıkandı. Yıkamanın ardından her bir kuyucuğa önce 50 µl substrat A solüsyonundan, sonra 50 µl substrat B solüsyonundan pipetlenerek karanlıkta 37ºC'de 10 dk inkübe edildi. İnkübasyonun ardından her kuyucuğa stop solüsyonundan eklenerek reaksiyon durduruldu ve 450 nm'de elisa reader cihazında absorbans okumaları yapıldı. Çalışmanın standart regresyon grafiği Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Oksitosin standart çalışması regresyon grafiği

Histolojik Çalışmalar

Sagittal olarak ikiye bölünen böbrek dokularının ışık mikroskobu incelemesi için birer yarısı tamponlu %10 formalinde 24 saat boyunca tespit edilmiştir. Dokular parafin bloklara gömülmüş ve 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak ve tüm kesitler rutin hematoksiten-eozin boyaları ile boyanarak aynı patolog tarafından ışık mikroskobunda değerlendirilmişlerdir. Böbrek hasarı derecesini belirlemek için semikantitatif bir skala kullanıldı (77).

0: Normal böbrek

1: Minimal hasar (%0-5 tutulum)

2: Hafif dereceli hasar (%5-25 tutulum)

3: Orta dereceli hasar (%25-75 tutulum)

4: Şiddetli hasar (%75-100 tutulum)

Ayrıca kast izlenen tübüller % olarak belirtildi. Sayım yapılırken toplayıcı kanalların olmadığı, sadece proksimal ve distal tübüllerin bulunduğu alanlarda sayım yapılmıştır (78).

İstatiksel Analiz

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak gösterildi. Niceliksel verilerin normal dağılım uygunluğu Shapiro Wilk test ile incelendi. Çalışmada 4 grup bulunmasına karşın tüm grupların 2'li karşılaştırmalarıyla ilgilenilmediğinden ANOVA dizaynları yerine K–K+OT, K–MABH ve MABH–MABH+OT grupları arasında normal dağılım gösteren değişkenlerin karşılaştırılmasında Student t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler için SPSS20.0 (Lisans No: 10240642) paket programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Sıçanlarda hipertonik gliserolün im uygulanmasıyla oluşturulan deneysel MABH modeli, 4 grupta 32 sıçan üzerinde çalışıldı. Gliserol enjeksiyonunun 48. saatinde anestezi altında sıçanların kan ve doku örnekleri alındı. Kontrol, K+OT ve MABH gruplarında kayıp yaşanmazken MABH+OT grup sıçanlardan 1 tanesi kaybedildi.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait doku MDA düzeyi nmol/g doku, GSH düzeyi µmol/g doku, NO düzeyi µmol/mg protein, serum AST düzeyi U/l, serum ALT düzeyi U/l, serum CK düzeyi U/l, serum LDH düzeyi U/l, serum üre düzeyi mg/dl, serum kreatinin düzeyi mg/dl, serum Na^+ düzeyi mmol/l, serum K^+ düzeyi mmol/l, serum NO düzeyi µmol/l, idrar NO düzeyi µmol/l, böbrek NO düzeyi µmol/l, idar kreatinin düzeyi mg/dl, idrar Na^+ mmol/l, idrar K^+ düzeyi mmol/l, kreatinin klirensi standart klirens formülüne göre hesaplanıp kg/vücut ağırlığına bölündü. Fraksiyonel Na^+ ve K^+ itrahı % olarak hesaplandı. Gruplara ait istatistiksel veriler Tablo 6 ve 8'de gösterilmiştir.

Tablo 6. Grupların serumlarına ait parametrelerinin istatistiksel sonuçları

Gruplar	Kontrol (K)	Oksitosin (OT)	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı (MABH)	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Oksitosin (MABH+OT)	p (p<0,05 ise anlamlı)	
	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD		
Na^+ mmol/l	144,88±1,46	125,63±12,28	119,75±11,96	126,71±11,57	**K-OT**	0,001
					K-MABH	<0,001
					MABH-MABH+OT	0,274
K^+ mmol/l	4,69±0,53	3,98±0,40	6,64±2,35	6,91±2,79	**K-OT**	0,009
					K-MABH	0,038
					MABH-MABH+OT	0,838
Üre mg/dl	48,88±8,82	45,13±8,31	554,13±282,64	567,14±393,95	**K-OT**	0,429
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,418
Kreatinin mg/dl	0,25±0,05	0,23±0,05	2,84±1,64	2,94±2,02	**K-OT**	0,317
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,524
ALT U/I	38,13±4,67	37,50±6,72	101,75±37,51	125,86±43,41	**K-OT**	0,833
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,298
AST U/I	169,00±18,72	159,13±11,64	565,63±148,71	640,86±158,05	**K-OT**	0,058
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,487
LDH U/I	1111,75±549,62	1306,50±566,86	2017,13±296,32	1657,86±809,64	**K-OT**	0,497
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,262
CK U/I	678,25±209,24	714,13±200,35	768,50±222,20	1172,29±711,64	**K-OT**	0,916
					K-MABH	0,916
					MABH-MABH+OT	0,203
NO µmol/mg	4,97±1,35	5,49±0,61	8,33±4,27	6,70±2,58	**K-OT**	0,341
					K-MABH	0,052
					MABH-MABH+OT	0,398
Oksitosin ng/L	66,20±60,45	49,80±33,84	109,35±65,10	138,03±56,19	**K-OT**	0,514
					K-MABH	0,191
					MABH-MABH+OT	0,381

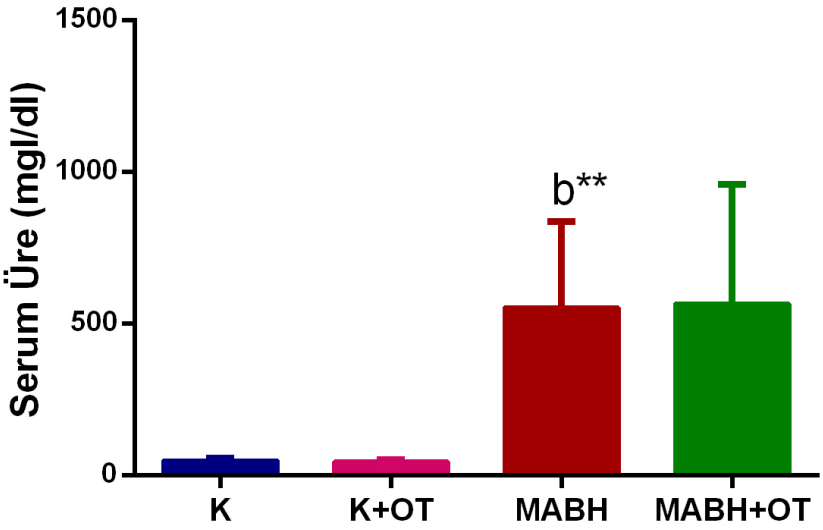
Tablo 7. Grupların idrarlarına ait parametrelerin istatistiksel sonuçları

Gruplar	Kontrol (K)	Oksitosin (OT)	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı (MABH)	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Oksitosin (MABH+OT)	p (p<0,05 ise anlamlı)	
	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD		
İdrar Hacimleri ml/24s	9,94±2,47	10,88±1,85	21,75±5,63	21,36±12,09	**K-OT**	0,204
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,728
Oksitosin ng/L	154,75±82,76	139,59±48,10	34,60±18,74	32,24±13,02	**K-OT**	0,775
					K-MABH	0,004
					MABH-MABH+OT	0,886
Üre mg/dl	5237,74±1439,47	5208,16±1107,31	1483,53±854,09	1500,39±613,18	**K-OT**	0,834
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,487
Kreatinin mg/dl	54,91±11,13	49,29±8,28	14,53±9,46	16,06±4,78	**K-OT**	0,294
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,165
Na^+ mmol/dl	142,25±52,04	129,00±22,55	43,25±15,62	28,57±14,34	**K-OT**	0,753
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,056
NO µmol/mg	189,37 ±62,14	174,59±29,99	32,94±23,63	38,35±18,40	**K-OT**	0,600
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,418
K^+ mmol/dl	226,88±43,33	230,13±27,67	65,75±33,28	63,71±15,00	**K-OT**	0,833
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,487
$FeNa^+$ %	0,44±0,15	0,47±0,09	13,56±12,88	6,14±6,20	**K-OT**	0,636
					K-MABH	0,012
					MABH-MABH+OT	0,247
FeK^+ %	0,72±0,19	0,83±0,08	12,39±7,63	9,95±7,38	**K-OT**	0,269
					K-MABH	0,002
					MABH-MABH+OT	0,487
Kre. Klirens ml/dk	1,51±0,35	1,67±0,31	0,27±0,46	0,26±0,32	**K-OT**	0,294
					K-MABH	0,003
					MABH-MABH+OT	0,816

Tablo 8. Grupların böbrek dokularına ait parametrelerinin istatistiksel analizi

Gruplar	Kontrol (K)	Oksitosin (OT)	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı (MABH)	Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı+Oksitosin (MABH+OT)	p (p<0,05 ise anlamlı)	
	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD		
GSH µmol/mg	348,56±32,77	369,64±38,71	433,01±55,94	497,79±96,07	**K-OT**	0,259
					K-MABH	0,002
					MABH-MABH+OT	0,128
Oksitosin ng/L	19,27±7,39	21,03±10,22	19,31±8,48	20,14±5,31	**K-OT**	1,000
					K-MABH	1,000
					MABH-MABH+OT	1,000
MDA nmol/mg	0,09±0,02	0,09±0,01	0,11±0,01	0,12±0,01	**K-OT**	0,637
					K-MABH	0,009
					MABH-MABH+OT	0,125
NO µmol/mg	22,46±7,59	16,80±5,19	8,87±4,38	14,36±4,02	**K-OT**	0,104
					K-MABH	0,001
					MABH-MABH+OT	0,045
Tübüler Hasar Skoru	0,13±0,35	0,13±0,35	3,75±0,46	3,71±0,49	**K-OT**	1,000
					K-MABH	<0,001
					MABH-MABH+OT	0,880
% KAST	1,13±1,81	1,13±1,81	78,75±6,41	78,57±6,90	**K-OT**	1,000
					K-MABH	<0,001
					MABH-MABH+OT	0,947

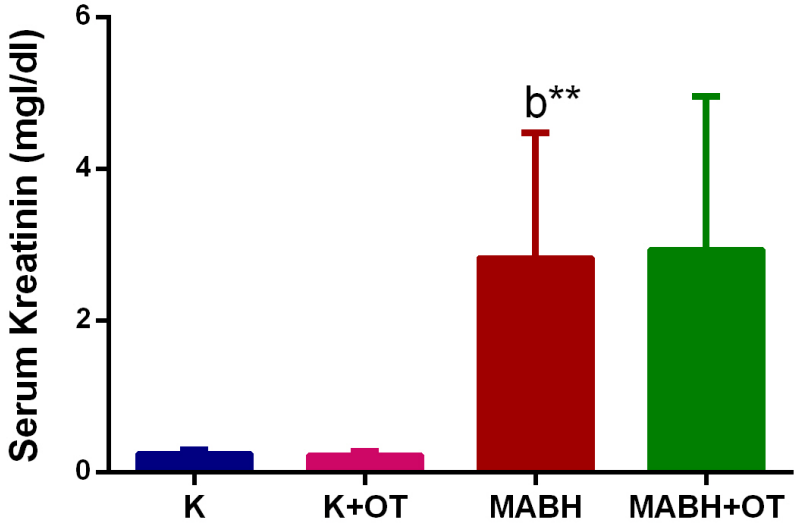
Gruplar arası serum üre düzeylerinin dağılımında K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Kontrol grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. Serum üre düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 2'de gösterildi.



Şekil 2. Serum üre düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubu b**: p<0.01

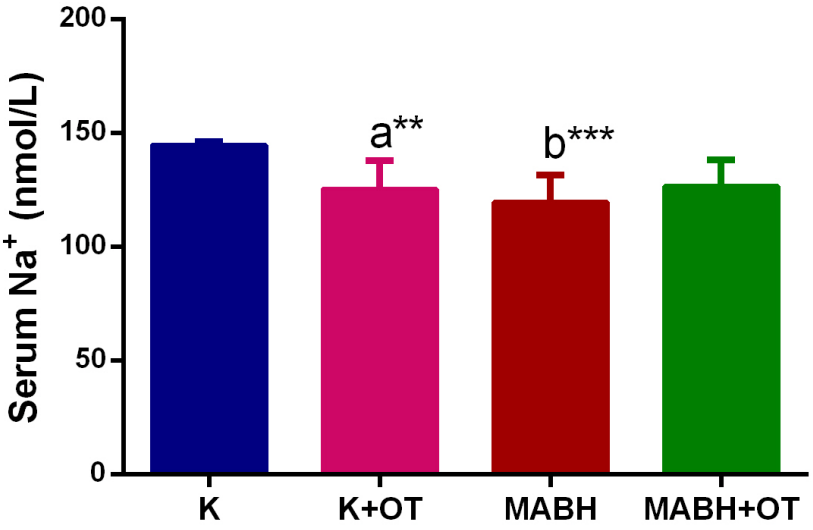
Gruplar arası serum kreatinin düzeylerinin dağılımında K grubu ile OT grubu ve MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). K grubuna göre MABH grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. Kreatinin düzeylerinin gruplardaki dağılımı şekil 3'de gösterildi



Şekil 3. Serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubu b**: p<0.01

Gruplar arası serum Na^+ düzeylerinin dağılımında K grubuna göre K+OT grubunda $p<0.01$ ve MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Serum Na^+ düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 4'de gösterildi.

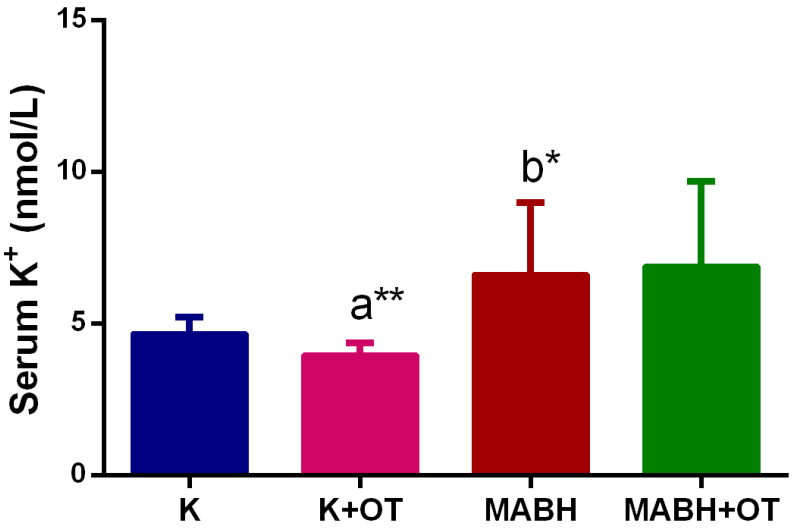


Şekil 4. Serum Na^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre K+OT grubunda a**: $p<0.01$

K grubuna göre MABH grubunda b***: $p<0.001$

Gruplar arası serum K^+ düzeylerinin dağılımında K grubuna göre K+OT grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma, MABH grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Serum K^+ düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 5'de gösterildi.

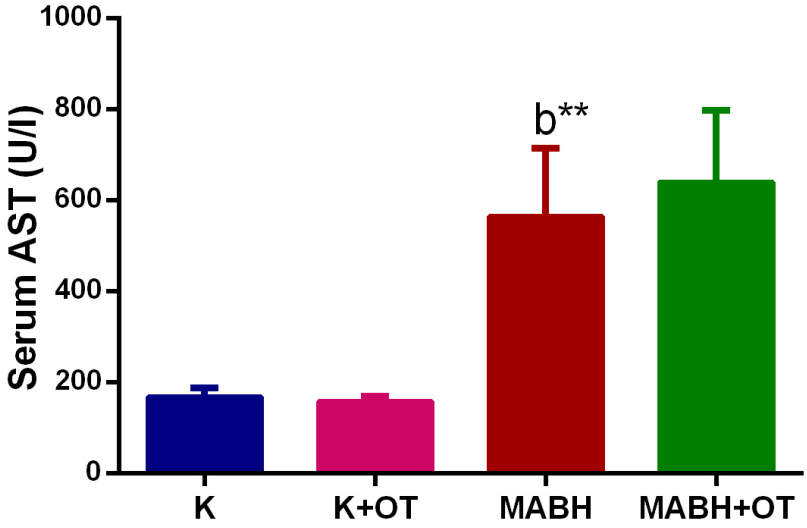


Şekil 5. Serum K^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre K+OT grubunda a**: p<0.01

K grubuna göre MABH grubunda b*: p<0.05

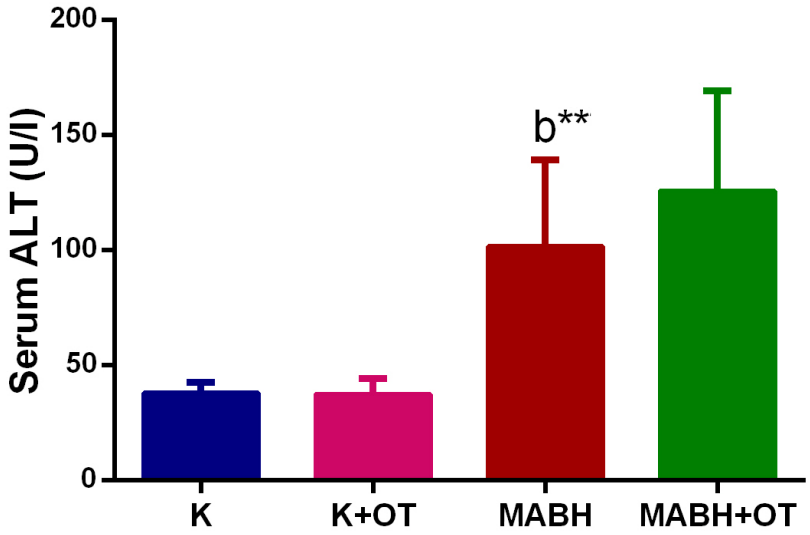
Gruplar arası AST düzeylerinin dağılımında K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). K grubuna göre MABH grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. AST düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 6'da gösterildi.



Şekil 6. Serum AST düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubu b**: p<0.01

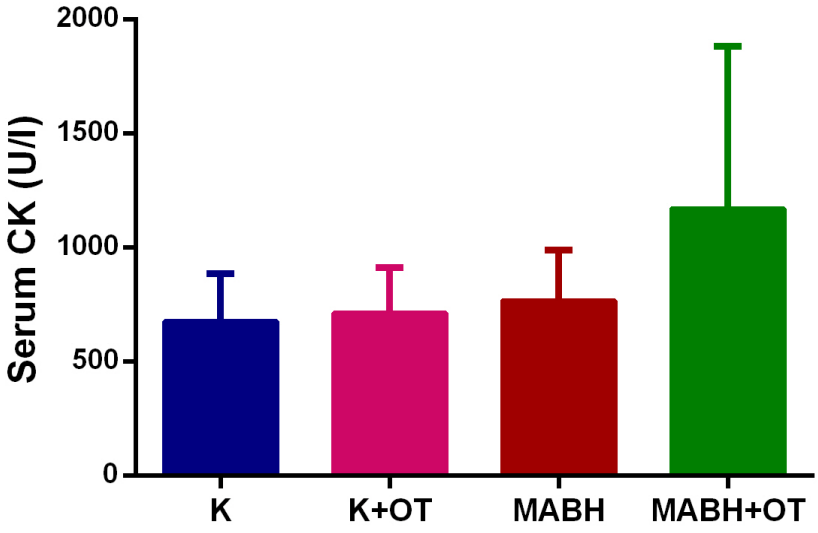
Gruplar arası ALT düzeylerinin dağılımında K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. ALT düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 7'de gösterildi.



Şekil 7. Serum ALT düzeylerinin gruplar arası dağılımı

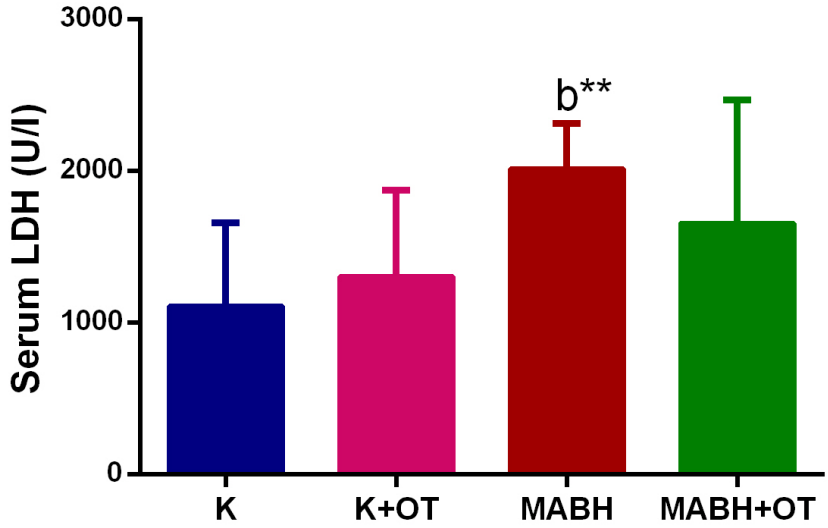
Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubu b**: $p<0.01$

Gruplar arası serum CK düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Serum CK düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 8'de gösterildi.



Şekil 8. Serum CK düzeylerinin gruplar arası dağılım

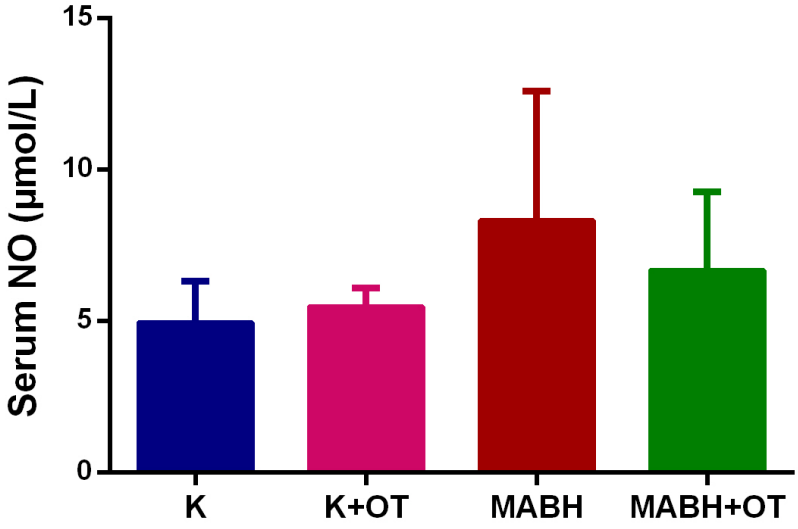
Gruplar arası LDH düzeylerinin dağılımında K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. LDH düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 9'da gösterildi.



Şekil 9. Serum LDH düzeylerinin gruplar arası dağılımı

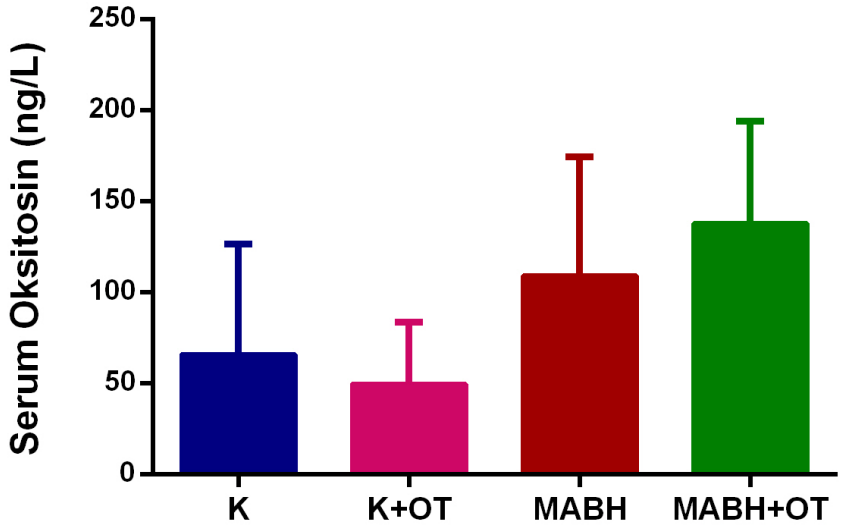
Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubu b**: $p<0.01$

Gruplar arası serum NO düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir faklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Serum NO düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 10'da gösterildi.



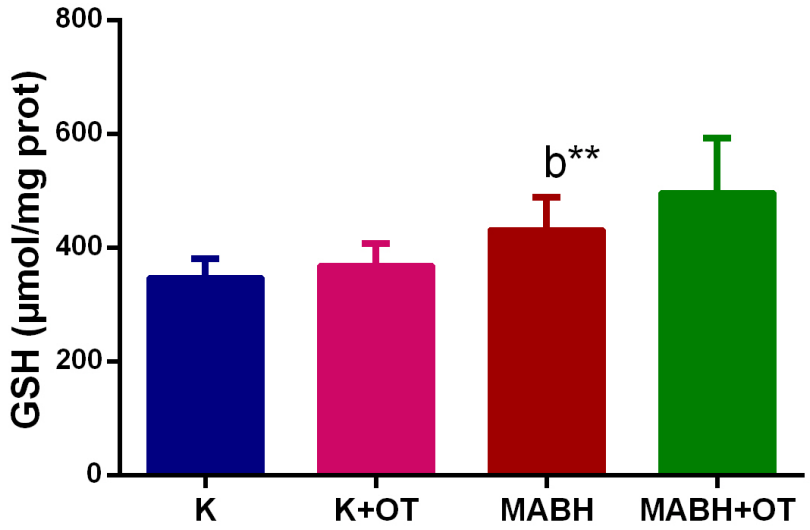
Şekil 10. Serum NO düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Gruplar arası serum oksitosin düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$). Serum oksitosin düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 11'de gösterilmiştir.



Şekil 11. Oksitosin düzeylerinin gruplar arası dağılımı

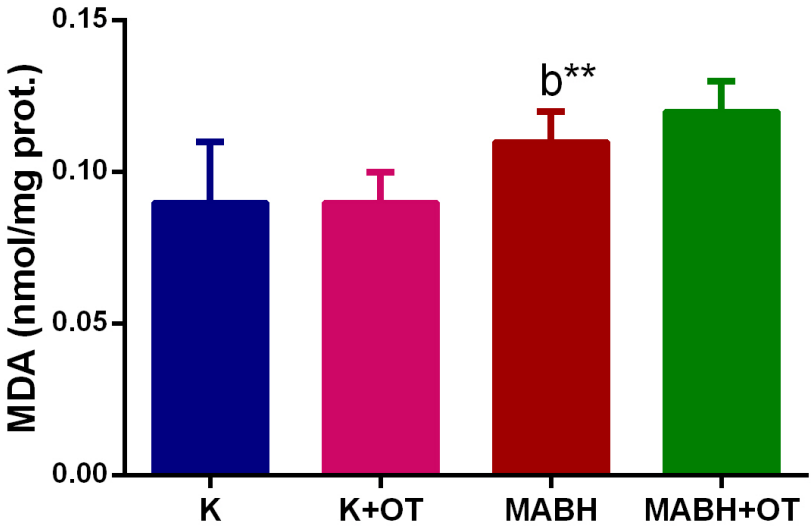
Gruplar arası GSH düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). GSH düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 12'de gösterildi.



Şekil 12. GSH düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırılmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

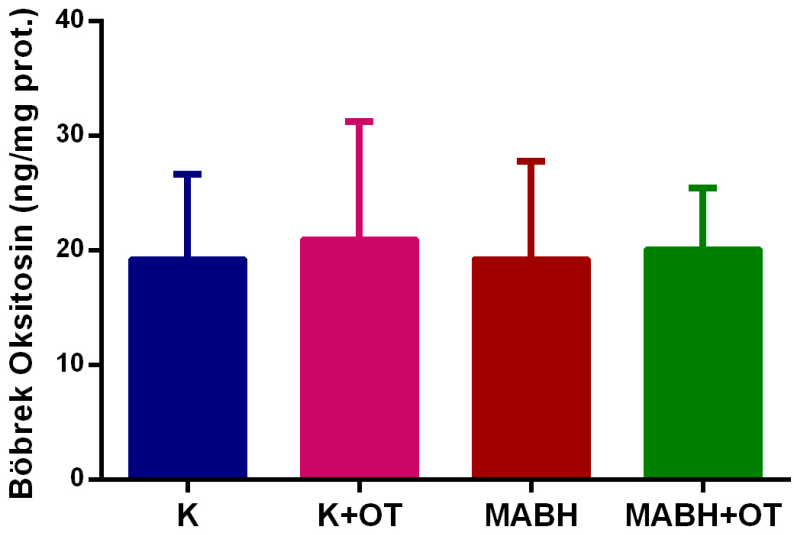
Gruplar arası MDA düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH grubu ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). MDA düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 13'de gösterildi.



Şekil 13. MDA düzeylerinin gruplar arası dağılımı

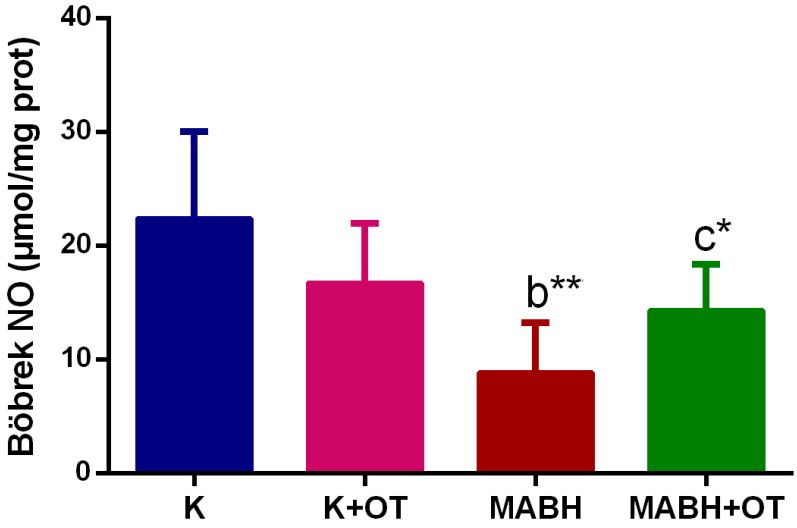
Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

Gruplar arası böbek oksitosin düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0.05$). Böbrek oksitosin düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 14'de gösterilmiştir.



Şekil 14. Böbrek oksitosin düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Gruplar arası böbrek NO düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. MABH grubuna göre MABH+OT grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Böbrek NO düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 15'de gösterildi.

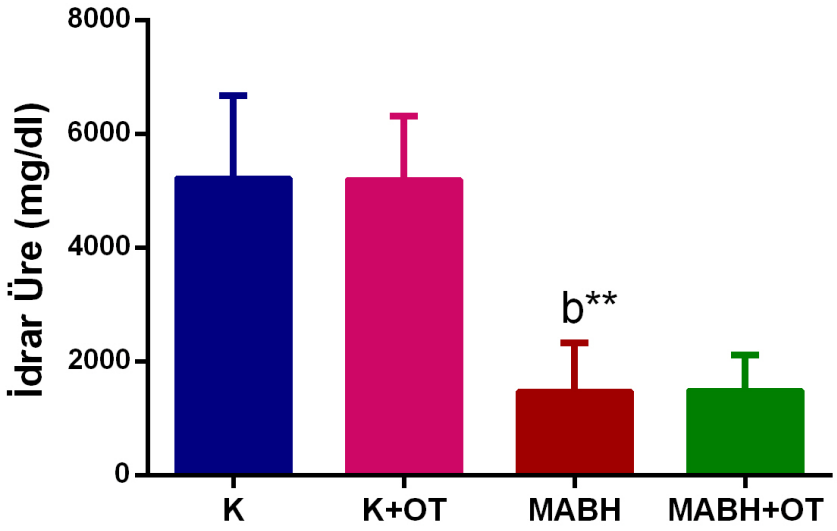


Şekil 15. Böbrek NO düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: $p<0.01$

MABH grubuna göre MABH+OT grubunda c*: $p<0.05$

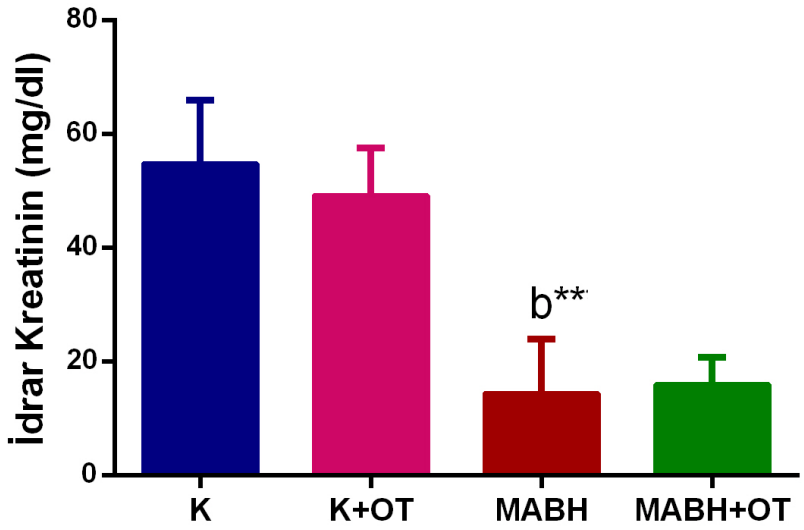
Gruplar arası idrar üre düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH grubu ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar üre düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 16'da gösterildi.



Şekil 16. İdrar üre düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: $p<0.01$

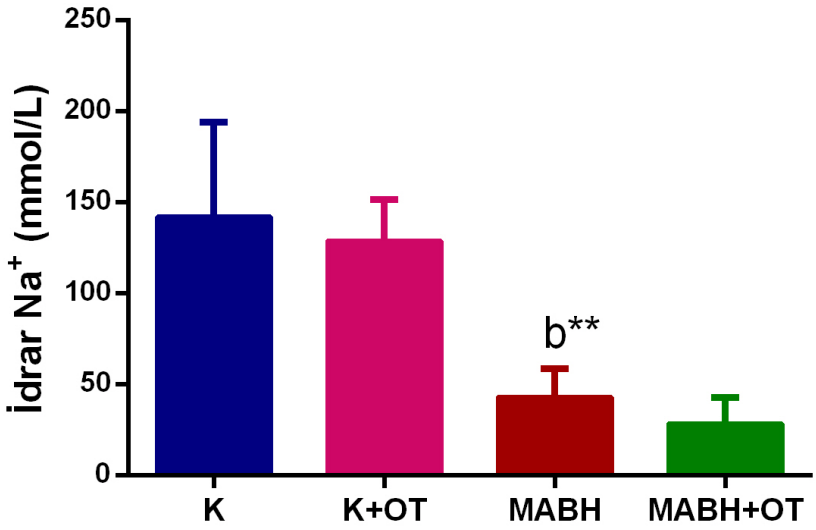
Gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH grubu ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar kreatinin düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 17'de gösterildi.



Şekil 17. İdrar kreatinin düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: $p<0.01$

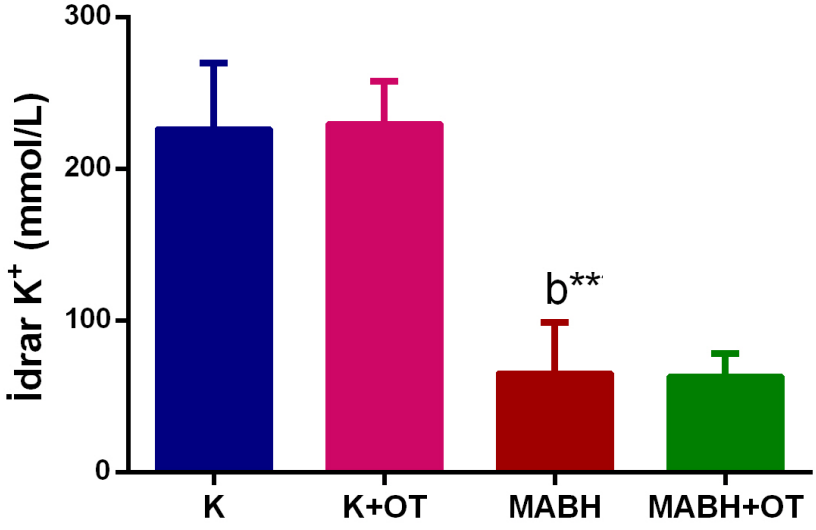
Gruplar arası idrar Na^+ düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubunda ve MABH grubu ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar Na^+ düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 18'de gösterildi.



Şekil 18. İdrar Na^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

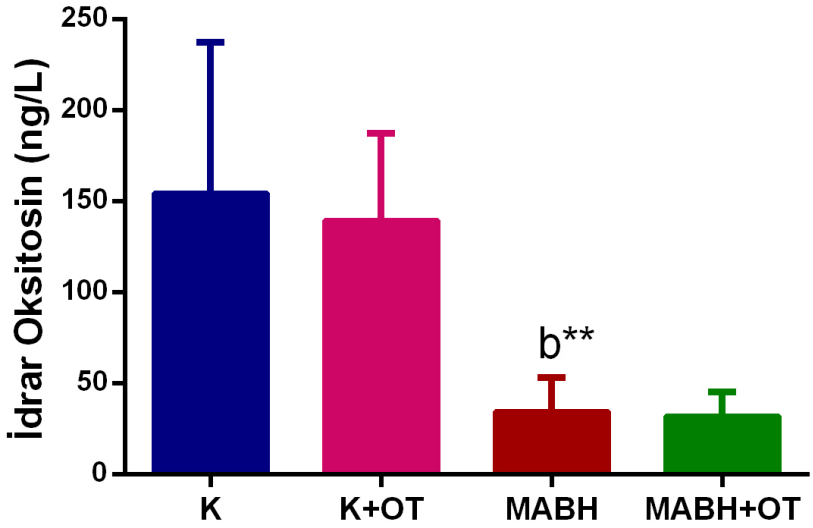
Gruplar arası idrar K^+ düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH grubu ile MABH+OT istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). İdrar K^+ düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 19'de gösterildi.



Şekil 19. İdrar K^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

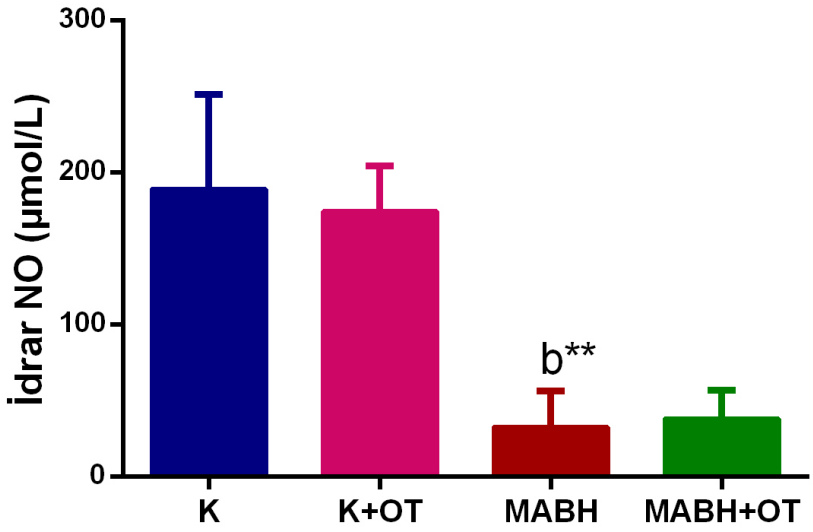
Gruplar arası idrar oksitosin düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar oksitosin düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 20'de gösterildi.



Şekil 20. İdrar oksitosinin düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: $p<0.01$

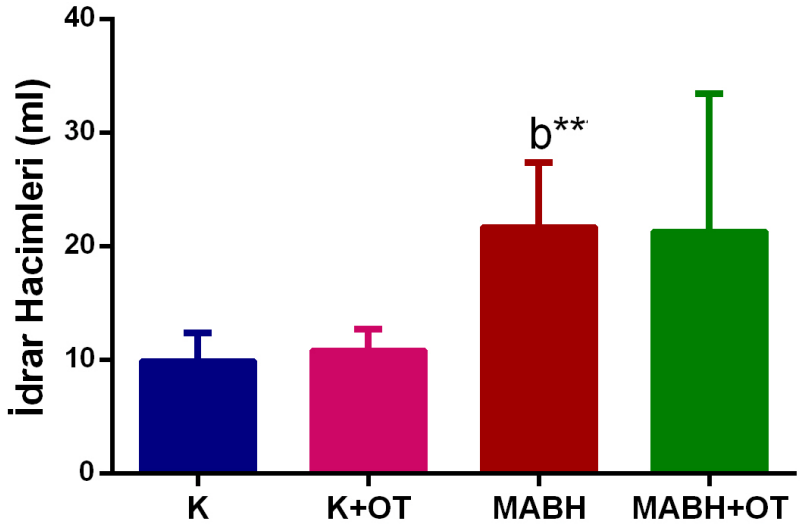
Gruplar arası idrar NO düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). İdrar NO düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 21'de gösterildi.



Şekil 21. İdrar NO düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

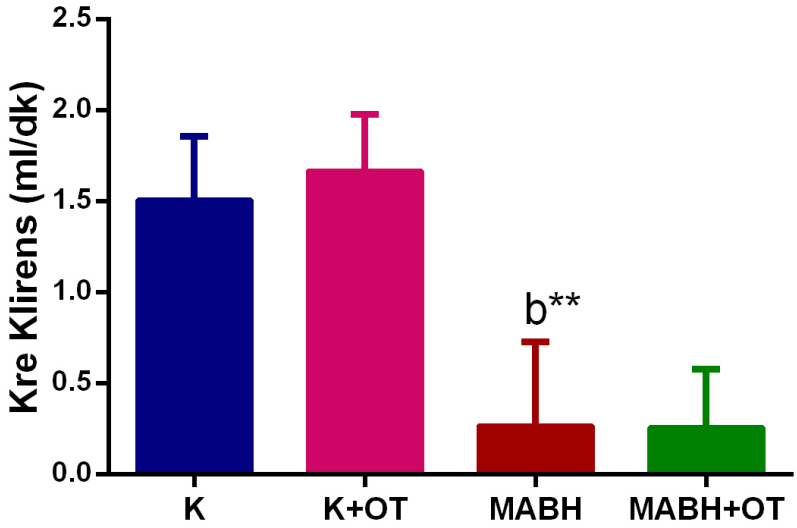
Gruplar arası 24 saatlik idrar hacimleri düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). 24 saatlik idrar hacimleri düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 22'de gösterildi.



Şekil 22. İdrar hacimlerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

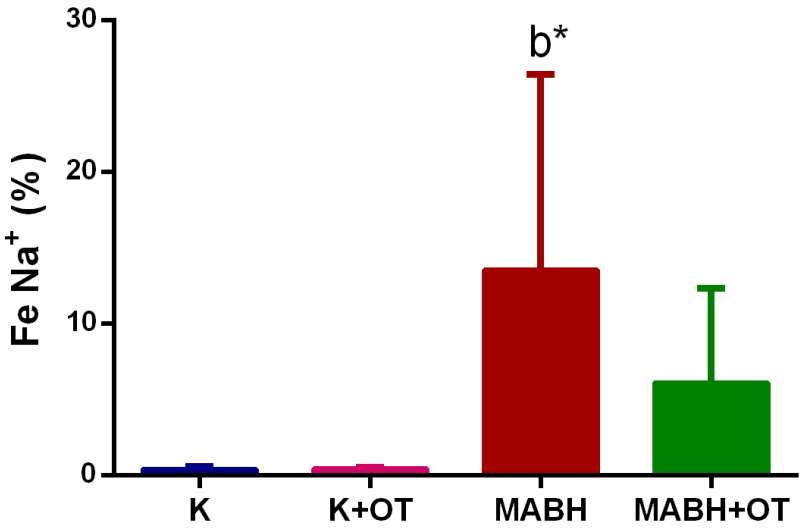
Gruplar arası kreatin klirensi düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH grubu ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Kreatin klirensi düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 23'de gösterildi.



Şekil 23. Kreatinin klirensi düzeyinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: $p<0.01$

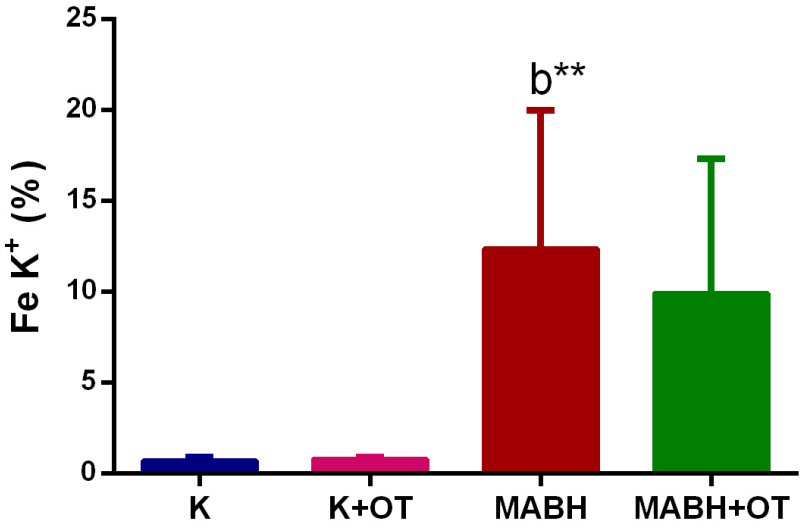
Gruplar arası $FeNa^+$ düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). $FeNa^+$ düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 24'de gösterildi.



Şekil 24. $FeNa^+$ düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b*: p<0.05

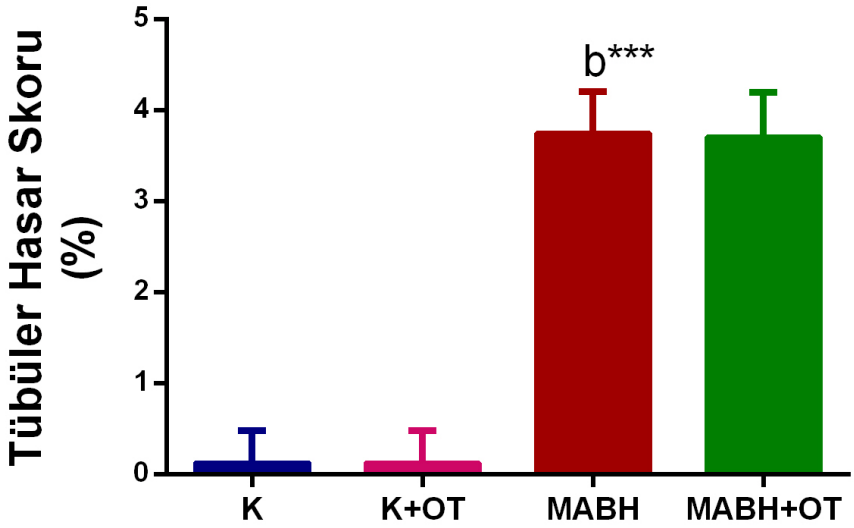
Gruplar arası FeK^+ düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda p<0.01 düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). FeK^+ düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 25'de gösterildi.



Şekil 25. FeK^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

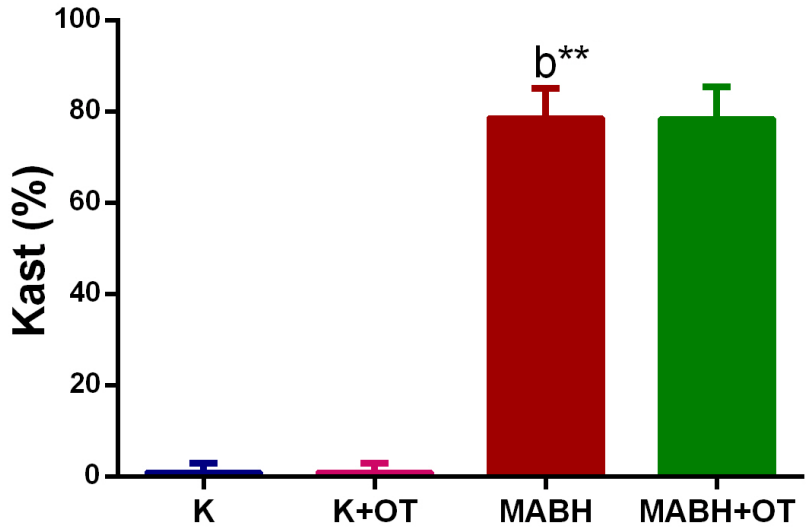
Gruplar arası tübüler hasar düzeylerinin dağılımında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.001$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH grubu ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Tübüler hasar düzeylerinin gruplardaki dağılımı Şekil 26'da gösterildi.



Şekil 26. Tübüler hasar derecelerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b***: $p<0.001$

Gruplar arası kast derecelerinin dağılımlarında K grubuna göre MABH grubunda $p<0.01$ düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi. K grubu ile K+OT grubu ve MABH ile MABH+OT grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). Kast derecelerinin gruplardaki dağılımı Şekil 27'de gösterildi.



Şekil 27. Kast derecelerinin gruplar arası dağılımı

Karşılaştırmalar: K grubuna göre MABH grubunda b**: p<0.01

Histopatolojik Sonuçlar

Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda, 0-4 skalası kullanılarak böbrek hasarı derecesi ve % kast değerleri her bir sıçan için hesaplandı. Hesaplanan bu değerler Tablo 9 ve 10'da gösterildi.

Kontrol grubundaki sıçanların hematoksilen-eozin (HE) boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; mikroskobik kesitlerde tübül ve glomerüllerin normal görünümde izlendi, herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (Şekil 28).

Kontrol+OT grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; K grubuna benzer özelliklerde olduğu, bunların glomerüler ve tübüler yapılarının normal görünümde olduğu izlendi. Glomerüllerde bir değişiklik göze çarpmadı. Tübüllerde herhangi bir nekroz veya kast oluşumu gözlenmedi (Şekil 29)

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde tübül epitelinde nekroza rastlandı. Proksimal, distal ve kolektör tübül lümeninde subkortikal alandan başlayan ve renal pelvise kadar uzanan kast şeklinde dens proteinöz madde birikimi izlendi. Tübüllerde belirgin dilatasyon vardı. Distal tübül hücrelerinde hidrofik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon dikkati çekti. Glomerüllerde belirgin konjesyon dışında bir değişiklik görülmedi. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübüler epitel hücrelerde nükleer irileşme ve nükleol belirginleşme gibi rejenerasyon bulguları izlendi (Şekil 30)

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı+OT grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; MABH grubuna benzer şekilde tübüllerde belirgin dilatasyon, tübül epitel hücrelerinde hidrofik sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon görüldü. Glomerüllerde değişiklik yoktu. Peritübüler stromada ödem ve vasküler yapılarda konjesyon mevcuttu. Tübül epitelinde rejeneratif değişiklikler izlendi (Şekil 31).

Tablo 9. Grupların tübüler hasar derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar

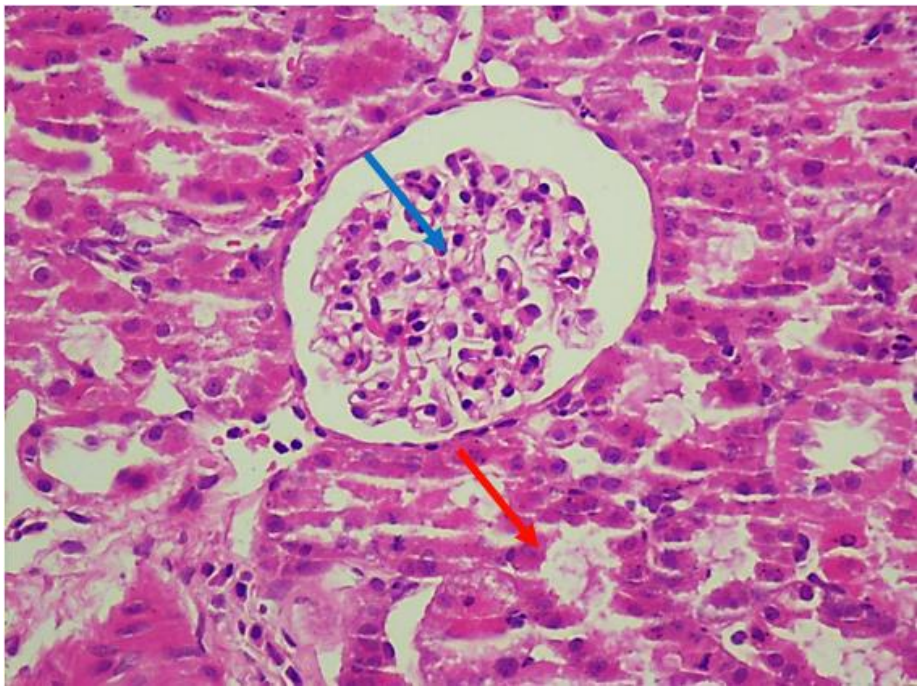
SN	1.GRUP	2.GRUP	3.GRUP	4.GRUP
1	0	0	4	3
2	0	0	3	4
3	0	1	4	4
4	0	0	4	4
5	1	0	4	
6	0	0	3	3
7	0	0	4	4
8	0	0	4	4
ORT±SD	0.12±0.35	0.12±0.35	*3.75±0.46	3.71±0.48

SN:Sıra numarası; 1.Grup(kontrol), 2.Grup(kontrol+oksitosin), 3.Grup(MABH), 4.Grup(MABH+Oksitosin) *p<0.001 düzeyinde 1.Gruba göre anlamlı artma izlendi.

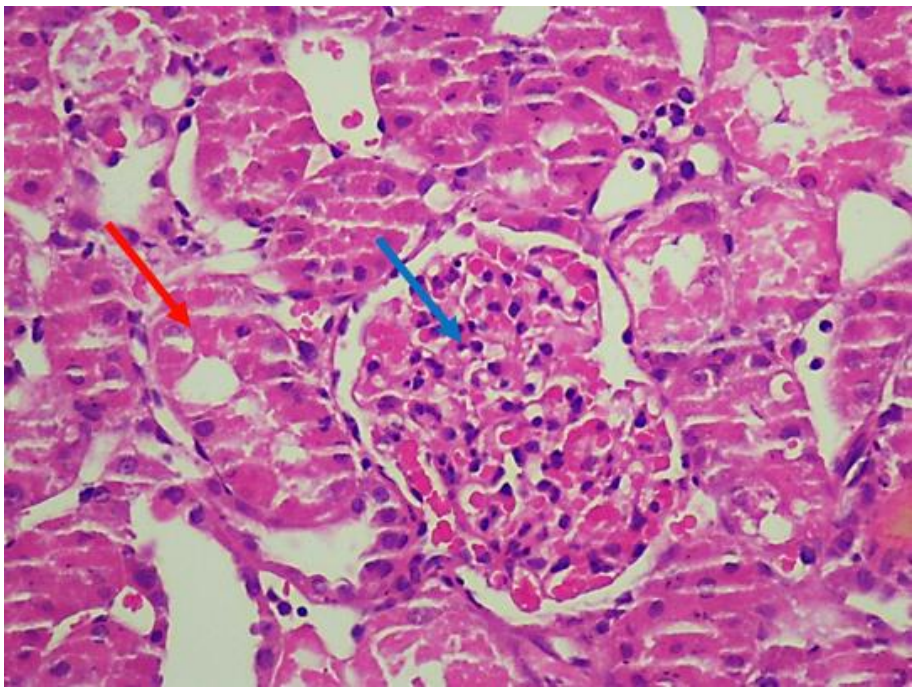
Tablo 10. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar

SN	1.GRUP	2.GRUP	3.GRUP	4.GRUP
1	2	5	80	80
2	5	0	80	80
3	0	2	90	70
4	0	0	80	70
5	2	0	70	
6	0	0	70	90
7	0	7	80	80
8	0	0	80	80
ORT±SD	1.12±1.81	1.12±1.81	*78.75±6.41	78.57±6.90

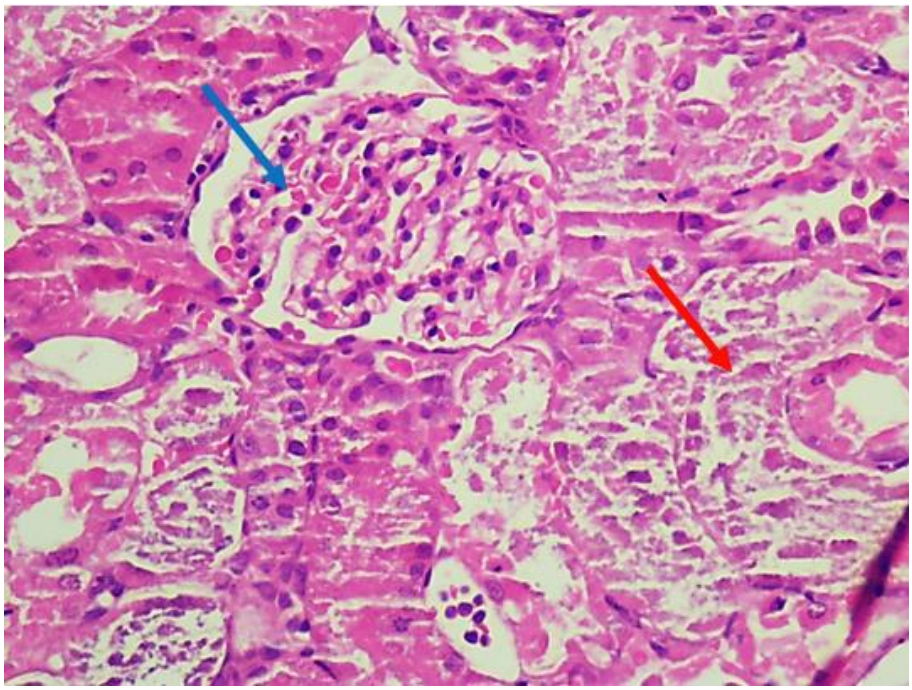
SN:Sıra numarası; 1.Grup(kontrol), 2.Grup(kontrol+oksitosin), 3.Grup(MABH), 4.Grup(MABH+Oksitosin) *p<0.001 düzeyinde 1.gruba göre anlamlı artma izlendi.



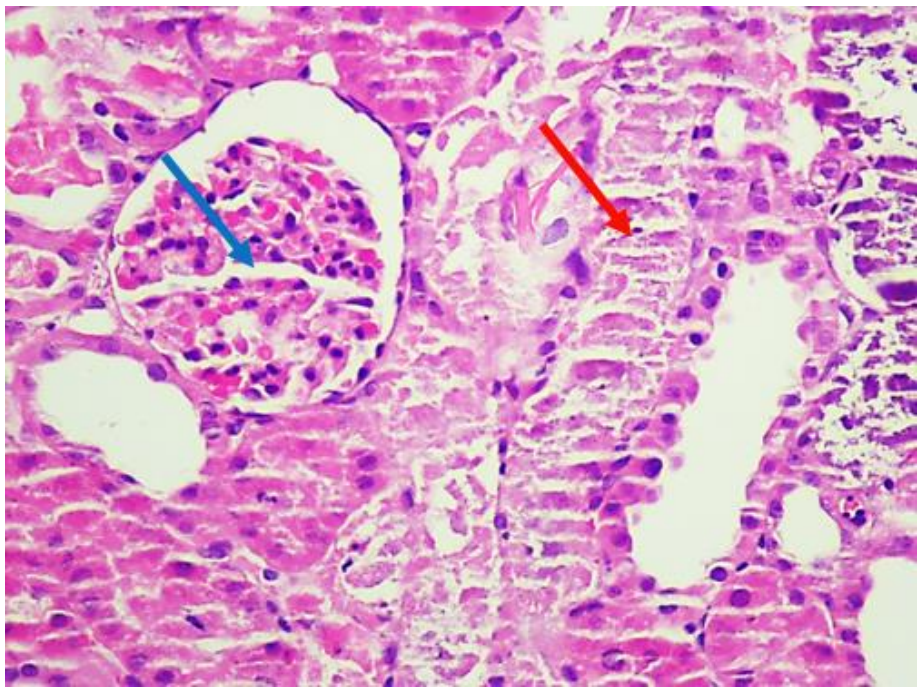
Şekil 28. K grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]
Glomerül (mavi ok), düzenli yapıda proksimal tübül



Şekil 29. K+OT grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]
Glomerül (mavi ok), düzenli yapıda proksimal tübül



Şekil 30. MABH grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)]
Glomerül (mavi ok), proksimal tübül hasarı ve kast (kırmızı ok)



Şekil 31. MABH+OT grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım(HEx200)]
Glomerül (mavi ok), proksimal tübül hasarı ve kast

TARTIŞMA

Hipertonik (%50) gliserol verilerek deneysel MABH modeli oluşturduğumuz çalışmamızda OT hormonunun MABH'nin fizyopatolojisindeki rolü, OT hormon tedavisinin böbrek fonksiyonları ve hasarı üzerindeki etkileri ile NO ve oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri araştırıldı. Bu amaçla deneysel MABH için verilen %50'lik gliserol enjeksiyonundan sonra 1. ve 24. saatinde OT enjeksiyonunun etkileri araştırıldı. Çalışmamızın 48. saatinde sakrifiye edilen sıçanların serum OT, NO düzeyleri ile böbrek tübüler ve glomerüler fonksiyon belirteçleri (serum üre, kreatinin, kreatin klirensi, $FeNa^+$, FeK^+) ile kas hasarı sonucu açığa çıkan ve kas hasarının derecesi hakkında bilgi veren serum CK, LDH, AST ve ALT aktiviteleri araştırıldı. Ayrıca oksidatif stres parametresi olarak lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak kullanılan MDA düzeyleri ile güçlü bir antioksidan olan total glutatyon düzeyleri incelendi. ABH oluşturduğumuz çalışmamızda böbrek tübüler ve glomerüler fonksiyonların bozulduğu, NO düzeylerinin azaldığı, lipid peroksidasyonunun arttığı, histopatolojik olarak böbrek hasarının geliştiği ve tübüllerde kast birikiminin arttığı görüldü. Ayrıca kas hasarının belirteçleri olarak kabul edilen serum K^+ düzeyleri ile AST, ALT ve LDH aktivitelerinin arttığı görüldü. Bu sonuçlarımız 8 ml/kg dozunda arka bacak kaslarına enjekte ettiğimiz hipertonik gliserolün deneysel MABH'yi geliştirdiği ve modelin oluştuğunu göstermektedir.

Çalışmamızda im FS enjekte ettikten sonra 1. ve 24. saatlerde ip FS enjeksiyonu yaptığımız K grubu olan sıçanlar ile im FS verildikten sonra 1. ve 24. saatlerde ip 40 IU/kg dozunda OT verilen K+OT grubu sıçanların verilerini karşılaştırdığımızda; serum Na^+ ve K^+ seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı saptandı. K ve K+OT grupları arasında bu çalışmada incelenen diğer parametrelerde anlamlı bir farklılık görülmedi.

Çalışmamızda serum Na^+ seviyesindeki azalmanın OT'nin natriürez etkisi sonucu olduğunu düşündürmektedir. Anderson ve ark. (79) yapmış olduğu çalışmada OT infüzyonunun güçlü bir natriüretik etki gösterdiği, K^+ atılımını arttırdığı, ancak Na^+ atılımının K^+ atılımına göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu bulgumuz bu çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermiştir (80). Elberry ve ark. (81) sisplatinin böbreklerde oluşturduğu hasara karşı yaptıkları çalışmalarında sağlıklı sıçanlara OT verilmesinin serum kreatinin, serum üre, LDH aktiviteleri, MDA, glutatyon, böbrek NO seviyelerinde ve histopatolojik değişikliklerde anlamlı farklılık oluşturmadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda incelediğimiz parametrelerde anlamlı farklılık olmaması bu çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Tez çalışmamızda %50'lik gliserolün 8 ml/kg dozunda arka bacak kaslarına enjekte edildiği ve gliserol enjeksiyonundan sonra ip FS verdiğimiz MABH grubu sıçanların verileri K grubu ile karşılaştırıldığında böbrek glomerüler fonksiyonun belirteci olan serum üre ve kreatinin düzeylerinin belirgin düzeyde anlamlı olarak arttığı, kreatin klirensinin ise azaldığı saptandı. Böbreklerde tübüler fonksiyonun belirteçleri olarak kabul edilen $FeNa^+$ ve FeK^+ atılımının anlamlı düzeyde artış gösterdiği saptandı. Kas hasarının belirteçleri olarak kullanılan serum K^+ düzeyi ile ALT, AST ve LDH aktivitelerinin anlamlı düzeyde artış gösterdiği saptandı. Böbrek dokusunda lipid peroksidasyonun bir belirteci olan MDA düzeyleri ile güçlü bir antioksidan olan total glutatyon düzeylerinde anlamlı bir artış saptandı. Deneysel MABH'nin fizyopatolojisinde önemli rol oynadığı bilinen böbrek NO düzeylerinde ise anlamlı bir azalma saptandı. Böbreklerde yapılan histopatolojik incelemelerde tübüler hasar ile tübül içi kast birikiminin belirgin olarak arttığı görüldü. Bu grupta serum OT düzeyleri belirgin düzeyde artmasına rağmen bu artış anlamlı bulunmadı. Böbrek OT düzeylerinde de benzer şekilde anlamlı farklılık saptanmadı. Diğer taraftan idrar OT atılımında anlamlı düzeyde bir azalma saptandı. Bu grubun idrar NO, üre, kreatinin, Na^+, K^+ düzeylerinde de anlamlı bir azalma saptandı. Diğer taraftan idrar hacimlerinde artış görüldü.

İskelet kasının işlevsel durumunun belirlenmesinde hem normal koşullarda hem de hastalık durumlarında serum K^+, miyoglobin, troponin düzeyleri ile CK, LDH, AST ve ALT aktiviteleri kas hasarını gösteren belirteçler olarak araştırılmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız deneysel MABH modelinin farklı zamanlarda kas hasarının belirteçleri olarak CK, AST ve ALT aktivitelerinin kullanıldığı çalışmalarda AST ve ALT aktivitelerinin 24 saatte pik yaptığı ve 48. saate kadar serum düzeylerinin yükseldiği rapor edilmiştir (82,83). Diğer taraftan serum CK aktivitelerinin gliserol enjeksiyonundan sonraki ilk 12. saatte pik yaptığı ve daha sonra hızla düştüğü bildirilmiştir. Laboratuvarımızda bu model ile yapılan çalışmalarda 24. saatte serum CK, ALT, AST, LDH aktivitelerinin kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde

yüksek olduğu bildirilmiştir (84). Özdemir'in yapmış olduğu CK, AST, ALT ve LDH aktivitelerinin incelendiği deneysel MABH modelinde farklı zaman dilimlerinin etkilerinin araştırıldığı tez çalışmasında CK, AST, ALT ve LDH aktivitelerinin 6. saate nazaran düşmesine rağmen kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir. 48. saatte ise CK aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık oluşturmadığı, ancak AST, ALT ve LDH aktivitelerinin yüksek olduğu rapor edilmiştir. Mevcut çalışmamızın sonuçları daha önce yapılan bu çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir (3,82-92). K^+ düzeylerinin K grubuna göre yüksek olması laboratuvarımızda daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile diğer MABH modellerindeki literatür sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (84,89,92,93). Hiperkalemi iskelet kaslarının hasarı sonucu ekstrasellüler sıvıya K^+ geçer ve iskelet kası hasarı süresince kardiyotoksik etki gösterir (91,95). Çalışmamızda glomerüler fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olarak kullanılan serum üre ve kreatinin düzeyleri K grubuna göre anlamlı düzeyde belirgin bir artış saptandı. Aynı zamanda GFH'nin belirlenmesinde bir belirteç olarak kullanılan kreatin klirensi de istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi. Çalışmamızdaki bu sonuçlar glomerüler fonksiyonların belirgin olarak bozulduğuna işaret etmektedir. Daha önce laboratuvarımızda çalışmamızda kullandığımızda modelde yapılan çalışmalar ile literatürdeki araştırma sonuçları mevcut çalışmamızdaki bulgularla uyumluluk göstermektedir (3,84,85,92,96).

Çalışmamızda tübüler fonksiyonların göstergesi olarak incelediğimiz $FeNa^+$ ile FeK^+ atılımı belirgin artışlar gösterdi. Bu sonuç bize tübüler fonksiyonların bozulduğunu göstermektedir. Bu sonuçlarımız mevcut literatür ve laboratuvarımızdaki çalışma bulguları ile benzerlik göstermektedir. $FeNa^+$ atılımı ABH'nin etiyolojisi ile ilgili bir belirteç olarak kabul edilir. Prerenal ABH'de Fe Na^+ atılımı değeri %1'in altındayken RM'ye bağlı gelişen MABH' de %1'in üzerinde olduğu bildirilmiştir (94,97).

Deneysel MABH'nin fizyopatolojisinde serbest radikaller önemli rol oynamaktadır. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeylerindeki anlamlı artış bu grupta serbest radikal hasarının oluştuğunu göstermektedir. MDA düzeylerindeki anlamlı artış birçok çalışmada rapor edilmiştir. Çalışma sonuçlarımız mevcut literatür sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir (3,84,92). En güçlü endojen antioksidan olarak kabul edilen glutatyon düzeylerinde anlamlı bir artma saptandı. Çalışmamızda total glutatyon düzeyleri incelendi. Glutatyon düzeylerindeki bu artışın okside glutatyon ya da redükte glutatyon düzeylerinden mi kaynaklandığını ileride yapılacak detaylı çalışmalarda ayrı ayrı araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Nitrik oksit L-arginin amino asitinden NOS enzimlerinin katalizledikleri reaksiyon sonucu sentezlenir. Böbreklerde glomerüler kan akımının kontrolünde tübüloglomerüler geri bildirim mekanizmasında, renin salgılanmasında, Na^+ ve su atılımının düzenlenmesinde belirgin etkiler oluşturduğu bildirilmiştir. NO fizyolojik koşullarda eNOS enzimi tarafından sentezlenmektedir. İnflamasyon ile ilişki böbrek hasarlarında iNOS enzim aktivitesinin artarak yoğun bir şekilde NO sentezlendiği rapor edilmektedir. MABH'de NO düzeylerinin anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Diğer taraftan artan serbest oksijen radikallerinin NO biyoaktivitesi ve eNOS aktivitesini azalttığı, SOR'daki artış NO ile reaksiyona girerek peroksinitrit oluşumuna sebep olduğu ve bu durumda doku hasarında artış oluşturduğu rapor edilmiştir (97-101). Çalışmamızda böbrek NO düzeylerinin azalması ile idrar NO atılımının azalması laboratuvarımızda yaptığımız ve literatürdeki birçok çalışmayla benzerlik göstermektedir (102-104). NO düzeyindeki bu azalma böbreklerde görülen glomerüler ve tübüler fonksiyon bozukluklarını desteklemektedir.

Çalışmamızın K ve K+OT gruplarının böbrek kesitleri histopatolojik olarak incelendiğinde glomerüller ve tübüllerde herhangi bir hasar ve kast birikimine rastlanmadı. MABH oluşturulan gruba ait sıçanların hemotoksilen eozin ile boyanan böbrek kesitlerinde tübüler hasar skorunda ve tübüler kast birikiminde anlamlı bir artış gözlendi. Bu bulgularımız mevcut literatürdeki ve laboratuvarımızda yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (3,84,85,92,105).

Oksitosin hipotalamustaki supraoptik ve paraventriküler çekirdeklerden salınan bir hormondur. OT fonksiyonunu damar düz kas ve endotelyal hücreleri ile santral sinir sisteminde yaygın olarak bulunan G-protein aracılı reseptörler aracılığıyla gösterir. OT reseptörleri böbreklerde, kalp, timüs, pankreas ve adipositlerde de tanımlanmıştır. OT'nin başlıca fonksiyonları doğum sırasında uterus kontraksiyonu ve laktasyon süresince süt salınımı yapmasıdır. Bu klasik işlevlerine ek olarak OT'nin güçlü bir anti-stres, anti-inflamatuar ve anti-oksidan etki gösterdiği rapor edilmiştir (106). Ragy ve ark. (8) 45 dk böbrek iskemisi ve 60 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında OT tedavisin serum üre, kreatinin seviyeleri ile AST, ALT aktivitelerini, böbrek MDA düzeylerini azalttığı ve böbrek total antioksidan kapasite ile NO düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir. Tuğtepe ve ark. (6) 45 dk iskemi, 6 saat reperfüzyon uyguladıkları çalışmalarında artmış olan serum kreatinin, üre ile LDH aktivitesini azalttığı, yükselmiş olan böbrek dokusu MDA düzeylerini azalttığı, total glutatyon seviyesini ise arttırdığı bildirilmiştir. Diğer taraftan böbrek histopatolojik değişikliklerde de anlamlı düzeyde iyileşme sağlandığı gösterilmiştir. Elberry ve ark. (81) sisplatinin oluşturduğu nefrotoksisiteye karşı uyguladıkları OT tedavisinin serum üre, kreatinin düzeyleri ve LDH aktivitesini anlamlı

düzeyde azalttığı, böbrek redükte glutatyon düzeylerini arttırdığı, MDA ve yükselmiş olan NO düzeylerini azalttığı saptanmıştır. Bu çalışmada histopatolojik olarak böbrek hasarının da azaldığı bildirilmektedir. Erbaş ve ark. (7) böbrek hasarı oluşturmak için sisplatin uyguladıkları çalışmalarında OT tedavisinin böbreklerde tübüler nekroz ve glomerüler hasarı azaltarak antienflamatuar ve antifibrotik etki gösterdiği bildirilmiştir.

Çalışmamızda hipertonik gliserolün 8 ml/kg dozunda im enjekte edildiği ve gliserol enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra OT tedavisi verilen MABH+OT grubu sıçanlardaki parametreleri MABH grubu ile karşılaştırdığımızda böbrek fonksiyonu parametrelerinde oksidatif stres, antioksidan düzeylerinde, histopatolojik incelemelerde OT tedavisinin anlamlı bir fark oluşturmadığı saptandı. Çalışmamızda OT tedavisinin böbrek NO düzeyini anlamlı olarak arttırdığı görüldü. Deneysel MABH'nin fizyopatolojisinde NO artışının yararlı etki gösterdiği rapor edilmesine rağmen yaptığımız çalışmada NO düzeyindeki artışın böbrek fonksiyonlarını iyileştirmesi ile korelasyon göstermediği görüldü. Bu sonucumuz böbrek I/R hasarında OT'nin NO düzeylerini arttırıcı etkisiyle uyumluluk göstermektedir (8). Ancak çalışmamızda OT'nin NO düzeyindeki artışa rağmen yararlı etkisinin görülmeyişinin mekanizmasının araştırılması gerektiğine inanmaktayız. OT'nin yukarıda özetlendiği gibi farklı deneysel hasar modellerinde koruyucu rol oynadığı, anti-inflamatuar, anti-iskemik, anti-fibrotik ve anti-oksidan etki gösterdiği rapor edilmiştir (6-8,81). Ayrıca böbreklerde NO düzeylerinde artışa sebep olarak böbrek fonksiyonlarının iyileşmesinde ve böbrek hasarının azaltılmasında önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (8). Elberry ve ark. (81) sisplatinin oluşturduğu böbrek hasarına karşı OT tedavisinin NO düzeyini azalttığı bildirilmiştir. Bu bulgu çalışmamızda OT'nin NO düzeyini artırıcı etkisiyle ve literatür ile uyuşmamaktadır. Bu durum OT'nin farklı deneysel modellerde farklı etki oluşturduğunu göstermektedir.

Yaptığımız mevcut çalışmada OT'nin böbrek fonksiyonları, oksidatif stres parametreleri ile histopatolojik değişiklikler üzerinde tedavi edici etki oluşturmamasının birkaç nedeni olabilir. Bunlar, 1) OT'nin veriliş yolu, 2) OT'nin dozu, 3) Hasar gelişmeden veya hasar geliştikten sonra OT'nin verilme zamanı, 4) OT'nin günlük enjeksiyon sayısı, 5) Deneysel MABH'nin fizyopatolojisinde etkili faktörlerin diğer deneysel böbrek hasarı modellerinden farklı olmasının bir sonucu olabilir. Yaptığımız çalışmada OT tedavisinin etkili olmamasının nedenini açıklamak için incelediğimiz parametreler ile literatür bilgileri bir arada değerlendirildiğinde patofizyolojik mekanizmayı açıklamak için bu veriler yetersiz kalmaktadır. OT'nin deneysel MABH'nin fizyopatolojisindeki etki mekanizmasını açıklamak amacıyla OT dozu, veriliş yolu, veriliş zamanı ve verilme sıklığında yapılacak düzenlemeler ile böbrek kan akımı, böbrek fonksiyonları, oksidatif hasar, inflamatuar parametreler ve NO

mekanizmasındaki etkilerinin moleküler düzeyde araştırılması gerektiği düşüncesindeyiz. Bu çalışmanın ön klinik çalışmalara ışık tutacağı ve yeni projelerin yapılmasına katkıda bulunacağı görüşündeyiz.

SONUÇLAR

Hipertonik gliserolün sıçanların arka bacak kaslarından im verilmesiyle MABH modeli oluşturulan çalışmamızda birçok deneysel böbrek hasarı modelinde antioksidan özelliği ve koruyucu etkisi olduğu bildirilen OT'nin etkilerini araştırdık.

Karşılaştırılan veri gruplarının bulguları incelendiğinde ;

K grubuna göre 40 IU/kg dozunda OT verilen K+OT grubunda serum Na^+ ve K^+ düzeyinde anlamlı bir azalma gözlendi.

Hipertonik gliserol verilerek MABH oluşturulan sıçanların parametreleri incelendiğinde AST, ALT ve LDH aktiviteleri, böbrek fonksiyonları hakkında bilgi veren serum üre, kreatinin, K^+ düzeyleri, idrar hacimleri, Fe Na^+, Fe K^+, total glutatyon ve MDA düzeylerinde artış gözlendi. Bu grubumuzda serum NO düzeylerinde anlamlı farklılık görülmezken, idrar NO ve böbrek NO düzeylerinde anlamlı olarak azalma gözlendi. Ayrıca idrar üre, kreatinin, Na^+, K^+, serum Na^+ düzeyleri ile kreatin klirensi ve idrar OT düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlendi.

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı grubundaki sıçanlara hipertonik gliserolün im enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra OT verilen MABH+OT grubundaki parametreler incelendiğinde MABH grubuna göre bakılan diğer parametrelerde anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, böbrek NO düzeylerinde anlamlı bir artma gözlendi.

Grupların böbrek kesitleri incelendiğinde K ve K+OT grubunda tübüler hasar ve kast oluşumunda benzer olarak bir değişiklik gözlenmezken, MABH ve MABH+OT grubunda anlamlı bir artış gözlendi.

Bu sonuçlar dikkate alınarak birçok I/R ve böbrek hasarı çalışmalarında tedavi edici etkisi olduğu rapor edilen OT, RM ile oluşturulan MABH'nin fizyopatolojisinde tedavi edici etkisinin yetersiz kaldığı sonucuna ulaşıldı.

ÖZET

Miyoglobinürik akut böbrek hasarının patofizyolojisinde NO ve SOR'un önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Bizde çalışmamızda anti-oksidan etkisi olan OT'nin, MABH'nin sıçan böbreklerinde yol açtığı hasara karşı anti-oksidan, histopatolojik ve böbrek fonksiyonları üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda her grupta 8'er sıçan olmak üzere toplam 32 adet 190-230 gr ağırlığında erkek Spraque Dawley sıçan kullanıldı. Enjeksiyondan 24 saat önce susuz bırakılan K ve K+OT grubu sıçanlara im FS, MABH ve MABH+OT gruplarına 8 ml/kg dozunda verilecek olan %50'lik gliserol solüsyonuna göre bulunan toplam hacim, eşit miktarlarda arka bacak kaslarına uygulandı. Gliserol enjeksiyonundan 1 ve 24 saat sonra K ve MABH grubuna ip FS, OT ve MABH+OT gruplarına ip 40 IU/kg dozunda OT enjekte edildi. Denekler 24. saatindeki ip enjeksiyonundan sonra metabolik kafeslere alınarak 24 saatlik idrarları toplandı. Gliserol enjeksiyonundan 48 saat sonra sıçanlar anestezi altında kanları ve her iki böbreği alınarak sakrifiye edildi.

Çalışmamızda K grubuna göre MABH grubu karşılaştırıldığında MABH grubunda AST, ALT ve LDH aktiviteleri, serum üre, kreatinin, Na^+, K^+, MDA, glutatyon düzeyleri ile idrar hacimleri, $FeNa^+$, FeK^+ düzeylerinde artma gözlenirken, idrar üre, kreatinin, Na^+, K^+, kreatin klirensi, idrar oksitosin, idrar ve böbrek NO düzeylerinde azalma gözlendi. MABH+OT grubunda böbrek NO düzeyinde anlamlı bir artma gözlendi.

Bu sonuçlar göz önüne alınarak OT'nin dozu, veriliş sıklığı, veriliş yolu ve böbrek hasarı oluştuktan sonraki uygulandığı saatlerde düzenleme yaparak moleküler düzeyde daha anlamlı bir çalışma yapılması gerektiği düşüncesindeyiz.

Anahtar kelimeler: Oksitosin, Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı, Serbest Radikaller, Nitrik oksit, Antioksidan

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF OXYTOCIN ON EXPERİMENTAL MYOGLOBINURIC ACUTE KIDNEY INJURY

SUMMARY

It is known that nitric oxide and free oxygen radicals play an important role in the pathophysiology of myoglobinuric acute kidney injury. In our study, we aimed to investigate the effects of oxytocin, which has antioxidant effect, on antioxidant, histopathological and renal functions of MABH against damage caused in rat kidneys..

In our study, a total of 32 190-230 g Spraque Dawley rats were used in each group. A total volume of 50% glycerol solution to be given to the FS, MABH and MABH+OT groups at a dose of 8 ml/kg was applied to the hind limb muscles in equal amounts. 1 and 24 hours after glycerol injection, im FS was enjected to the K and MABH groups, oxytocin was injected to the K and MABH groups at a dose of ip 40 IU/kg to the rats. The subjects were taken to metabolic cages after 24 hours ip injection and 24 hour urine was collected. 48 hours after the glycerol injection, the rats were sacrificed by taking blood and anesthetized kidneys under anesthesia.

In our study, serum urea, creatinine, Na^+, K^+, MDA, glutathione levels and urinary volume increased in MABH group compared to MABH group, whereas urinary urea, creatinine, Na^+, K^+, creatine klirensi, urinary oxytocin, urinary and kidney levels decreased in MABH group compared to MABH group. A significant increase in renal no level was observed in MABH+OT group.

Taking these results into consideration, we think that a more meaningful study should be done at the molecular level by arranging the dose of oxytocin, frequency of delivery, route of delivery and the time after the kidney damage occurs.

Key Words: Oxycotin, Myoglobinuric Acute Kidney Injury,Free Radikals, Nitric Oxide, Antioksidant

KAYNAKLAR

1. Öğütmen MB. Akut Böbrek Yetmezliği. Göğüs Kalp Damar Anestezi ve Yoğun Bakım Dergisi 2011;17(2):25-33.
2. Petekova N, Martinek A. Acute kidney injury due to rhabdomyolysis and renal replacement therapy: a critical review. Critical Care 2014; 18(3): 224.
3. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Taskiran R, Tastekin E, Kaymak K. Protective Effects of L-Carnitine On Myoglobinuric Acute Renal Failure İn Rats. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 2006;33:119-124
4. Sezer K, Keskin M. Serbest Oksijen Radikallerinin Hastalıkların Patogenezindeki Rolü. F.Ü. Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi 2014;28(1):49-56
5. Karabulut H, Gülay M, Serbest Radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2016;4(1):50-59
6. Tugtepe H, Sener G, Biyikli N.K, Yuksel M, Cetinel S, Gedik N et al. The protective effect of oxytocin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. Regul Pept. 2007;140(3):101-8.
7. Erbaş O, Korkma HA, Oltulu F, Aktug H, Yavasoglu A, Akman L, et al. Oxytocin Alleviates Cisplatin-İnduced Renal Damage İn Rats. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2014;17(10):747-752.
8. Ragy MM, Aziz NM. Prevention of renal ischemia/perfusion-induced renal and hepatic injury in adult male Albino rats by oxytocin: role of nitric oxide. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2017;28(6):615-21.
9. Biyikli NK, Tugtepe H, Sener G, Velioglu-Ogunc A, Cetinel S, Midillioglu S, et al. Oxytocin alleviates oxidative renal injury in pyelonephritic rats via a neutrophil-dependent mechanism. Peptides. 2006;27(9):2249-57.

10. Damar H, Bilik Ö. Buzdağının Görünmeyen Yüzünü Keşfetmek: Ortopedi Hastalarında Kompartman Sendromu ve Hemşirelik Yaklaşımları. Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi (DEUHYO ED). 2014;7(3):223-229.
11. Serbest K. İskelet Kaslarının Yapısı ve Biyomekaniği. Akademik Platform Dergisi. 2014;2(3):41-51.
12. Yavuz. Ö. Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Baicalinin Etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2013.
13. Bilgili B, Haliloglu M, Cinel I. Sepsis ve Akut Böbrek Hasarı. Turk J Anaesthesiol Reanim. 2014;42(6):294-301.
14. Çivilibal M, Yavaş Aksu B. Güncel Kılavuzlar Eşliğinde Akut Böbrek Hasarı. Haseki Tıp Bülteni. 2015;53(2):116-9.
15. Tonbul H.Z. Akut Böbrek Hasarının Tanımı ve Sınıflandırılması. Türkiye Klinikleri Nefroloji. 2014;7(1):1-6.
16. Doi K, Nishida O, Shigematsu T, Sadahiro T, Itami N, Iseki K, et al. The Japanese clinical practice guideline for acute kidney injury 2016. Clin Exp Nephrol. 2018;22(5):985-1045.
17. Şen Ş, Çakar Ç. Akut Böbrek Hasarı: Sınıflandırılması ve Prognoz. Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi, 2017.
18. Karagöz P, Kefi A, Erbay Dündar P, Canan S, Çivi M. Yoğun Bakın Hastalarında RIFLE Sınıflaması ile Akut Böbrek Hasarı İnsidansı ve Risk Faktörüleri. Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi. 2015;13(1):16-25.
19. Fujigaki Y, Tamura Y, Nagura M, Arai S, Ota T, Shibata S, et al. Unique proximal tubular cell injury and the development of acute kidney injury in adult patients with minimal change nephrotic syndrome. BMC Nephrol. 2017;18(1):339.
20. Rewa O, Bagshaw S.M. Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and economics. Nature Reviews Nephrology. 2014;10:196
21. Gameiro J, Fonseca JA, Neves M, Jorge S, Lopes JA. Acute kidney injury in major abdominal surgery: incidence, risk factors, pathogenesis and outcomes. Ann Intensive Care. 2018;8(1):22.
22. Rahman M, Shad F, Smith, M.C. Acute Kidney Injury: A Guide to Diagnosis and Management. American Academy of Family Physicians. 2012; 86(7): 631-639.
23. Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of acute kidney injury. Compr Physiol. 2012;2(2):1303-53.

24. Choudhury D, Ahmed Z. Drug-associated renal dysfunction and injury. Nature Clinical Practice Nephrology 2. 2006;80-91.
25. Scalco RS, Gardiner AR, Pitceathly RD, Zanoteli E, Becker J, Holton JL, et al. Rhabdomyolysis: a genetic perspective. Orphanet J Rare Dis. 2015;10:51.
26. Koçer M, Karakısa H, Avcı A, Satar S. Rabdomiyoliz. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi. 2016;25(23783):586-607.
27. Torres PA, Helmstetter JA, Kaye MA, Kaye DA. Rhabdomyolysis: Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. The Ochsner Journal.2015;15:58-69.
28. Chavez LO, Leon M, Einav S, Varon J. Beyond muscle destruction: a systematic review of rhabdomyolysis for clinical practice. Crit Care. 2016;20(1):135.
29. Akdam H, Alp A. Ezilme Sendromu. Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi. 2015;25(2):71-77.
30. Kahraman KN., Kantarcı G, Kahraman C. Rabdomiyoliz ve Hipovolemiye Bağlı Akut Üremi ile Başvuran Nefrotik Sendromlu Olgu Sunumu. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi. 2009;18(2):90-93
31. 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):26-29.
32. Vivante A, Ityel H, Pode-Shakked B, Chen J, Shril S, van der Ven AT, et al. Exome sequencing in Jewish and Arab patients with rhabdomyolysis reveals single-gene etiology in 43% of cases. Pediatr Nephrol. 2017;32(12):2273-82.
33. Zimmerman. L.J, Shen. M.C. Rhabdomyolysis. CHEST Journal. 2013;144(3):1058-1065.
34. Sever MS, Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Disaster nephrology: a new concept for an old problem. Clin Kidney J. 2015;8(3):300-9.
35. Murata I, Goto M, Komiya M, Motohashi R, Hirata M, Inoue Y, et al. Early Therapeutic Intervention for Crush Syndrome: Characterization of Intramuscular Administration of Dexamethasone by Pharmacokinetic and Biochemical Parameters in Rats. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2016;39(9):1424-1434.
36. Thacoor A, Ramman S, Kang N. Crush Injury to the Hand Following Epileptic Seizure Leading to Compartment Syndrome. World J Plast Surg. 2018;7(3):364-7.
37. 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.

38. Nayak S, Jindal A. Myoglobinuria and Acute Kidney Injury. Journal Of Integrative Nephrology & Andrology (JINA). 2015;2(2):50-54.
39. Toroman A, Çetintepe L, Aydoğdu İ, Erdem N, Şahin S.T, Güvence N, v.dğr. Rabdomiyolize Bağlı Akut Böbrek Yetmezliği ve Otoimmun Hemolitik Anemi Birlikteliği. Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2016;3(2):175-177.
40. Güray A, Samancı N, Ovalı F, Dağoğlu T. Nitrik Oksit: Fizyolojisi ve Klinik Önemi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. 1997;17:115-119
41. Çekmen MB, Turgut M, Türköz Y, Aygün D, Gözükara EM. Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'ın Fizyolojik ve Patolojik Özellikleri. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi. 2001;10:226-234.
42. Monsalve-Naharro JA, Domingo-Chiva E, Garcia Castillo S, Cuesta-Montero P, Jimenez-Vizuete JM. Inhaled nitric oxide in adult patients with acute respiratory distress syndrome. Farm Hosp. 2017;41(2):292-312.
43. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH. Nitrik Oksit ve Nörofizyopatolojik Etkileri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi. 2000;20:107-111.
44. Modun D, Giustarini D, Tsikas D. Nitric oxide-related oxidative stress and redox status in health and disease. Oxid Med Cell Longev. 2014;2014:129651.
45. Yılmaz O. Dişi Reprodüktif Sistemde Yeni Bir Nörotransmitter: Nitrik Oksit. Kocatepe Veteriner Dergisi. 2010;3(2):65-70.
46. Erbaş D. Nitrik Oksit: Özellikleri ve Egzersizdeki Rolü. Spor Bilimleri Dergisi. 2002;13(1):33-99.
47. Derici MK, Demirel Yılmaz E. Nitrik Oksitin Kanser Gelişimi ve Metastaz Üzerine Etkileri. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2017;74(2):161-74.
48. İnan S. Diyabetik Retinopati ve Nitrik Oksit. Kocatepe Tıp Dergisi. 2015;16:57-66.
49. Kurtdede E, Pekcan M, Karagül H. Florun Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres ile İlişkileri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi. 2018;13(3):373-9.
50. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 2005;3:30-39.
51. Bardakçı Ö. Bazı Sentetik Antioksidanların 2, 2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi İle Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması (tez). Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.

52. Ayan M. Deneysel Sepsis Modelinde Glutatyon, Myeloperoksidaz, Plazma ve Doku MDA Düzeylerine N-Asetilsistein ve Erdostein'in Etkilerinin Karşılaştırılması (tez). Konya: Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı; 2006.
53. Bana ÇA. Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Erdosteinin Etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2014.
54. Kayış T. Diazinon'un Subletal Konsantrasyonlarının Pimpla Turionellae L.'nın Eşey Oranı ve Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri (tez). Adana: Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
55. Balcıoğlu İ, Kocabaşoğlu N. Türkiye'de Karşılaşılan Psikiyatrik Hastalıklar.
56. Ertaş M. Koroner Kalp Hastası Olan Bireylerde Lipid Peroksidasyon Düzeyinin Tespiti (tez). İstanbul: Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2005.
57. Erdal N, Altunkaynak Y, Altunkaynak E, Öztürk M, Mutluay B, Köksal A v.dğr. Migrenli Hastalarda Oksidatif Stresin Göstergesi Olarak Liğid Peroksidasyonunun İncelenmesi. Düşünen Adam. 2005;18(3):129-135.
58. Anthonymuthu TS, Kenny EM, Bayir H. Therapies targeting lipid peroxidation in traumatic brain injury. Brain Res. 2016;1640(Pt A):57-76.
59. Yarsan E. Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar. Yeni Yüzyıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi. 1998;9(1-2):89-95.
60. Konukoğlu D. Serbest Radikaller ve Önemleri. Aile Hekimliği Dergisi. 1997;1(4):197-200.
61. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif Stres ve Hücre İçi Lipit, Protein ve DNA Yapıları Üzerine Etkileri. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2015;6(3):331-336.
62. Türk G. Reaktif Oksijen Türlerinin Spermatozoon Fonksiyonları Üzerindeki Fizyolojik ve Patolojik Etkileri. Türkiye Klinikleri Dergisi. 2015;1(3):26-33.
63. Süleyman H, Gül V, Erhan E. Oksidatif Stres ve Doku Hasarı. Derleme. Erzincan Tıp Dergisi 2018; 1(1): 1-2.
64. Sır G, Arısu E, Yiğittürk G, Çavuloğlu T, Avcı B.Ç, Çelik S v.dğr. Oksitosinin Hücresel Tedavide Kullanılma Potansiyeli. FNG & Bilim Tıp Dergisi. 2015;1(3):163-169.
65. Cherepanov SM, Yokoyama S, Mizuno A, Ichinose W, Lopatina O, Shabalova AA et al. Structure-specific effects of lipidated oxytocin analogs on intracellular calcium levels, parental behavior, and oxytocin concentrations in the plasma and cerebrospinal fluid in mice. PRP Journal. 2017;5(1):1-14.

66. Uzun M, Sulu N. Oksitosin ve Fizyolojik Etkileri. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi. 2002;8(1):91-97.
67. Ybarra N, Vincent P, Smith LC, Troncy E. Oxytocin improves the expression of cardiac specific markers in porcine bone marrow stem cells differentiation. Res Vet Sci. 2015;98:42-50.
68. Kim YS, Ahn Y, Kwon JS, Cho YK, Jeong MH, Cho JG, et al. Priming of mesenchymal stem cells with oxytocin enhances the cardiac repair in ischemia/reperfusion injury. Cells Tissues Organs. 2012;195(5):428-42.
69. Gutkowska J, Jankowski M, Antunes-Rodrigues J. The role of oxytocin in cardiovascular regulation. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2014;47(3):206-14.
70. Durmus A.S, Ünsaldı E. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Kırık İyileşmesi. Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları. 2005.
71. Aslan M, Erkanli Senturk G, Akkaya H, Sahin S, Yilmaz B. The effect of oxytocin and Kisspeptin-10 in ovary and uterus of ischemia-reperfusion injured rats. Taiwan J Obstet Gynecol. 2017;56(4):456-62.
72. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. Analytical Biochemistry. 1979;95:351-358.
73. Devi GS, Prasad HM, Saraswathi I, Raghu D, Rao DN, Reddy PP. Free radicals antioxidant enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. Elsevier. 2000;293:53-62.
74. Ellman GL. Tissue Sulfhydryl Groups. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1959;82:70-77.
75. Cortas NK, Wakld NW. Determination of Inorganic Nitrate in Serum and Urine by a Kinetic Cadmium-Reduction Method. Clinic Chemistry Journal. 1990;36(8):1440-1443.
76. Lowry OH, Rosebrough, NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry. 1951;193(265):87.
77. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. Can J Surg. 2013;56(1):6-14.
78. Erdoga H, Fadillioglu E, Yagmurca M, Uçar M, Irmak M.K. Protein oxidation and lipid peroxidation after renal ischemia-reperfusion injury: protective effects of erdosteine and N-acetylcysteine. Urological Research. 2006;34(1):41-46.

79. Andersen SE, Engstrom T, Bie P. Effects on renal sodium and potassium excretion of vasopressin and oxytocin in conscious dogs. Acta Phsiol Scand. 1992;145:267-274.
80. Bernal A, Mahia J, Puerto A. Oxytocin, water intake, and food sodium availability in male rats. Hormones and Behavior. 2007;52:289-296.
81. Elberry AA, Refaie SM, Kamel MW, Ali. TM, Darwish H, Ashour OM. Oxytocin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. Annals of Saudi Medicine (ASM). 2013;33(1):57-62.
82. Yang FL, Subeq YM, Chiu YH, Lee RP, Lee CJ, Hsu BG. Recombinan human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. Injury 2012;43(3):367-73.
83. 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.
84. Tarhan Aİ. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarında relaksinin etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.
85. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcın O, Batcioğlu K, Kaymak. Effects of exogenous melatonin on myoglobinuric acute renal failure in the Rats. Renal Failure. 2004;26(5):479-486
86. 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 Biophsys Acta. 2009;1792(8):796-803.
87. Dai CS, Tang SS, Deng SJ, Zhang S, Zhou Y, Velkov T, et al. Lycopene Attenuates Colistin-Induced Nephrotoxicity in Miece via Activation of the Nrf2/HO-1 Pathwat. Antimicrobial Agents and chemotherapy. 2015;59(1):579-85.
88. Ayvaz S, Aksu B, Kanter M, Uzun H, Erboga M, Colak A et al. Preventive effects of hyperbaric oxygen therapy on glicerol-induced myoglobinuric acute renal failure in rats. J Mol Histol. 2012;43(2):161-70.
89. 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.
90. Esthaphan 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.

91. Nara A, Yajima D, Nagasawa S, Abe H, Hoshioka Y, Iwase H. Evaluations of lipid peroxidation and inflammation in short-therm glycerol-induced acute kidney injury in rats. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2016;43(11):1080-6.
92. Özdemir M.D. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek hasarında irisinin etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü;2017.
93. 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.
94. Bagley WH, Yang H, Shah KH. Rhabdomyolysis. Intern Emerg Med 2007;2(3):210-8.
95. Atva A, Hegazy R, Shaffie N, Yassin N, Kenawy S. Protectice effects of vasodilatory beta-blockers carvedilol and nebivolol against glycerol model of rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. Maced J Med Sci,15 2016;4(3):329-36.
96. Aydogdu N, Atmaca G, Yalcin O, Batcioglu K, Kaymak K. Effects of cafeic acid phenethyl ester on glycerol-induced acute renal failure in rats.
97. Rodrigo B, Bosco C, Herrera P, Rivera G. Amelioration of myoglobinuric renal damage in rats by chronic exposure to flavonol-rich red wine. Nephrol Dial Transplant 2004;19(9):2237-44.
98. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure . Kidney İnternational 1996;49(2):314-26.
99. Orida NK, Lai CS. Nitric oxide and renal patients. Dial Transplant 2000;29(4):174-86.
100. Baylis C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. Nat Clin Pract Nephrol 2006;2(4):209-20.
101. Palm F, Teerlink T, Hansell P. Nitric oxide and kidney oxygenation. Current Opinion in Nephrology and Hypertension 2009;18(1):68-73.
102. Chander V, Chopra K. Molsidomine, a nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced acute renal failure. Biochimica et Biophysica Acta 2005;1724(1-3):208-14.
103. Eissa H, Elattar S, Rashed L,farouk M, Albert S. A study on the effect of L-Carnitine on myoglobinuric aute kidney injury in male rats. Medical Journal of Cairo University 20015;83(2):7-12.
104. Aydogdu N, Erbas H, Atmaca G, Erten O, Kaymak K. Melatonin reduces nitric oxide via increasing arginase in rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. Renal Failure 2006;28(5):435-40.

105. Gois PHF, Canale D, Volpini RA, Ferreira D, Veras MM, Andrade-Oliveira V et al. Allopurinol attenuates rhabdomyolysis-associated acute kidney injury: Renal and muscular protection. Free Radical Biology and Medicine 2016;101:176-89.
106. Wang P, Yang H, Tian S, Wang L, Wang S, Zhang F, et al. Oxytocin- secreting system: a major part of the neuroendocrine center regu- lating immunologic activity. J Neuroimmunol 2015;289:152–61.

RESİMLEMELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Oksitosin standart çalışmasının regresyon grafiği.....29
Şekil 2. Serum üre düzeylerinin gruplar arası dağılımı 35
Şekil 3. Serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....35
Şekil 4. Serum Na^+ düzeylerinin gruplar arası dağılım.....36
Şekil 5. Serum K^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....37
Şekil 6. Serum AST düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....37
Şekil 7. Serum ALT düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....38
Şekil 8. Serum CK düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....38
Şekil 9. Serum LDH düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....39
Şekil 10. Serum NO düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....40
Şekil 11. Serum oksitosin düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....40
Şekil 12. GSH düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....41
Şekil 13. MDA düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....42
Şekil 14. Böbrek oksitosin düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....42
Şekil 15. Böbrek NO düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....43
Şekil 16. İdrar üre düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....44
Şekil 17. İdrar kreatinin düzeyinin gruplar arası dağılımı.....44
Şekil 18. İdrar Na^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....45
Şekil 19. İdrar K^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....46
Şekil 20. İdrar oksitosin düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....46
Şekil 21. İdrar NO düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....47
Şekil 22. İdrar hacimlerinin gruplar arası dağılımı.....48
Şekil 23. Kreatinin klirensi düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....48
Şekil 24. Fe Na^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....49

Şekil 25. Fe K^+ düzeylerinin gruplar arası dağılımı.....50
Şekil 26. Tübüler hasar derecelerinin gruplar arası dağılımı.....50
Şekil 27. Kast derecelerinin gruplar arası dağılımı.....51
Şekil 28. K grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)] 53
Şekil 29. K+OT grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)] 53
Şekil 30. MABH grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)] 54
Şekil 31. MABH + OT grubunun böbrek kesiti [kortikal kısım (HEx200)] 54

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Akut Böbrek Hasarı Evrelemesi, RIFLE kriterleri.....4
Tablo 2. AKIN Evrelemesi.....4
Tablo 3. KDIGO Evrelemesi.....5
Tablo 4. ABH için risk faktörleri.....6
Tablo 5. Rabdomiyolizin Etiyolojik Sınıflandırılması.....9
Tablo 6. Grupların serumlarına ait parametrelerin istatistiksel sonuçları.....32
Tablo 7. Grupların idrarlarına ait parametrelerin istatistiksel sonuçları.....33
Tablo 8. Grupların böbrek dokularına ait parametrelerinin istatistiksel analizi.....34
Tablo 9. Grupların tübüler hasar derecesini gösteren histopatolojik sonuçlar.....52
Tablo 10. Grupların % kast değerlerini gösteren histopatolojik sonuçlar.....52

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Samsun'un Çarşamba ilçesinde doğdum. İlköğrenimime Korgan ilköğretim okulunda, lise eğitimime Kızılırmak Anadolu Lisesi'nde başladım. Lisans eğitimimi Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hemşirelik Bölümü'nde 2008 yılında tamamladım. 2009 yılında Eyüp Devlet Hastanesi'ne ve aynı yıl içerisinde İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'ne atandım. Görevime burada devam etmekteyim.

2009-2010 Güz yarı yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.

EK 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(Trakya University, Local Ethics Committee of Animal Experiments)

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 2019/01 **Karar Tarihi: 25.01.2019**

KARAR NO: 2019.01.04

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'nun yaptığı, Yüksek Lisans Öğrencisi Hatice ÖZATA'nın Yüksek Lisans tezi olarak planlanan, TÜHADYEK-2018/29 protokol nolu **""Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarında Oksitosinin Etkilerinin Araştırılması''** başlıklı çalışmanın değişiklik önerisi 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.

Prof. Dr. Enis ULUÇAM
Başkan
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐evet ☐ hayır

Vet. Hekim Didem DÖNMEZ
Vet. Hek. Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Yrd. Doç. Dr. Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

-Katılmadı-
Prof. Dr. Y. Atakan SEZER
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐evet ☐ hayır

-Katılmadı-
Doç. Dr. Hakan GÜRKAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Doç. Dr. Elvan BAKAR
Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır

Ecz. A. Uygar GÜLER
Sivil Toplum Kuruluşu Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐evet ☐ hayır

Ayhan YILMAZ
Sivil Üye
Araştırma ile İlişki: ☐ var ☐yok
Toplantı Katılım: ☐ evet ☐ hayır