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

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA KANNABİNOİD RESEPTÖR AGONİST VE ANTAGONİSTLERİNİN ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Ümmühan ERGE

Referans no: 10310427

EDİRNE – 2021

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

Tez Yöneticisi
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA

DENEYSEL MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARINDA KANNABİNOİD RESEPTÖR AGONİST VE ANTAGONİSTLERİNİN ETKİLERİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Ümmühan ERGE

Destekleyen Kurum: Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP 2019/262)

Tez No:

EDİRNE – 2021

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimde ve tez çalışmamda bana sabırla ve özveriyle emek veren, bilimsel desteğini ve yol göstericiliğini asla esirgemeyen danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA'ya, eğitimim boyunca desteklerini ve ilgilerini esirgemeyen Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK'e, Prof. Dr. Selma Arzu VARDAR'a ve Prof. Dr. Nurettin AYDOĞDU'ya çalışmalarımda yardımlarıyla yanımda olan Doç. Dr. Özgür GÜNDÜZ'e ve Doç. Dr. Melike SAPMAZ METİN'e, çalışmamızı destekleyen Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP)'ne ve tüm Fizyoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **AKUT BÖBREK HASARI** 3
- **RABDOMİYOLİZ** 8
- **MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARI** 10
- **SERBEST RADİKALLER** 12
- **ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ** 13
- **KANNABİNOİDLER** 15

GEREÇ VE YÖNTEMLER 20

BULGULAR 25

TARTIŞMA 42

SONUÇLAR 46

ÖZET 47

SUMMARY 49

KAYNAKLAR 51

ŞEKİLLER LİSTESİ 58

ÖZGEÇMİŞ 60

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ABH : Akut Böbrek Hasarı

ATN : Akut Tübüler Nekroz

ATP : Adenozin Trifosfat

CB1 : Kannabinoid Reseptör Tip 1

CB2 : Kannabinoid Reseptör Tip 2

CS : Crush Sendromu

GFH : Glomerüler Filtrasyon Hızı

GSH : Glutatyon

MABH : Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı

MDA : Malondialdehit

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

RNS : Reaktif Azot Türleri

2-AG : 2-Araşidonil gliserol

GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek hasarı (ABH), kombine iskemik tübüler hasar (prerenal yaralanma) ve direkt miyoglobin toksisitesi (böbrek hasarı) sonucu ortaya çıkan, glomerüler filtrasyon hızında (GFH) ani bir azalma ile karakterize, kan üre azotu ve kreatinin gibi nitrojenli atıkların kanda birikimi ile sonuçlanan bir sendromdur (1,2). Rabdomiyoliz, böbrek iskemisi, dolaşım bozuklukları, karaciğer fonksiyon bozuklukları, sepsis ve toksik ajanlara maruz kalma ABH'ye neden olabilir (3). Şu ana kadar ABH'yi önlemek veya tedavi etmek için etkili bir farmakolojik tedavi bulunmamaktadır (4).

Rabdomiyoliz, travma veya travma dışı nedenlerle iskelet kası hücrelerinin parçalanması ile potasyum ve miyoglobin gibi toksik sarkoplazmik içeriğin, diğer hücre içi proteinler ve elektrolitlerle birlikte dolaşıma salınmasıyla karakterizedir. Şiddetli rabdomiyolizin akut klinik tablosunda hiperkalemi, hiperfosfatemi ve hipokalsemi gibi elektrolit bozuklukları, yaşamı tehdit eden aritmiler ve hemodinamik dengesizlik hakimdir (2,5).

Akut böbrek hasarı, rabdomiyolizin en sık görülen sistemik komplikasyonudur (6). Rabdomiyolizli hastaların %10-40'ında ABH gelişir. Rabdomiyoliz, tüm akut böbrek hasarı olgularının %7-10'una neden olur. ABH olmayan rabdomiyolizli hastalarda ölüm oranının %20'lerde olduğu ancak bu hastalarda ABH geliştiğinde ölüm oranının %59'a kadar yükseldiği bildirilmiştir (7).

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı (MABH) iskelet kaslarının travma veya travma dışı nedenlerle hasarlanması sonucu kas hücrelerindeki miyoglobinin önemli düzeylerde dolaşıma geçmesiyle oluşan üremik bir sendromdur. Deneysel MABH oluşturmak için, dehidrate

hipertonik gliserolün intramüsküler enjeksiyonu yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Bu model insanlarda gelişen MABH'ye özdeş olarak kabul edilmektedir. Hipertonik gliserolün intramüsküler enjeksiyonu ile ciddi kas hasarı oluşur. Kas hasarı sonucu açığa çıkan miyoglobin ve hemoglobinin içeriğindeki demir, böbreklerde serbest radikal oluşumuna, lipid peroksidasyonuna, böbrek fonksiyonlarında azalmaya, oksidatif stres parametrelerinde artmaya, nitrik oksit düzeylerinde azalmaya ve histopatolojik olarak böbrek hasarının artmasına neden olarak MABH patogenezinde önemli rol oynar (8-11).

Endokannabinoid sistemin böbrek fizyolojisi ve patofizyolojisindeki önemli rolü büyük ilgi çekmektedir. Endokannabinoid sistemin MABH'deki rolü, ABH'deki tedavi stratejisine yeni bir yaklaşım sağlayabilir. Kannabinoid tip 1 reseptör (CB1) ve kannabinoid tip 2 reseptör (CB2) aktivasyonu, çeşitli biyolojik fonksiyonlar gösterebilir ve bunların dağılımı böbrekte farklı hücre tipleri için farklılık gösterir. CB1 reseptörleri, nefron ve vaskülatürün tüm bölümlerinde, CB2 reseptörleri ise öncelikle renal kortekste, özellikle glomerulustaki mezangial hücrelerde, podositlerde ve proksimal tübüler epitel hücrelerinde tespit edilmiştir (12-14). CB2 reseptörü, CB1 reseptörü aktivasyonu ile bağlantılı psikotropik etkilerinin olmamasından dolayı çekici bir farmasötik hedeftir (15). Daha önceki çalışmalar kannabinoidlerin böbrek fonksiyonu üzerinde hem yararlı hem de zararlı etkileri olabileceğini göstermiştir. Seçici farmakolojik ajanlar kullanılarak CB1 reseptörünün antagonizması veya CB2 reseptörlerinin aktivasyonunun, kronik böbrek hastalığının deneysel ve genetik modellerinde böbrek yapısı ve fonksiyonunu iyileştirdiği bildirilmiştir (4,16). Kronik böbrek hastalığı kemirgen modellerinde CB2 reseptörünün seçici aktivasyonunun, diyabetle ilişkili nefropatik etkilerde veya diyet kaynaklı obezitede böbrek mimarisini ve nefron işlevini koruduğu gösterilmiştir (17). Tersine, CB2 reseptörü antagonistlerinin böbrek fonksiyonlarını bozduğu ve böbrek hasarını şiddetlendirdiği gösterilmiştir (18). Bu çalışmalar kronik böbrek hastalığı formlarını tedavi etmede potansiyel klinik yararı göstermektedir ancak ABH'den sonra CB1 ve CB2 reseptör sisteminin faydasını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Literatür araştırmalarımıza göre kannabinoid reseptör agonist ve antagonistlerinin deneysel MABH'nin fizyopatolojisindeki rolü ile tedavi edici etkilerinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmadı.

Çalışmamızda kannabinoid reseptörü agonist ve antagonistlerinin MABH'de biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerine etkilerini ve bu etkilerin oksidatif stres belirteçleriyle ilişkisini incelemeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

AKUT BÖBREK HASARI

Yakın zamanda geleneksel tanımlama olan akut böbrek yetmezliğinin yerini alan ABH, dünya çapında milyonlarca hastayı etkileyen büyük bir halk sağlığı sorunudur (3,19). ABH, GFH'de ani bir azalma sonucu serum kan üre azotu ve kreatinin seviyelerinde yükselme, idrar miktarında azalma ile birlikte hücre dışı sıvı elektrolit dengesi, asit baz ve iki değerlikli katyon regülasyonunda anormallikler ile karakterizedir (1,20).

Akut böbrek hasarı sonrası hayatta kalan çoğu hastada böbrek fonksiyonları geri döner. Ancak mortalitenin yaklaşık %50'nin üzerinde olması, önlenebilmesi veya tedavi edilebilmesi için etkili bir yöntemin henüz bulunmaması endişe vericidir (3). ABH, kronik böbrek hastalığı veya son dönem böbrek hastalığının gelişmesine yol açabilir, diğer hastalıkların gidişatını etkileyebilir (21). Bu nedenle hastanede kalış süresinin uzamasına ve yüksek tıbbi maliyetlere neden olabilir (22).

Akut böbrek hasarına bağlı mortalite ve diğer olumsuz sonuçlar, hastalığın şiddeti ile orantılı olarak artmaktadır. Bu nedenle, ABH'nin standart bir tanımının olması, tanısını koymak, şiddetini sınıflandırmak ve hastaları daha iyi tedavi edebilmek için önemlidir. ABH'nin şiddetinin teşhisi ve değerlendirilmesi için üç sınıflandırma kullanılmaktadır: 2004 yılında Akut Diyaliz Kalite Grubu (ADQI) tarafından RIFLE (Risk, Yaralanma, Arıza, Kayıp, Son dönem böbrek hastalığı) kriterleri yayınlanmıştır (Tablo 1). RIFLE kriterleri 2007 yılında AKIN (Akut Böbrek Hasarı Ağı) tarafından geliştirilmiştir (Tablo 2). Son olarak 2012 yılında RIFLE ve AKIN kriterlerinin çeşitli yönleri, KDIGO sınıflandırması ile tek bir tanımda birleştirilmiştir (Tablo 3). Bu üç sınıflandırmada kullanılan kriterler serum kreatinin seviyeleri

ve idrar çıkışındaki değişikliklere dayanmaktadır. ABH için günümüzde en yaygın olarak kullanılan sınıflandırma KDIGO'dur (23,24).

Tablo 1. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: RIFLE Kriterleri (25)

RIFLE	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Çıkış Miktarı
Risk	Serum Kreatinin düzeyinde 1.5 kat artış veya GFH'de > %25 azalma	6 saat süreyle idrar çıkışı <0.5ml/kg/saat
Yaralama	Serum Kreatinin düzeyinde 2 kat artış veya GFH'de > %50 azalma	12 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
Hasar	Serum Kreatinin düzeyinde 3 kat artış veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 4 mg/dl (en az 0.5 mg/dl akut artış) veya GFH'de > %75 azalma	24 saat süreyle idrar çıkışı < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat saat süreyle anüri
Kayıp	Tam böbrek fonksiyon kaybı >4 hafta	
Son Dönem Böbrek Hastalığı	Tam böbrek fonksiyon kaybı >3 ay	

Tablo 2. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: AKIN (Acute Kidney Injury Network) Kriterleri (25)

AKIN	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Çıkış Miktarı
AKIN1	Serum Kreatinin düzeyinde 1,5-2 kat artış veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥ 0.3 mg/dl	6 saat süreyle idrar çıkışı <0.5ml/kg/saat
AKIN2	Serum Kreatinin düzeyinde 2-3 kat artış	12 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
AKIN3	Serum Kreatinin düzeyinde 3 kat artış veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥4 mg/dl (akut artış ≥0.5 ml/dl) veya Renal replasman tedavisi başlanması	24 saat süreyle idrar çıkışı < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat saat süreyle anüri

Tablo 3. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) Kriterleri (24)

KDIGO	Serum Kreatinin Düzeyi	İdrar Çıkış Miktarı
KDIGO1	Serum Kreatinin düzeyinde 1.5- 1.9 kat artışı veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥0,3 mg/dl artışı	6 -12 saat süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
KDIGO2	Serum Kreatinin düzeyinde 2.0- 2.9 kat artışı	12 saat veya daha uzun süreyle idrar çıkışı < 0.5 ml/kg/saat
KDIGO3	Serum Kreatinin düzeyinde 3 kat artışı veya Serum Kreatinin düzeyinin ≥4 mg/dl olması veya Renal replasman tedavisi başlanması veya 18 yaşından küçük hastalarda GFH'de <35 ml/min/1.73m² azalma	24 saat veya daha uzun süreyle idrar çıkışı < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat veya daha uzun süreyle anüri

Bu üç sınıflandırmanın önemli kısıtlamaları:

Serum kreatinin konsantrasyonuna göre ABH'nin ciddiyetinin tanımı ve değerlendirilmesi (kas kütlesi kaybı, serum kreatinin konsantrasyonunun analitik ölçümünü etkileyen madde konsantrasyonunun artması, böbrek fonksiyon bozukluğu ve karaciğer fonksiyon bozukluğu)

Bazal serum kreatinin konsantrasyonunun tanımlanması (ABH'den hemen önce serum kreatinin konsantrasyonu)

Renal replasman tedavisi ile tedavinin başlatılmasına karar vermedir (26).

Risk Faktörleri

İleri yaş, sepsis, hipovolemi/şok, kalp cerrahisi, kontrast ajanların infüzyonu, diabetes mellitus, önceden var olan kronik böbrek hastalığı, kalp yetmezliği, karaciğer yetmezliği vb. risk faktörlerinin tanınması önemlidir (27). Özellikle akut hastalığa sahip ve büyük cerrahi operasyon geçirmiş hastanede yatan hastalar arasında ABH'nin insidansı giderek artmaktadır. Bu artış günümüzde ABH'nin daha iyi tanınmasına, veri kayıtlarının daha düzenli olmasına, tanı ve sınıflandırma şemalarının daha hassas olmasına bağlanabilir (28).

Epidemiyoloji

Gelişmiş ülkelerde ABH yaygınlığı hızla artarken gelişmekte olan ülkelerde hastalığın yetersiz raporlanması, gerçek etkisi hakkında doğru bilgilere ulaşmayı engellemektedir (29). Gelişmiş ülkelerde ABH'li yaklaşık 2 milyon hastanın %10-15'inin öldüğü, hayatta kalanların ise %10'unda son dönem böbrek hastalığı, %20'sinde kronik böbrek hastalığı geliştiği rapor edilmiştir (30). ABH, Avrupa'da her yıl 1000 kişinin ikisinde görülmektedir. Ancak hastanede yatan hastalarda hastane enfeksiyonları nedeniyle ABH daha sık görülür (tüm yatan hastaların %10-20'si) (31). Ayrıca yoğun bakım, kalp cerrahisi, onkoloji ve nakil merkezleri gibi spesifik hastane birimleri incelenirse ABH oranları %50 veya daha fazla olabilir (32).

Etiyoloji

Akut böbrek hasarının nedenleri, gelişmekte olan ülkeler ve gelişmiş ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. ABH'ye, gelişmekte olan ülkelerin kentsel bölgelerinde hastane kaynaklı hastalıklar (renal iskemi, sepsis ve nefrotoksik ilaçlar), kırsal alanlarda ise daha yaygın olarak toplum kaynaklı hastalıklar (ishal, dehidratasyon, bulaşıcı hastalıklar, hayvan zehirleri vb.) neden olmaktadır (29).

Akut böbrek hasarının nedenleri prerenal, renal ve postrenal olmak üzere üç kategoriye ayrılmaktadır (27).

Prerenal Akut Böbrek Hasarı

Akut böbrek hasarının yaklaşık %50-70'ini oluşturan prerenal ABH, ABH'nin en sık nedenidir (33). Prerenal ABH, böbrek parankimine zarar vermeden böbrek perfüzyon basıncındaki azalmaya bağlı olarak GFH'de bir azalma ile karakterizedir. Böbrekler kardiyak çıkışın %25'ini alır ve bu nedenle genel dolaşımdaki herhangi bir yetmezlik veya sadece intrarenal dolaşımdaki yetmezlik böbrek perfüzyonu üzerinde şiddetli bir etkiye sebep olabilir (1).

Hipovolemi (kanama, ciddi yanıklar, ishal, kusma), azalmış kardiyak output (kardiyojenik şok, masif pulmoner emboli, akut koroner sendrom) ve sistemik vazodilatasyonun (septik şok, anafilaksi, anestezi uygulaması, hepatorenal sendrom) neden olduğu hipotansiyon prerenal ABH'nin oluşmasına sebep olabilir. Ayrıca renal vazokonstriksiyon (non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlar, iyotlu kontrast maddeler, amfoterisin B, kalsinörin inhibitörleri) ve glomerüler efferent arteriolerin vazodilatasyonu (anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri) gibi nedenler etkili olabilir (34).

Akut böbrek hasarının prerenal nedenleri genellikle orta ve uzun süreli böbrek hasarına yol açar. Bu duruma akut hipovolemiye bağlı şok, ardından gelişen akut tübüler nekroz (ATN) örnek olarak verilebilir. Böbreğin korteks ve medulla kavşağının, özellikle dolaşım bozukluklarına bağlı gelişebilecek hasara duyarlı bir bölge olması, şok durumlarında glomerüllerin büyük ölçüde korunmasına, tübüler hücreler ve fonksiyonlarının ise ciddi biçimde bozulmasına neden olur (31). Bu nedenle geri dönüşümsüz ATN gelişmeden önce prerenal durumlar için hızlı teşhis ve tedavi gereklidir (20). Böbreğin prerenal ABH sebeplerine normal yanıtı, intravasküler hacmi korumak/arttırmak, renal perfüzyonu normalleştirmek için idrarı maksimum düzeyde konsantre etmek ve sodyumu geri emmektir. Genel olarak böbrek perfüzyonunu hızla düzeltmeyi amaçlayan tedaviler, böbrek fonksiyonunu da hızlı bir şekilde iyileştirecektir (1).

Renal Akut Böbrek Hasarı

ABH vakalarının %25'ini oluşturan renal ABH'nin nedeni; tübüler, glomerüler, interstisyum ve intrarenal kan damarlarından oluşan böbreğin dört ana yapısının zarar görmesidir (1,33).

Akut tübüler nekroz, tübüler hasardan kaynaklanan ABH'yi tanımlamak için kullanılan bir terimdir (1). Renal ABH'nin %60'ını oluşturur. Morfolojik olarak, hücrelerde epitelyal hücre düzleşmesi, fırça kenar kaybı, çekirdek kaybı ve apoptoz/nekroz gibi bazı değişiklikler gözlemlenir (35). Tübüler hasar kaynaklı ABH'ye genellikle iskemi, antimikrobiyaller ve nefrotoksik ilaçlar neden olmaktadır. İskemik ATN'ye hipovolemik durumlar, kalp yetmezliğinde düşük kardiyak output, sepsis ile sistemik vazodilatasyon; nefrotoksik ATN'ye ise ilaçlar, multipl miyelom, rabdomiyoliz ve kontrast madde neden olabilir (36).

Glomerüler hasar kaynaklı ABH'ye, kan damarlarının ve glomerüllerin akut inflamasyonu neden olmaktadır. Glomerülonefrit genellikle sistemik bir hastalığın veya pulmoner böbrek sendromlarının (Goodpasture sendromu, Wegener granülomatozu gibi) bir göstergesidir (27).

Akut interstisyel nefrit, hem renal tübülleri hem de interstitiumu etkileyebilir. İnterstisyel enflamatuar infiltratlar ve ödem ile karakterizedir. Glomerüller ve damarlar, etkilenmedikleri için normal görünümdedir. Hastaların sadece %10-30'unda akut interstisyel nefrit ile ilişkili ateş, döküntü ve eozinofili üçlüsü görülür (25).

Vasküler hasardan kaynaklanan ABH, intrarenal damarların yaralanması sonucu böbrek perfüzyonunun azalması ile GFH'nin azalmasına bağlı olarak ortaya çıkar (1). ABH'ye neden olabilen böbrek vasküler bozuklukları arasında vaskülit, malign hipertansiyon,

skleroderma, trombotik trombositopenik purpura/hemolitik üremik sendrom, trombotik mikroanjiyopatiler, yaygın intravasküler pıhtılaşma, mekanik renal arter oklüzyonu ve renal venöz tromboz bulunur (36).

Postrenal Akut Böbrek Hasarı

Tüm akut böbrek hasarının %5'ini oluşturan postrenal ABH, intratübüler basıncı arttırıp GFH'yi azaltan akut idrar yolu tıkanıklığı sonucu oluşur (1,33). Her iki böbreğin veya tek işlevli bir böbreğin idrar yolunun tıkanması böbrek pelvisinden üretraya kadar herhangi bir yerde ortaya çıkabilir (37). Tek taraflı bir tıkanıklık her zaman ABH'ye neden olmaz, özellikle tıkanıklık tümör gibi kademeli ise normal fonksiyonlu bir kontralateral böbrek etkilenen böbreğin işlevini telafi edebilir. Bu nedenle, postrenal ABH'nin en sık etiyolojisi mesane boynu obstriksiyonudur (34). İdrar yolu tıkanıklığı, oligüri ile değişen poliüri gibi aralıklı idrar akışı veya anüri olarak görülebilir. Ancak noktüri veya oligürik olmayan ABH olarak da görülebilir (29).

Postrenal ABH'nin nedenleri arasında erkeklerde iyi huylu prostat hiperplazisi, kanserler (özellikle erkeklerde prostat kanseri, kadınlarda servikal kanser), retroperitoneal fibroz, üreteral taşlar, papiller nekroz, nörojenik mesane, asiklovir veya indinavir gibi çeşitli maddelerin çökelmesinden dolayı intratübüler tıkanıklık yer alır (1).

RABDOMİYOLİZ

Rabdomiyoliz, iskelet kası hücrelerinin parçalanması ile potasyum ve miyoglobin gibi toksik sarkoplazmik içeriğin, diğer hücre içi proteinler ve elektrolitlerle birlikte dolaşıma salınmasıyla karakterize, potansiyel olarak hayatı tehdit eden bir sendromdur (2). Rabdomiyolizin nedenlerini belirlemek genellikle kolaydır. Crush sendromu ve uzun süreli immobilizasyon gibi doğrudan kas hasarları rabdomiyolizin temel nedeni olmakla birlikte ilaçlar, kalıtsal sendromlar, malign hipertermi, nöroleptik malign sendrom, diyabetik ketoasidoz, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar gibi kas hasarını tetikleyen etkenler de rabdomiyolize neden olabilmektedir (6).

Rabdomiyolizin patagonezinde yer alan hücre yıkım mekanizmaları hücre membran hasarı, kas hücre hipoksisi, enerji (adenozin trifosfat) yetersizliği ve elektrolit bozukluklarıdır. Bunlar Na^{+}/K^{+}/ATPaz pompa bozukluklarına ve serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasına yol açar. Rabdomiyolizin patogenezinde bulunan direkt hücre membran hasarı ve ATP'nin tükenmesi, hücre içinde kalsiyum birikmesine neden olur. ATP yetersizliği durumunda Na^{+}/K^{+}/ATPaz ve Ca^{+2}/ATPaz pompaları çalışamaz, kalsiyum hücre içi

depolarına geri dönemez. Sitozolde bulunan yüksek konsantrasyondaki kalsiyum, kas kontraksiyonlarına, aşırı enerji tüketimine ve hücre hasarına neden olur. Sitozoldeki kalsiyum artışı proteaz, fosfolipaz gibi proteolitik enzimleri de uyararak miyofibrilleri lizise uğratır ve rabdomiyolize neden olur. Ayrıca bu enzimler, hücre içi kalsiyum artışına ve mitokondri fonksiyon bozukluğuna bağlı enerji üretim eksikliği nedeniyle kalsiyumun dışarı atılmasında bozukluğa yol açarak hücre membran bütünlüğünü bozar. Kalsiyumun hasara uğrattığı mitokondrilerde reaktif oksijen türleri (ROS) ortaya çıkar. ROS, hücresel düzeyde yıkıma ve lipit peroksidasyonuna neden olur, hiyaluronik asit ve deoksiribonükleik asit (DNA) gibi hücresel elemanlara zarar verir ve makrofajları hasara uğratabilir (38).

ABH, rabdomiyolizin en ciddi komplikasyonudur. Rabdomiyolizde ABH'nin gerçek insidansını belirlemek, tanımlar ve klinik senaryolardaki çeşitlilik nedeniyle zordur. Rabdomiyoliz hastalarının %10-40'ında ABH geliştiği tahmin edilmektedir. Böbrek hasarı bulunmayan hastalarda mortalite oranı yaklaşık %20 iken ABH varlığında % 59'dur (39,40).

Rabdomiyolize bağlı ABH'nin klinik sendromunu anlamak ve patogenezinin araştırılması için kas içine gliserol enjekte edilerek iskelet kasının parçalanmasına sebep olan hayvan modeli yaygın olarak kullanılmaktadır (41). 100 gramdan fazla iskelet kası yaralanması, miyoglobinin plazma proteinlerine bağlanma kapasitesini aşar. Bu durum miyoglobinin glomerüllerden filtre edilmesiyle böbrek distal tübüllerinde serbest miyoglobinin çökelmesine ve proksimal renal tübüllerin hücreleri tarafından miyoglobinin daha yüksek reabsorbsiyonuna yol açar (39).

Rabdomiyolizin klinik görünümü, asemptomatik kreatinin kinaz yükselmesinden hipovolemi, asidoz, ABH ve yaygın intravasküler pıhtılaşma dahil olmak üzere çoklu organ fonksiyonlarının düzensizliğine kadar değişebilir. Serum kreatin kinaz seviyeleri rabdomiyoliz şiddeti ile ilişkilidir ancak ABH riskini tahmin etmek için ideal bir belirteç olmayabilir (40). Tipik olarak rabdomiyoliz, kas ağrısı, halsizlik ve idrarın kırmızımsı kahverengi renk değişikliği ile kendini gösterir (42). Şiddetli rabdomiyolizin akut klinik tablosunda elektrolit bozuklukları (hiperkalemi, hiperfosfatemi ve hipokalsemi), hayatı tehdit eden aritmiler ve hemodinamik instabilite bulunmaktadır (2).

Crush Sendromu

Travmatik rabdomiyoliz veya ezilme sendromu olarak da adlandırılan crush sendromu (CS); doğrudan travma, yaralanma veya kompresyon sonrası oluşan ani ve hızlı kas hasarının neden olduğu sistemik bir bozukluktur (43,44). ABH'ye yol açan CS, önlenebilen veya

tersine çevrilebilen ezilme yaralanmalarının hayatı tehdit eden birkaç komplikasyonundan biridir (45).

Crush sendromu ilk kez Bywaters ve Beall tarafından 1941'de Londra'nın bombalanması sırasında tanımlanmıştır. Enkazdan çıkarılan hastalar, başlangıçta zarar görmemiş gibi görünseler de daha sonra hastalarda ilerleyici uzuv şişmesi ve şok gelişmiş, birkaç gün sonra böbrek yetmezliğinden ölmüşlerdir. Ölüm sonrası muayenede renal tübüllerde kas nekrozu ve kahverengi pigment atıkları saptanmıştır (45).

Crush sendromu sıklıkla kazalarda, sporda ve en önemlisi deprem gibi doğal afetlerde görülür (46). Deprem sonrası oluşan CS insidansı yaklaşık %10 iken mortalite oranı %40'dır (47). Türkiye'de en fazla 1999 Marmara depremi ve 2011 Van depreminde görülmüştür (44). CS, travmatik etiyolojilerle sınırlı değildir. Uzun süreli sıkışma ve uzun süreli hareketsizliğe neden olan herhangi bir durum (inme veya zehirlenme sonrasında insanların kendi vücut ağırlıkları tarafından ezilmeleri) ezilme yaralanmasına neden olabilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ise eroin yaygın bir etiyolojidir ve alkolün birçok sanayileşmiş ülkede CS, kompartman sendromu ve rabdomiyolizin en yaygın etiyolojisi olduğu bildirilmiştir (45).

Ezilme yaralanması geçiren kişilerde, bir kas grubu üzerinde uzun süreli bir basınç iskemik kas nekrozunun oluşumuna neden olur. Kişinin kurtarılması ile gerçekleşen revaskülarizasyon sırasında hasarlı kas hücrelerinden potasyum, fosfat, laktik asit, miyoglobin ve kreatin kinazın kaybı; kalsiyum, sodyum ve suyun ise hasarlı kas hücrelerine difüzyonu görülür. Sonuç olarak kas şişer ve rabdomiyoliz meydana gelir. Potasyum kalp ritmini bozar. Kalsiyum daha sonra emildiğinde hipokalsemi oluşabilir. Miyoglobin, glomerulusta süzülür ve böbrek distal kıvrımlı tübüllerinde çökelir. Reabsorpsiyon bozukluğuna neden olur ve intrarenal basıncı arttırarak akut böbrek nekrozuna neden olur. Bu değişiklikler asidoz, ABH, çoklu organ disfonksiyonları ve hipovolemik şoka yol açabilir. Bu hastalarda hiperkalemi en önemli ve ölümcül elektrolit dengesizliğidir. Şiddetli hiperkalemi; disritmiye, kalp durmasına ve ani ölüme yol açabilir (48,49).

MİYOGLOBİNÜRİK AKUT BÖBREK HASARI

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı iskelet kaslarının travma veya travma dışı nedenlerle hasarlanması sonucu oluşan üremik bir sendromdur (5). MABH'de mortalite oranının (vakaların % 15-40'ı) yüksek olması nedeniyle hastalığı hızlı bir şekilde tanımak ve tedavi etmek önemlidir (50).

Miyoglobinürik akut böbrek hasarı patofizyolojisinde yer alan temel mekanizmalar:

1- Renal vazokonstriksiyon ve iskemi

2- Distal kıvrımlı tübüllerde miyoglobin kast formasyonu

3- Miyoglobinin proksimal kıvrımlı tübüllerin epitel hücreleri üzerinde doğrudan sitotoksik etkisi

Renal vazokonstriksiyon ve iskemi: Kas dokusunun nekrozu, büyük miktarda sıvının biriktiği ve hipovolemiye neden olan bir "üçüncü boşluk" yaratır. Hipovolemi; sempatik sinir sistemini ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini aktive eder, endotelin I, vazopressin gibi vazokonstriktör moleküllerin üretimini arttırır, vazodilatör prostaglandinlerin üretimini engeller. Kas hasarı, vazokonstriksiyonu da destekleyen endotoksinlerin ve sitokinlerin sistemik dolaşıma salınmasına neden olur. Ölü kas hücreleri tarafından salınan miyoglobin, en güçlü endojen vazodilatör faktör olan nitrik oksidi parçalar. Böbrek tübüler hücrelerine oksijen iletiminin azalması, böbrek vazokonstriksiyonuna, böbrek iskemisine ve daha sonra ATP üretiminin azalmasına yol açar (51).

Miyoglobin kast formasyonu: Distal kıvrımlı tübüllerin içindeki miyoglobin kastlarının varlığı, MABH'de yaygın bir bulgudur. ATP'nin tükenmesi epitel hücre nekrozuna, tübüler lümende ölü hücrelerin birikmesine ve ardından miyoglobinin çökelmesine ve miyoglobin kastlarının oluşmasına neden olur. Bu kast oluşumu, filtrelenmiş miyoglobin konsantrasyonuna bağlıdır. Kas hasarının boyutu ne kadar büyükse serumdaki miyoglobin konsantrasyonu o kadar yüksek olur. Sonuçta böbrek glomerüllerinde filtrelenen miyoglobin miktarı da o kadar yükselir. Asidik bir pH'a ulaşmış artan miyoglobin filtrasyonu, distal kıvrımlı tübüllerin içinde miyoglobin birikimini arttırarak miyoglobin kast formasyonunu oluşturur (51).

Miyoglobinin direkt sitotoksik etkisi: Kast oluşumunun yanı sıra miyoglobin, proksimal kıvrımlı tübüllerin tübüler hücrelerinde lokal oksidatif stresi artırarak direkt bir sitotoksik etki gösterir. Glomerulusta filtrelenen miyoglobin konsantrasyonu normal seviyeyi aştığında, proksimal kıvrımlı tübüllerin tübüler hücreleri, miyoglobinin idrara atılmasını sınırlamak ve böbreği nefrotoksik etkisinden korumak için reabsorbsiyon kapasitelerini arttırır. Endositoz yoluyla miyoglobinin artmış reabsorbsiyonu ve sonrasında oluşan proteinlerin hem ve demire yıkılımı, 5.6'dan daha düşük bir idrar pH'ını meydana getirir ve tübüler hücrelerin aşırı serbest demir yüklenmesine yol açar. Serbest demir, kendi başına serbest oksijen radikallerinin üretimini kolaylaştıran veya kendi başına serbest radikal görevi gören bir oksidatif metaldir. Tübüler hücrelerin sitoplazmasında meydana gelen oksidatif stres; lipidlerin, proteinlerin ve deoksiribonükleik asitin peroksidasyonuna neden olarak

ATN'ye yol açar. Hem'in kendisi de hücresel oksidatif stresi artırabilir. ATP azalması, miyoglobinin proksimal kıvrımlı tübüllerin epitel hücreleri üzerindeki toksik etkisini daha da kolaylaştırır ve hücrelerde morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olur. Bu durum membran geçirgenliğini değiştirerek hem'in hücre içine girmesine izin verir. Miyoglobin kastlarının neden olduğu distal tübül tıkanıklığı, nefrotoksik miyoglobinin intratübüler konsantrasyonunu ve proksimal kıvrımlı tübüllerin tübüler hücreleri tarafından reapsorbsiyonunu arttırır ve ATN'yi şiddetlendirir (51).

SERBEST RADİKALLER

En dıştaki atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren serbest moleküllerdir (52). Kısmi yanmaya maruz kalmış, hücresel zarların yüzeyinde ve hatta hücrelerin içinde agresif oksidasyon reaksiyonlarını başlatabilen oksijen gruplarına sahip olan eksik oksitlenmiş bileşiklerden türetilirler (53). Serbest bir radikalin eşleşmemiş elektronu; kararsız, kısa ömürlü ve yüksek derecede reaktif olmasına neden olur (54). Diğer moleküllere bir elektron verebilir veya bir elektron alabilir. Bu nedenle oksidan veya indirgeyici olarak davranırlar (55). Biyolojik sistemlerde süperoksit ve nitrik oksit en sık ortaya çıkan radikallerdir (56).

Serbest radikallerin başlangıçta reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan oksijen merkezli radikaller olduğu düşünülmüştür. Ancak günümüzde reaktif azot türlerinin (RNS) bir alt grubunu da içerdiği bilinmektedir. ROS ve RNS normal hücresel metabolizmanın bir ürünüdür (57). Hem ROS hem de RNS iki bileşik grubuna ayrılabilir: radikaller ve radikal olmayanlar. Radikal olmayan türler serbest radikal değildir ancak canlı organizmalarda serbest radikal reaksiyonlarının kolayca gelişmesine yol açabilirler (54). Radikaller ise radikal olmayan türlerden daha az kararlıdır ancak reaktiviteleri genellikle daha güçlüdür (58).

Reaktif oksijen türleri ve RNS oluşumundan endojen kaynaklar (mitokondri, peroksizomlar, endoplazmik retikulum, fagositik hücreler vb.), ekzojen kaynaklar (kirlilik, alkol, tütün dumanı, ağır metaller, geçiş metalleri, endüstriyel çözücüler, pestisitler, halotan, parasetamol ve radyasyon) ve fizyolojik faktörler (stres, duygu vb. ruhsal durum ve hastalık koşulları) sorumludur (54,59). Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidaz, miyeloperoksidaz (MPO) ve nitrik oksit sentaz (NOS) gibi hücresel enzimler tarafından üretilirler (60).

İnsan vücudunda serbest radikallerin hem faydalı hem de zararlı etkileri vardır (53). ROS/RNS'nin biyolojik hasara yol açan zararlı etkisi oksidatif stres ve nitrozatif stres olarak

adlandırılır. Oksidatif/nitrozatif stres, artan ROS ve RNS seviyeleri ile karakterize edilir. RNS ve ROS; DNA, protein, karbonhidrat ve lipit gibi moleküllere biyolojik olarak zarar veren hücrelerin zarlarında ve çekirdekte yüksek derecede reaktiftir. Başlıca hedefleri arasına lipitler, nükleik asitler ve proteinler olmak üzere vücuttaki her türlü molekülü içerir. Membran lipitlerinin peroksidasyonunu, mitokondriyal solunum zinciri enzimlerinin doğrudan inhibisyonunu, DNA, enzim ve protein gibi moleküllerin parçalanması veya rastgele çapraz bağlanması gibi çok çeşitli toksik oksidatif reaksiyonları başlatabilir ve kanser, amfizem, siroz, ateroskleroz, hipertansiyon, astım, diabetes mellitus, Alzheimer, Parkinson, romatoid artrit gibi birçok farklı dejeneratif hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilir. ROS ve RNS'nin düşük veya orta seviyelerdeki konsantrasyonları yararlı etkiler gösterir. Vücutta üretilen serbest radikaller; organizmanın mikrobiyal saldırılara karşı savunulması (fagositoz işlemi sırasında bakterisidal etki ile), hücre büyümesi ve proliferasyonun uyarılması, hücre apoptozu, vasküler tonus, insülin sentezi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynar. Canlı organizmadaki serbest radikallerin faydalı ve zararlı etkilerinin yeterli dengesi, "redoks regülasyonu" adı verilen bir mekanizma ile sağlanır, böylece redoks homeostazı sağlanır (55,57,58,60-63).

Malondialdehit

Lipid peroksidasyonun en önemli son ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA); hücre membranlarının geçirgenliğini arttıran enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olan üç karbonlu bir dialdehittir. Membranların iyon alışverişine etki ederek lipidlerin çapraz bağlanmasına neden olur ve böylece hücre içi iyon dengesini bozar. MDA seviyesindeki artış serbest radikal üretimini arttır ve antioksidan aktiviteyi azaltır. Antioksidanlar ile serbest radikaller arasındaki dengenin bozulmasına neden olur. Serbest halde ya da doku içerikleriyle kompleks oluşturmuş formda bulunan MDA; mutajenik, hücre kültürlerinde genotoksik ve karsinojenik etkilere sahiptir (64-66).

ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ

Antioksidanlar, oksitlenebilir substratlara kıyasla düşük konsantrasyonlarda maddenin oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya inhibe eden maddelerdir (67). Oksidasyon, elektronu bir maddeden oksitleyici bir maddeye aktaran ve serbest radikaller üretilmesine neden olabilen kimyasal bir reaksiyondur. Antioksidanlar, hücrelere saldırmadan önce serbest radikallerin deaktive edilmesinde önemli bir rol oynarlar (61). Antioksidan savunma

sistemleri toplayıcı, baskılayıcı, zincir kırıcı ve onarıcı olmak üzere 4 etki mekanizmasından oluşmaktadır: Antioksidanların serbest oksijen radikallerini tutarak onları yeni ve daha zayıf moleküllere dönüştürmesi (küçük moleküller, trakeobronşial mukus ve antioksidan enzimler) toplayıcı eki, antioksidanların reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girdiğinde radikallere hidrojen aktararak etkilerini azaltması veya etkisiz hale getirilmesi (vitaminler, antosiyanoidler, flavanoidler ve trimetazin) baskılayıcı etki, antioksidanların serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak radikallerin fonksiyonlarını engellenmesi (mineraller, seruloplazmin ve hemoglobin) zincir kırıcı etki ve antioksidanların serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarı onarması onarıcı etki olarak adlandırılmaktadır (68).

Hücrelerdeki endojen bileşikler enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir (58). GPx (glutatyon peroksidaz), PRX (peroksiredoksin), CAT (katalaz) ve SOD (süperoksit dismutaz) gibi antioksidan enzimler, oksidatif toksik ara maddeleri metabolize eder. Maksimum katalitik aktivite için selenyum, demir, bakır, çinko ve manganez gibi mikrobesin kofaktörleri gereklidir (61). Böylece antioksidanlar ve enzimler, ROS üretimi ve eliminasyonu arasındaki dengeyi korurlar.

Enzimatik olmayan antioksidanlar ise metabolik antioksidanlara ve besin antioksidanlarına ayrılır. Endojen antioksidanlara ait metabolik antioksidanlar, vücutta metabolizma tarafından üretilir. Ekzojen antioksidanlara ait besin antioksidanları, vücutta üretilemez ve E vitamini, C vitamini, karotenoidler, eser metaller (selenyum, manganez, çinko), flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asidi gibi gıda veya takviye yoluyla alınması gereken bileşiklerdir (58).

Glutatyon

Glutatyon (GSH), neredeyse bütün ökaryotik hücrelerde sentezlenir ve sitoplazmada (yaklaşık olarak %85-90'ı), mitokondride, çekirdekte, peroksizomda ve endoplazmik retikulumda bulunur. GSH, endojen enzimatik olmayan bir antioksidan ve suda çözünür bir tripeptiddir. Serbest radikalleri etkisizleştirerek hücrelerin redoks durumunu korumasında, radyasyona karşı korunmada, bazı ilaçların inaktive edilmesinde, lenfositleri aktive ederek bağışıklık sisteminin güçlenmesinde, östrojen, prostaglandin ve lökotrienler gibi bazı endojen bileşiklerin metabolik süreçlerinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda, apoptozisde ve plazma membranından aminoasit geçişini sağlayarak bazı antioksidanların yeniden oluşmasında görev alır (69-71).

Glutatyon, iki aşamada sentezlenir. Birinci aşamada glutamin-sistein ligaz (GCL), glutamin ve sisteini bağlayarak ɣ-glutamilsisteini oluşturur. İkinci aşamada ise glutatyon sentetaz (GSS), ɣ-glutamilsisteine glisini bağlayarak GSH molekülünü meydana getirir (70).

KANNABİNOİDLER

Kannabinoidler, Cannabis bitkisinden elde edilen, çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyen ve spesifik davranışların oluşumunu değiştiren lipid habercilerdir (72). Cannabis bitkisi türleri arasında en çok bilinenleri Cannabis sativa, Cannabis indica ve Cannabis ruderalis'tir. Esrar olarak bilinen ve yüzyıllar boyunca eğlence ve/veya tıbbi amaçlar için yaygın olarak kullanılan Cannabis bitkisi için ilk kayıtlar, bitki özlerinin kramp ve ağrılardan kurtulmak için kullanıldığı milattan önce 4000 yılına, eski Çin'e kadar uzanmaktadır. Tetrahidrokannabinol ve kannabidiol, Cannabis sativa'dan üretilen en yaygın bileşiklerdir. Kannabidiol, 1896 yılında izole edilen ilk kannabinoiddir. 1964 yılında ise İsrail'de Raphael Mechoulam tarafından yaklaşık 70 fitokannabinoidin ana psikoaktif bileşeni olan ikinci kannabinoid tetrahidrokannabinol izole edilmiştir. Bu bileşiklerin keşfi, fitokannabinoidlere benzer veya farklı yapılara sahip çeşitli sentetik kannabinoidlerin üretilmesine olanak sağlamıştır. Bu çalışmaların sonucunda kannabinoid reseptörleri, önce CB1 ve daha sonra CB2 izole edilmiş ve başarılı bir şekilde klonlanmıştır. Doğal kannabisin ve kannabinoid reseptörlerinin (CB1, CB2) keşfedilmesinden sonra birçok farklı kannabinoid reseptör agonist ve antagonisti tedavi amaçlı üretilmiştir (73-76).CB1 ve CB2 reseptörleri agonist ve antagonistleri ile ilgili bilgiler Tablo 4'te yer almaktadır.

Tablo 4. Kannabinoid Reseptör Agonist ve Antagonistleri (73)

Kannainoid Reseptör Agonistleri	**Selektif CB1 Reseptör Agonistleri**	O-1812
		2-Araşidonil gliserol eter
		Methananandamid
		Araşidonil-2-kloroetil anandamid (ACEA)
		AM281
	Selektif CB2 Reseptör Agonistleri	JWH015
		JWH133
		JWH139
		AM1241
		HU-308
	Non-selektif CB1/CB2 Reseptör Agonistleri	HU-210
		CP-55,940
		R-(+)-WIN55,212-2
		CP55940
Kannainoid Reseptör Antagonistleri	**Selektif CB1 Reseptör Antagonistleri**	SR141716A
		AM251
		AM281
		LY320135
	Selektif CB2 Reseptör Antagonistleri	SR144528
		AM630

Kannabinoidler üç ana gruba ayrılarak, fitokannabinoidler, sentetik kannabinoidler ve endojen kannabinoidler olarak sınıflandırılmaktadır (75). Fitokannabinoidler ve analogları; tetrahidrokannabinol, kannabivarin (CBV), kannabidiol (CBD), kannabigerol (CBG), kannabişromene (CBC), kannabisiklol (CBL), kannabiyelsoyin (CBE), kannabinol (CBN), kannabinodiyol (CBND), kannabitriyol (CBTL) ve ajulemik asit gibi Cannabis sativa'dan ve ilgili türlerinden doğal olarak elde edilen kimyasal bileşiklerdir. Sentetik kannabinoidler; endokannabinoid sistemini etkileyebilen, endokannabinoid veya fitokannabinoidlerin doğal yollarla elde edilemeyen yapısal analoglarıdır. Klasik sentetik kannabinoidler, klasik olmayan sentetik kannabinoidler, aminoalkindiol, eikozanoidler ve diğerleri olmak üzere beş gruba ayrılır. Klasik kannabinoidler: HU-210, nabilone, (+) HU-221, JWH-133, JWH-139, HU-308,

L-759633, L-759656; klasik olmayan sentetik kannabinoidler: WIN55,212-2, CP55940, CP55244, CP47497; aminoalkindioller: R-(+)-WIN55212, JWH-015, L-768242; eikozanoidler: methanandamid, araşidonil-2-kloroetilamid (ACEA), araşidonilsiklopropilamid (ACPA); diğerleri SR141716A, SR144528 gibi kimyasal bileşiklerden oluşur. Endokannabinoid olarak adlandırılan endojen kannabinoidler ise anandamid (AEA), 2-araşidonil gliserol (2-AG), 2-araşidonil gliserol eter, O-araşidonil ethanolamin, N-araşidonil dopamin gibi endokannabinoid sistemi etkileyen ve canlı organizmalar tarafından doğal olarak üretilen kimyasal bileşiklerden oluşur (73,77).

Eğlence ve kötü amaçlı tüketilen kannabinoidlerin ortak ismi olan marijuhana (esrar), bugün dünyada en çok üretilen yasa dışı maddedir. Tıbbi esrar, hastalığı tedavi etmek veya semptomları hafifletmek amacıyla kullanılır. Günümüzde antiemetik, analjezik, antikonvulsan ve intraoküler basıncı düşürücü etkileri ile kullanılan kannabinoidler; immün sistem, iştah, zevk hissi, duygu durum ve hafıza gibi çeşitli fizyolojik olayların düzenlenmesinde de rol oynar. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından kanser kemoterapisinde bulantı ve kusmayı azaltacak, AIDS hastalarında iştahı arttıracak ve kronik ağrı tedavisine yardımcı olacak kannabinoid analogları onaylanmıştır. Ayrıca mevcut çalışmalar kannabinoidlerin; multipl skleroz, epilepsi, Alzheimer, Parkinson, Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda, postmenopozal osteoporoz, kanser, obezite, diyabet, karaciğer hastalıkları, kardiyometabolik komplikasyonları, alkol-ilaç bağımlılığı gibi hastalıklarda faydalı olabileceğini bildirmiştir (78,79).

Endokannabinoid Sistem

Endokannabinoid sistem, enerji dengesi ve homeostazda önemli rol oynayan bir endojen lipid sinyal sistemidir. Bu sistem endojen yağlı asitleştirilmiş ligandlar (endokannabinoidler), ligandların bağlandığı kannabinoid reseptörler ve endokannabinoidlerin biyosentezi, yıkılması ve geri alımından (re-uptake) sorumlu enzimler ve/veya proteinlerden oluşmaktadır. İlk tanımlanan endokannabinoid N-araşidonil etanolamin (anandamid, AEA)'dir. Ardından 2-AG tanımlanmıştır. Araşidonik asit türevi olan bu bileşikler en fazla bulunan ve en iyi bilinen endokannabinoidlerdir. Bu moleküller, hücre içi kalsiyum artışı veya metabotropik reseptör aktivasyonu gibi uyaranlara cevap olarak membran fosfolipidlerinin metabolizması tarafından üretilir. Üretimden sonra, yerel kannabinoid reseptörlerine otokrin veya parakrin şekilde bağlanırlar. Bu endokannabinoidler, CB1 ve CB2 reseptörlerine bağlanır ve onları aktive ederek birçok hücresel yolu uyarır. Hücreler tarafından alındıktan sonra, hidroliz ve/veya oksidasyon yoluyla yıkılabilirler. AEA, sadece yağ asidi amid hidrolaz

(FAAH) tarafından serbest araşidonik asit ve etanolamine; 2-AG, monoaçilgliserol lipaz (MAGL) tarafından araşidonik asit ve gliserole hidrolize edilir (75,76,80-82).

Kannabinoid Reseptörler ve Etkileri

CB1 ve CB2 kannabinoid reseptörleri, adenilat siklaza negatif ve mitojenle aktive edilen protein kinaza (MAPK) pozitif şekilde bağlanan, G-proteini kenetli reseptör ailesinin en iyi bilinen iki üyesidir. Son yıllarda GPR55, GPR119, TRPV1, PPARs olarak adlandırılan yeni reseptörler tanımlanmıştır. CB1 reseptörüyle ilgili ilk araştırmalar, baskın olarak merkezi ve periferik sinir sisteminde lokalize olduğu, burada transmitter salınımını inhibe ettiği ve gıda alımını düzenlediği bildirilmiştir. Daha yakın tarihli araştırmalar, CB1'in adipositler, karaciğer, iskelet kası, tonsil, gastrointestinal sistem, böbrek üstü bezi, kalp, akciğer, üreme organları ve böbrek gibi dokularda da periferik olarak eksprese edildiğini bildirmiştir. CB2 reseptörünün ise ilk olarak bağışıklık sisteminin hücrelerinde (baskın olarak dalağın marjinal zonunda bulunan makrofajlarda) eksprese edildiği, sonraki çalışmalarda ise iskelet kası ve böbrek de dahil olmak üzere diğer dokularda da eksprese edildiği bildirilmiştir (82-84).

Böbrek dokusunda endokannabinoidler, biyosentez ve bozunmaları için gerekli mekanizmalar ve kannabinoid reseptörler tespit edilmiştir (80). CB1 reseptörleri, nefron ve damarsal sistemin tüm bölümlerini içeren oldukça geniş bir alanda yüksek miktarda eksprese edilir. CB2 reseptörleri ise öncelikle renal kortekste, özellikle glomerulustaki mezangial hücrelerde podositlerde ve proksimal tübüler epitel hücrelerinde tespit edilmiştir. CB2 reseptörü, CB1 reseptörü aktivasyonu ile bağlantılı psikotropik etkilerinin olmamasından dolayı çekici bir farmasötik hedeftir (16).

Kannabinoidlerin böbrek fonksiyonu üzerinde hem yararlı hem de zararlı etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Seçici farmakolojik ajanlar kullanılarak oluşturulan kronik böbrek hastalığı deneysel ve genetik modellerinde, CB1 reseptörünün antagonizması veya CB2 reseptörlerinin aktivasyonunun; diyabetle ilişkili nefropatik etkilerde ve diyet kaynaklı obezitede böbrek yapısı ve fonksiyonunu iyileştirdiği ve koruduğu, CB2 reseptörü antagonistlerinin ise böbrek fonksiyonlarını bozduğu ve böbrek yetmezliğini şiddetlendirdiği gösterilmiştir. Örneğin, kimyasal olarak indüklenmiş diyabetik nefropatinin fare modelinde, seçici bir CB1 reseptör antagonisti olan AM251'in uygulanmasının ardından glomerüler podositler korunmuş ve proteinüri belirgin şekilde azaltılmıştır. İskemi-reperfüzyon hasarı veya nefrotoksik ajan kaynaklı ABH'de, kannabinoid reseptörünün ve ligandlarının rolü ile ilgili çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Yakın zamanlı çalışmalar, CB2 reseptör agonistlerinin bilateral renal iskemi-reperfüzyonu ve sisplatin kaynaklı böbrek hasarı

belirteçlerini azalttığını, CB1 reseptörünün bloke edilmesi veya CB2 reseptörünün aktivasyonunun ise renal oksidatif stres ve inflamasyonu hafifleterek tübüler hasara karşı koruyucu olduğunu göstermiştir. Ek olarak, CB2 reseptör aktivasyonunun, bağışıklık hücrelerinin, özellikle lökositlerin böbreğe infiltrasyonunun azalmasına ve enflamatuar sitokin salınımının azaltılmasına neden olarak antienflamatuar etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu veriler, CB2 reseptör agonistlerinin kronik böbrek hastalığı formlarını tedavi etmek için potansiyel klinik faydasını göstermektedir ancak ABH'den sonra CB2 reseptör sistemini kullanmanın yararını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (16,74,80).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Birimi'nde üretilen ve standart laboratuvar koşullarında (22 ± 1 ºC, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) tutulan 2-2,5 aylık Wistar dişi 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 (2019.10.02).

Çalışmamızda 56 adet dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar gruplarda 8'er adet olmak üzere 7 gruba ayrıldı. Kontrol grubu fizyolojik serum (FS), diğer gruplar intramüsküler hipertonik (%50) gliserol enjeksiyonundan 24 saat önce susuz bırakıldı. Gliserol veya FS enjeksiyonundan sonra su alımı serbest bırakıldı. Kontrol grubuna FS, diğer gruplara MABH oluşturmak için % 50'lik gliserol solüsyonu, 5 ml/kg dozunda, toplam hacim ikiye ayrılarak her iki arka bacak kaslarına enjekte edildi. Tüm gruplara verilecek intramüsküler ve intraperitoneal enjeksiyon hacimleri eşit tutuldu. Çözücü olarak %78 saline, %1 ethanol, %1 tween 80, %20 DMSO'dan hazırlanan sıvı kullanıldı.

Kontrol Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda FS'nin intramüsküler enjeksiyonundan 60 dakika ve 75 dakika sonra 1 ml/kg dozunda çözücü intraperitoneal yolla verildi.

ABH Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 60 dakika ve 75 dakika sonra 1 ml/kg dozunda çözücü intraperitoneal yolla verildi

WIN Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 60 dakika sonra 1 ml/kg dozunda çözücü ve 75 dakika sonra 5 mg/kg dozunda WIN55,212,2 intraperitoneal yolla verildi.

AM 251 Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 60 dakika sonra 1 mg/kg dozunda AM251 ve 75 dakika sonra 1 ml/kg dozunda çözücü intraperitoneal yolla verildi.

SR 144528 Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 60 dakika sonra 1 mg/kg dozunda SR144528 ve 75 dakika sonra 1 ml/kg dozunda çözücü intraperitoneal yolla verildi.

WIN+AM251 Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 60 dakika sonra 1 mg/kg dozunda AM251 ve 75 dakika sonra 5 mg/kg dozunda WIN55,212,2 intraperitoneal yolla verildi.

WIN+SR144528 Grubu sıçanlara 5 ml/kg dozunda intramüsküler gliserol enjeksiyonundan 60 dakika sonra 1 mg/kg dozunda SR 144528 ve 75 dakika sonra 5 mg/kg dozunda WIN55,212,2 intraperitoneal yolla verildi.

Sıçanlar intramüsküler serum fizyolojik veya gliserol enjeksiyonunu takiben metabolik kafese alınarak 24 saatlik idrarları toplandı. Sıçanların 10 mg/kg rompun ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kanları ve her iki böbreği alındı, eksanguinasyon yöntemi ile ötenazi uygulandı. Böbrekler uzunlamasına ikiye bölünerek böbreğin bir yarısı histopatolojik inceleme için %10'luk formalin solüsyonuna konuldu, diğer yarısı ELİSA kitlerine uygun tampon ile soğuk şartlarda homojenize edilip ependorf tüplere konularak analizler yapılıncaya kadar –80°C'de saklandı. Kan örnekleri tüplere alınarak soğutmalı santrifüj ile +4°C'de 1000 g'de 15 dk, idrar örnekleri +4°C'de 1000 g'de 20 dk santrifüj edildikten sonra laboratuvar çalışmaları yapılıncaya kadar –80 °C'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

Distile su cihazı : Millipore, France

Cam malzemeleri : Deney tüpleri, beherler vb.

Elisa plaka okuyucu : Bio Tek Instruments, Inc (USA)

Elisa plaka yıkayıcı : Bio Tek Instruments, Inc (USA)

Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Gliserol : Sigma, Almanya

WIN55,212,2 : Sigma, Almanya

AM 251 : Sigma, Almanya

SR 144528 : Sigma, Almanya

NaOH : Merck, Almanya

NaCl : Sigma, Almanya

DTNB : Sigma, Almanya

EDTA : Merck, Almanya

KCl : Merck, Almanya

Na_2HPO_4 : Merck, Almanya

Na_2CO_3 : Riedel de Haen, Almanya

$CuSO_4$: Panreac, İspanya

Malondialdehit ELİSA kit : Bioassay Technology Laboratory Katalog No: E0156Ra

Biyokimyasal Çalışmalar

Serum numunelerinde üre, kreatinin, sodyum (Na^+) düzeyleri incelendi. Bu parametreler böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanıldı. Ölçümler Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizör (AU5800; Beckman Coulter Inc., CA, USA) kullanılarak ölçüldü.

İdrar numunelerinde kreatinin ve sodyum (Na^+) ölçümleri Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Laboratuvarı'nda bulunan otoanalizör (AU5800; Beckman Coulter Inc., CA, USA) kullanılarak ölçüldü.

Böbrek Homojenizasyonu

Böbrek dokuları kesilerek tartıldı. Bistüri ile kesilen dokular tüplere konuldu. Fosfat tamponu (PBS) ile 1/10 sulandırılan dokular buz üzerinde tutularak homojenizatör ile homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlar 1500 g 15 dk +4°C'de santrifüj edildi.

Süpernatant kısmı ayrıldı. Ayrılan süpernatantlar MDA ve GSH düzeyi ölçümlerinde kullanıldı.

Malondialdehit Miktar Tayini

Böbrek homojenat örneklerinde yapılan malondialdehit ölçümleri Bioassay Technology Laboratory Rat Malondialchehyche ELISA Kit (Katalog No: E0156Ra) ticari test kiti kullanılarak yapıldı. Doku örneklerinin sonuçları nmol/ml mg protein olarak verildi.

Glutatyon Düzeyinin Ölçümü

Glutatyon içeriğinin belirlenmesi için, doku homojenatlarındaki serbest sülfidril gruplarının Ellman ayıracı ile oluşturduğu renk spektrofotometrik olarak belirlendi (85).

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.

4. Glutatyon standardı: 10 mg/dl GSH

Deneyin yapılışı:

1.5 ml 0.15 M KCI ve 3 ml proteinsizleştirme çözeltisi, 0.5 ml doku homojenatı üzerine eklendi. Bu karışım 3000xg'de 20 dk santrifüj edildi. Ardından 0.5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml M Na2HPO4 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.

Protein Miktarı Tayini

Protein miktarı tayini Lowry metoduna göre yapıldı (86).

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. 25ºC'de 30 dk beklediltikten sonra, spektrofotometrede 650 nm'de köre karşı sıfırlanarak okuma yapıldı.

Histolojik Çalışmalar

Deney sonunda sakrifiye edilen deneklerin böbrekleri çıkarılarak %10'luk nötral formalin ile fiksasyona tabi tutuldu. Ardından parafin inklüzyonu uygulanan doku bloklarından 5µm lik kesitler elde edildi. Hematoksilen ve eozin ile boyanan kesitler üzerinde böbreğin histopatolojik değerlendirilmesi, x100 büyütmede, 5 alanda böbreğin korteks, iç medulla, dış medulla ve papillar alanları üzerinde, nekroz, tübüler dilatasyon ve kast birikimi 0-5 arasında skorlanarak, semikantitatif olarak yapıldı (Heyman ve ark. dan modifiye edilmiştir.) (87, 88).

İstatistiksel Analiz

Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak gösterildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Serum üre ve serum sodyum parametreleri için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve gruplar arası karşılaştırmalarda Tukey testi kullanıldı. Diğer parametreler parametrik test şartlarını sağlamadığı için Kruskal-Wallis ve gruplar arası karşılaştırmalarda Dunnett T3 testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

.

BULGULAR

Sıçanlarda hipertonik gliserolün intramüsküler uygulanmasıyla oluşturulan deneysel MABH modeli, 7 grupta 56 sıçan üzerinde çalışıldı. İntramusküler serum fizyolojik veya gliserol enjeksiyonunu takiben metabolik kafeslere alınan sıçanların 24 saat sonunda idrar volümleri ölçüldü ve idrar örnekleri alındı. Ancak ABH grubunda 5 sıçandan, WIN grubunda 3 sıçandan; AM251, SR144528, WIN+AM251 ve WIN+SR144528 gruplarındaki 1'er sıçandan idrar örneği alınamadı. Ardından anestezi altında kan ve böbrek doku örnekleri alındı. Gruplarda herhangi bir ölüm görülmedi.

Tüm gruplardaki sıçanlara ait serum üre düzeyi mg/dl, serum kreatinin düzeyi mg/dl, serum sodyum düzeyi mmol/l, idar kreatinin düzeyi mg/dl, idrar sodyum mmol/l, böbrek MDA düzeyi nmol/ml mg protein, GSH düzeyi μmol/mg protein olarak hesaplandı. Grupların serum, idrar ve böbrek dokularına ait bulgular ve istatistiki değerlendirme sırasıyla Tablo 5, 6 ve 7' de verilmiştir.

Tablo 5. Grupların serumlarına ait parametreler

Parametreler	Kontrol	ABH	WIN	AM 251	SR 144528	WIN + AM251	WIN+ SR144528	p (p<0,05 ise anlamlı)	
	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD		
Serum Kreatinin mg/dl	0,48 ± 0,14	4,75 ± 0,40	3,87 ± 0,70	4,56 ± 0,74	4,14 ± 0,57	4,28 ± 0,41	2,79 ± 1,18	**K-ABH**	0,001
								K-WIN	0,001
								K-AM251	0,001
								K-SR144528	0,001
								K-WIN+AM251	0,001
								K-WIN+SR144528	0,012
								ABH-WIN+SR144528	0,029
Serum Sodyum mmol/l	141,00 ± 2,00	138,40 ± 1,76	141,90 ± 2,94	141,1 ± 2,74	138,10 ± 3,27	141,6 ± 3,58	140,40 ± 3,37		P>0,05
Serum Üre mg/dl	23,10 ± 3,54	331,90 ± 29,29	346,9 ± 36,42	320,9 ± 39,92	291,80 ± 41,65	358,60 ± 45,59	302,30 ± 53,65	**K-ABH**	0,001
								K-WIN	0,001
								K-AM251	0,001
								K-SR144528	0,001
								K-WIN+AM251	0,001
								K-WIN+SR144528	0,001
								WIN-SR144528	0,013

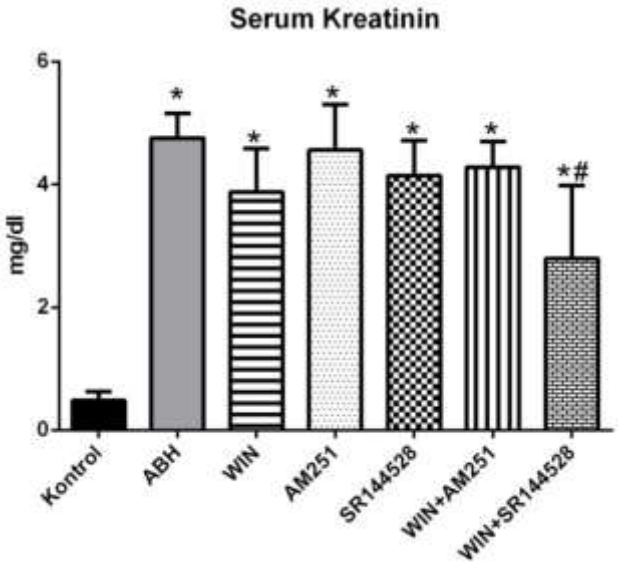
Tablo 6. Grupların idrarlarına ait parametreler

Parametreler	Kontrol	ABH	WIN	AM251	SR 144528	WIN + AM251	WIN+ SR144528	p (p<0,05 ise anlamlı)	
	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD		
İdrar Kreatin mg/dl	67,40 ± 9,34	43,97 ± 6,16	35,20 ± 6,72	46,18 ± 11,48	41,29 ± 12,82	36,09 ± 9,96	44,24 ± 14,82	**K-ABH**	0,043
								K-WIN	0,001
								K-AM251	0,045
								K-SR144528	0,020
								K-WIN+AM251	0,001
İdrar Sodyum mmol/l	145,50 ± 26,64	43,67 ± 18,01	65,75 ± 8,99	63,14 ± 10,85	48,29 ± 12,24	49,50 ± 8,59	60,00 ± 11,92	**K-ABH**	0,006
								K-WIN	0,001
								K-AM251	0,001
								K-SR144528	0,001
								K-WIN+AM251	0,001
								K-WIN+SR144528	0,001

Tablo 7. Grupların böbrek dokularına ait parametreler

Parametreler	**Kontrol**	**ABH**	**WIN**	**AM251**	**SR 144528**	**WIN + AM251**	**WIN+ SR144528**	**p (p<0,05 ise anlamlı)**	
	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD	ORT±SD		
MDA nmol/ml mg protein	1,73 ± 0,07	1,721 ± 0,16	1,651 ± 0,06	1,655 ± 0,16	1,56 ± 0,12	1,786 ± 0,10	1,833 ± 0,17	**SR144528-WIN+AM251**	0,027
GSH µMol/mg protein	166,30 ± 43,05	220,80 ± 192,90	230,30 ± 163,60	192,00 ± 192,00	191,90 ± 52,18	170,10 ± 45,78	370,5 ± 189,50		p>0,05

Gruplar arası serum kreatinin düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlendi (p=0.00). Serum kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 1'de gösterildi.

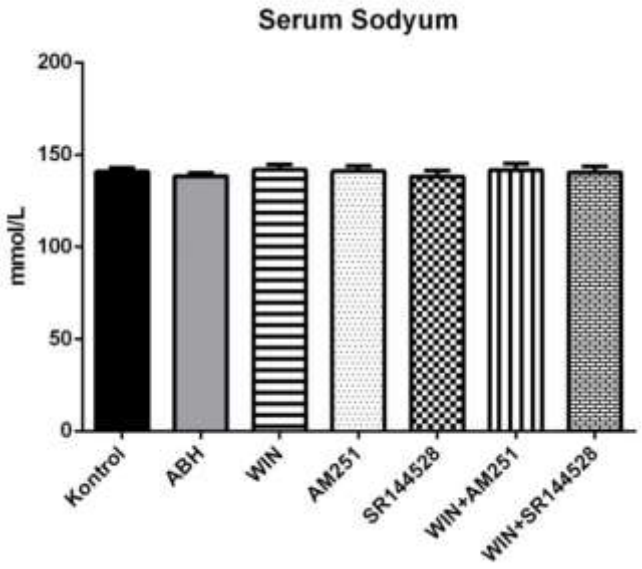


Şekil 1. Gruplar arası serum kreatinin düzeylerinin dağılımı

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

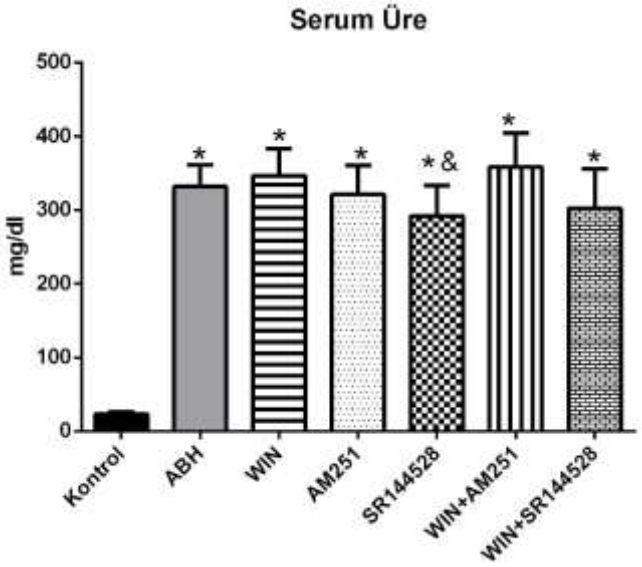
#ABH grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

Gruplar arası serum sodyum düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0.05). Serum sodyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 2'de gösterildi.



Şekil 2. Gruplar arası serum sodyum düzeylerinin dağılımı

Gruplar arası serum üre düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlendi (p=0.00). Serum üre düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 3'te gösterildi.

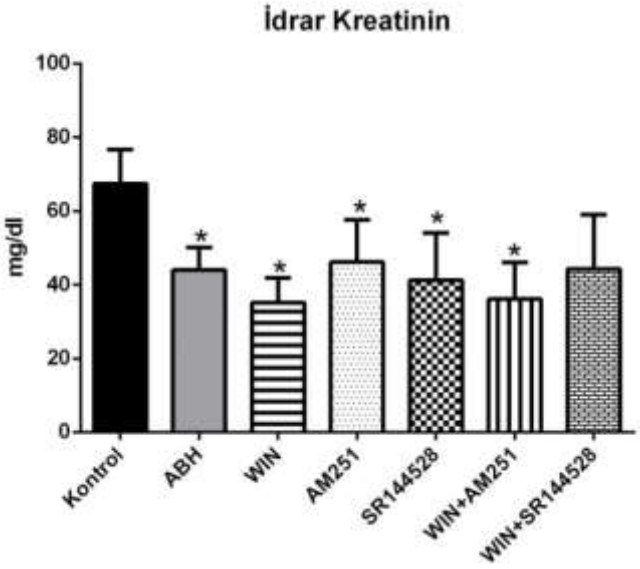


Şekil 3. Gruplar arası serum üre düzeylerinin dağılımı

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

&WIN grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

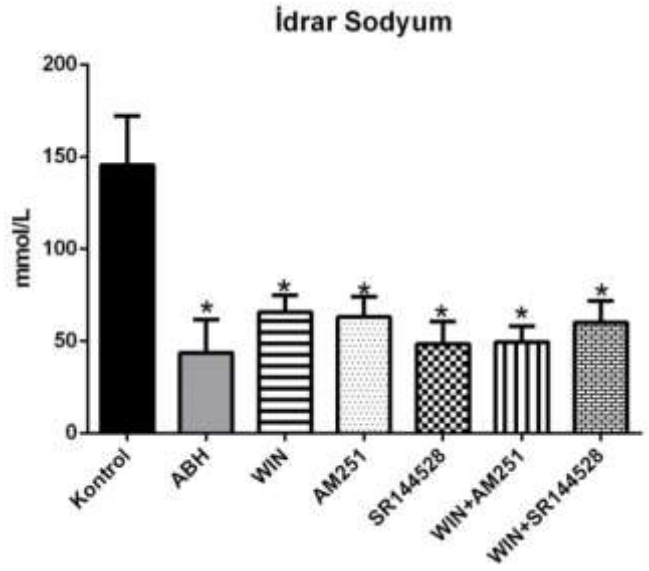
Gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlendi (p=0.00). İdrar kreatinin düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 4'te gösterildi.



Şekil 4. Gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinin dağılımı

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

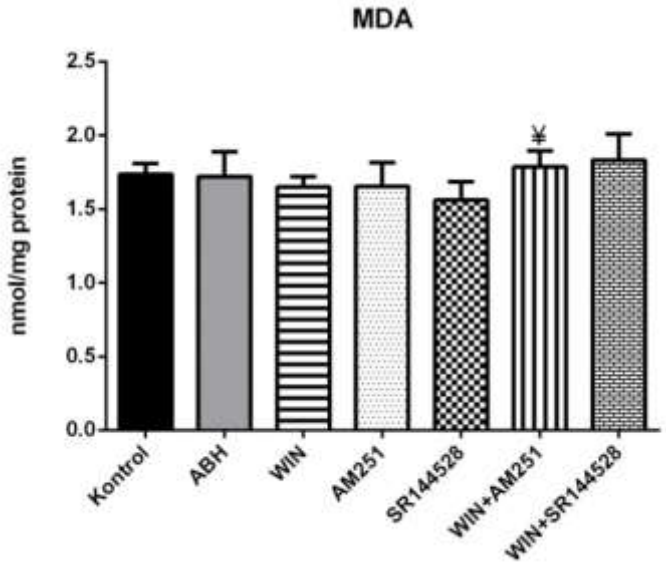
Gruplar arası idrar sodyum düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlendi (p=0.00). İdrar sodyum düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 5'te gösterildi.



Şekil 5. Gruplar arası idrar sodyum düzeylerinin dağılımı

*Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

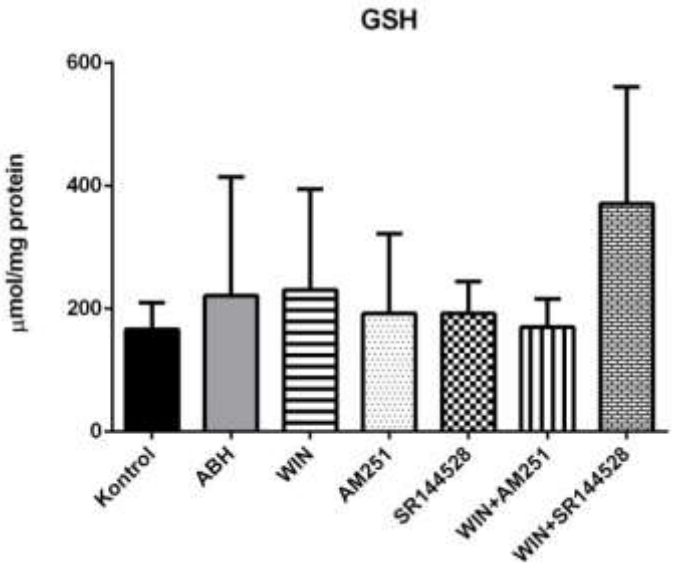
Gruplar arası MDA düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlendi (p=0.003). MDA düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 6'da gösterildi.



Şekil 6. Gruplar arası MDA düzeylerinin dağılımı

¥ SR144528 grubu ile karşılaştırıldığında p<0,05

Gruplar arası GSH düzeylerinin dağılımında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$). GSH düzeylerinin gruplara göre dağılımı Şekil 7'de gösterildi.



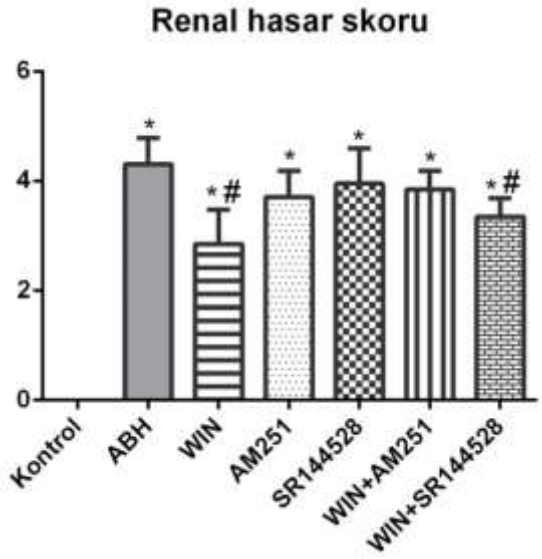
Şekil 7. Gruplar arası GSH düzeylerinin dağılımı

Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubu böbrek dokularında, korteks bölgelerinde normal histolojik görünüme sahip Malpighi cisimciklerinin yanında fırçamsı kenarlı epitele sahip, eozinofilik boyanan proksimal tübüller ile geniş lümenli distal tübüller izlendi. Medulla ve papilla bölgelerinde tübül yapıları normal histolojik görünüme sahipti (Şekil 8).

Gliserol uygulanan gruplara ait böbreklerin korteks bölgesinde tübüler nekroz, dilatasyon ve vakuolizasyon ile birlikte mikrovilli kaybı, tübüler lümende hücresel debris belirgin olarak izlendi. Şiddetli tübüler nekroz ve kast birikimi iç medulladayken dış medullada tübüler dilatasyon ve hücresel debris izlenmekteydi. Peritübüler ödem özellikle korteks bölgesinde belirgin olarak gözlendi. Glomerüllerde yer yer hafif derecede konjesyon dışında değişiklik saptanmadı (Şekil 9-14).

Deney gruplarına ait korteks, iç medulla, dış medulla ve papilla bölgelerinin histolojik değerlendirme skorları Tablo 8'de verilmiştir.



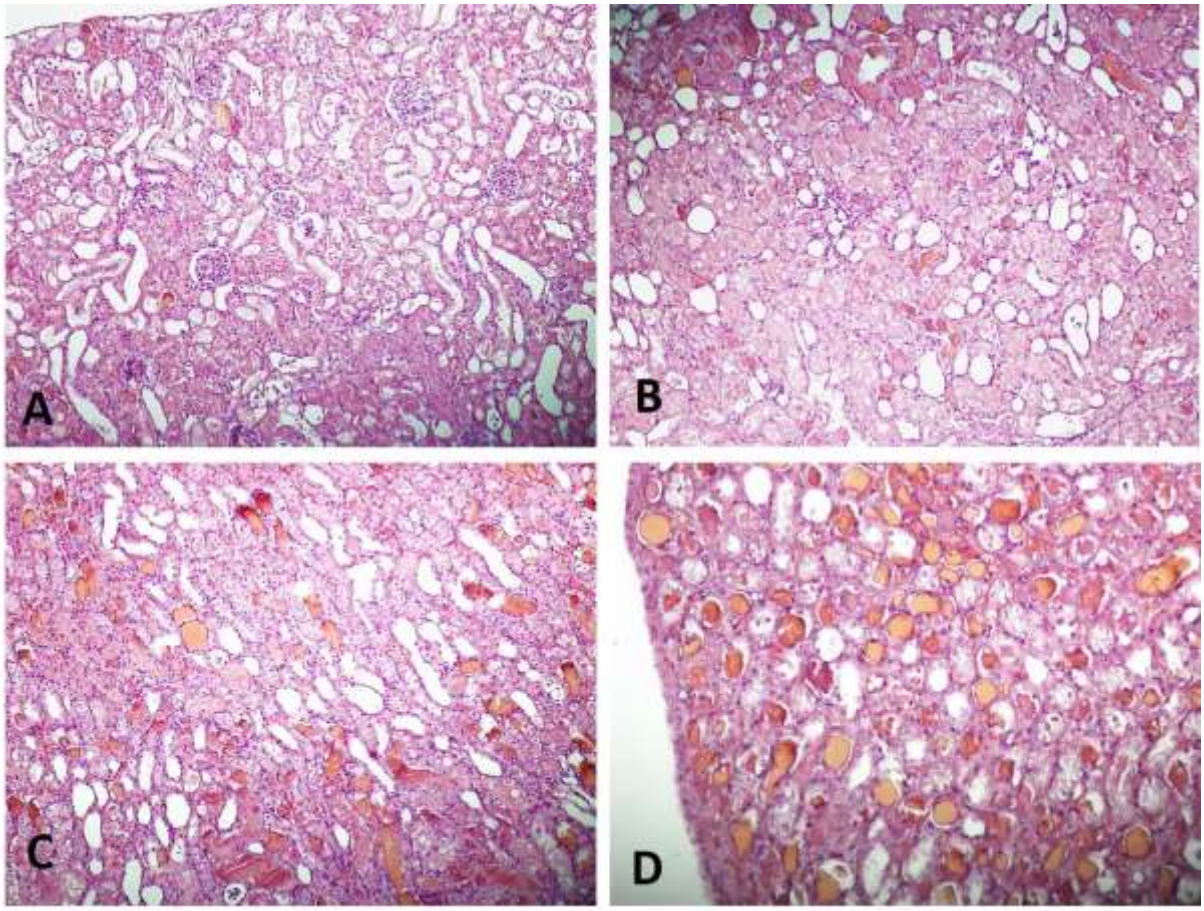
Şekil 8. Gruplar arası renal hasar skorları

* Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

#ABH grubu ile karşılaştırıldığında $p<0,05$

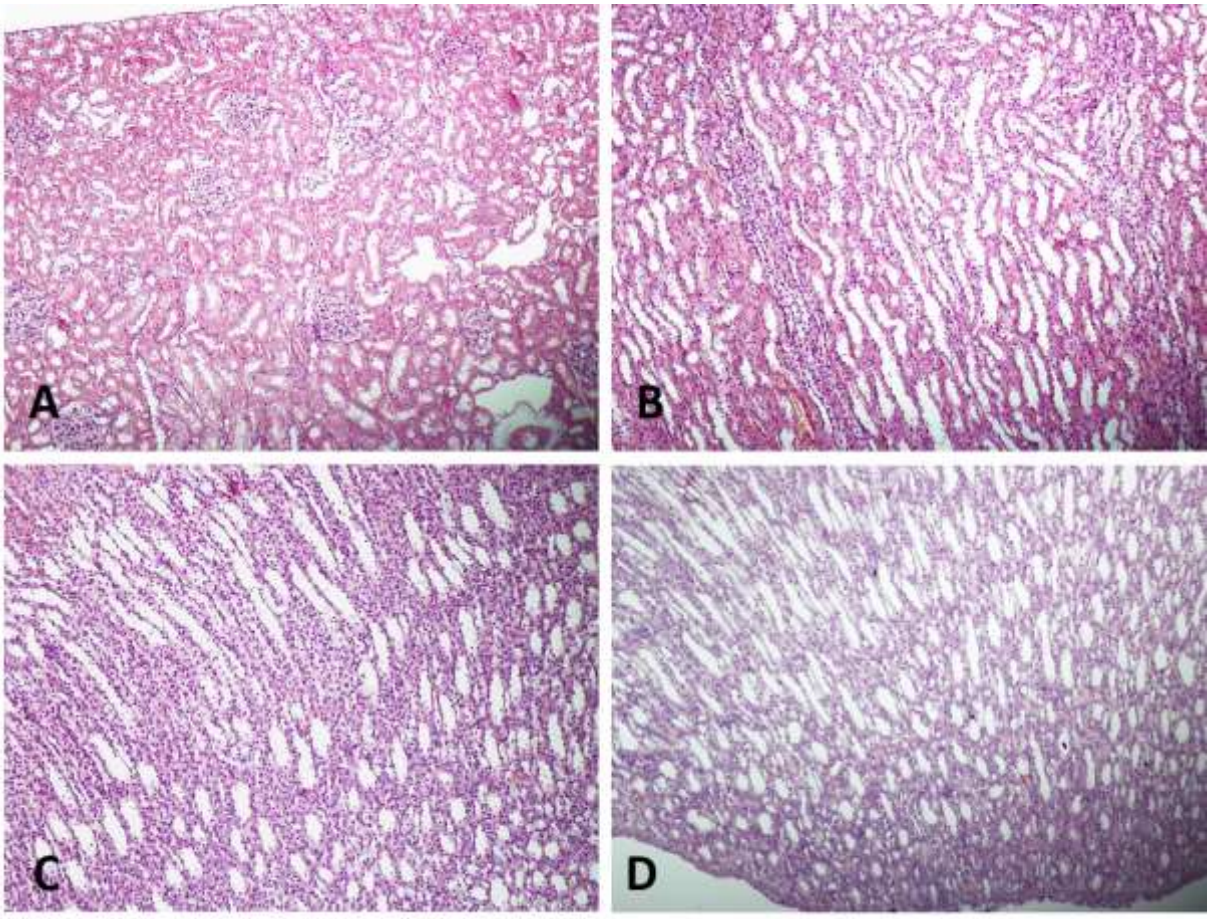
Tablo 8. Grupların histopatolojik değerlendirme skorları

Gruplar / **Morfolojik skor**	**Kontrol**	**ABH**	**WIN**	**AM251**	**SR144528**	**WIN + AM251**	**WIN + SR14428**
Kortikal nekroz	0	5	2.5	3.5	4.5	4	4
Kortikal tübüler dilatasyon	0	4	2.5	3.5	4	4	3
Kortikal kast birikimi	0	4	2.5	3	3	3	3
İç medullar nekroz	0	4	2.5	3	4	3.5	3.5
İç medullar tübüler dilatasyon	0	4	4	4	5	4	3.5
İç medullar kast birikimi	0	5	3.5	4.5	4.5	4	3.5
Dış medullar nekroz	0	4	3.5	4	3.5	4	3.5
Dış medullar tübüler dilatasyon	0	5	3	4	4	4	3
Dış medullar kast birikimi	0	4	2.5	3.5	4	4	3.5
Papiallar kast birikimi	0	4	2	4	3	4	3



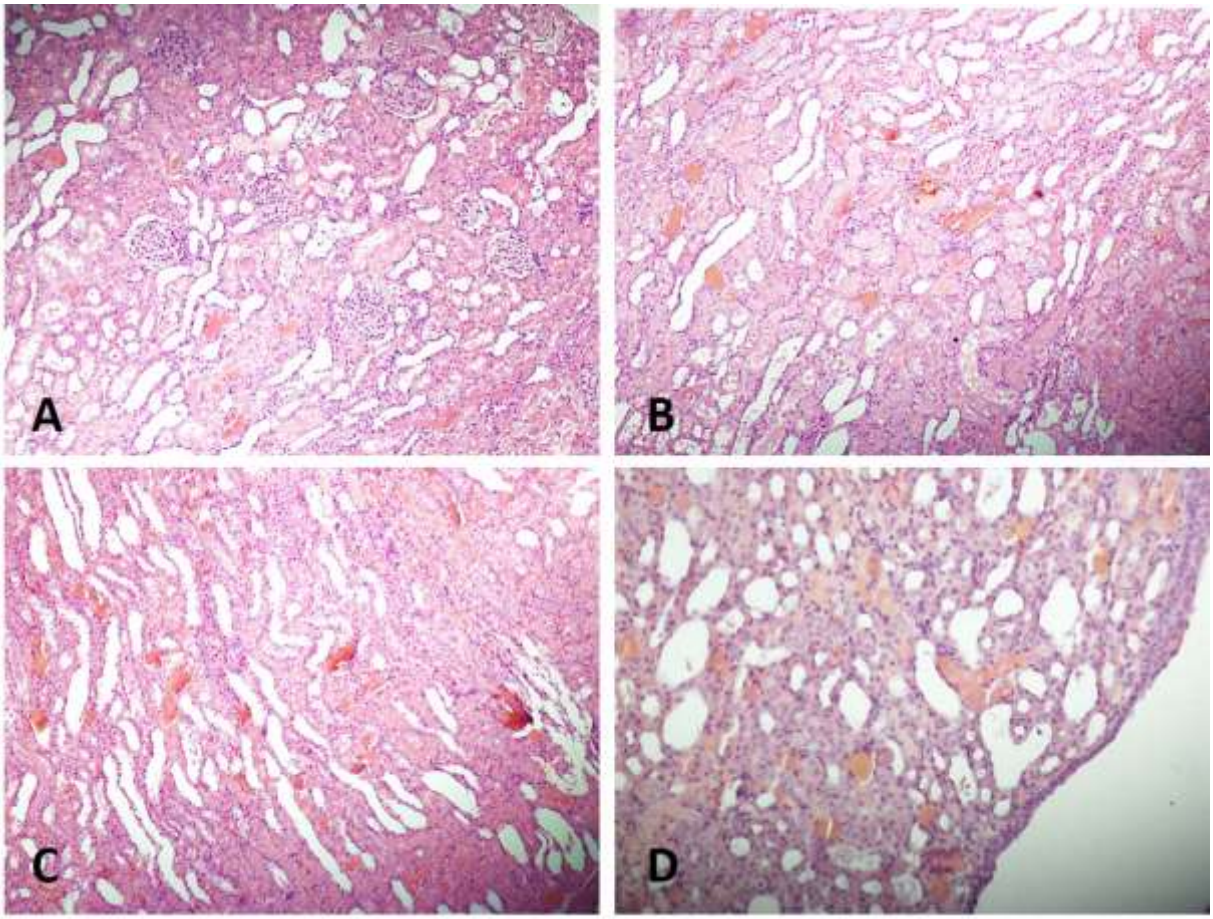
A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin.

Şekil 9. Kontrol grubu böbrek kesiti



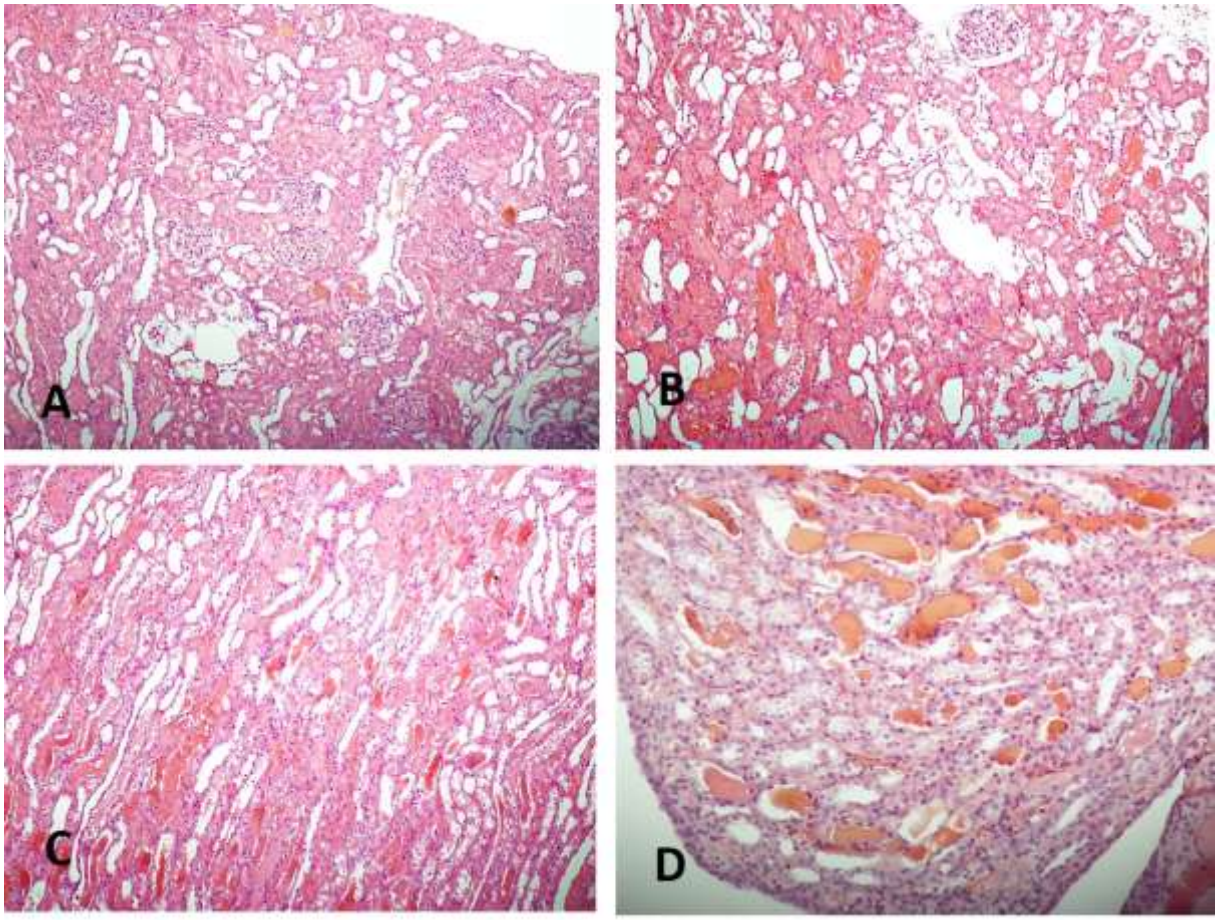
A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin.

Şekil 10. ABH grubu böbrek kesiti



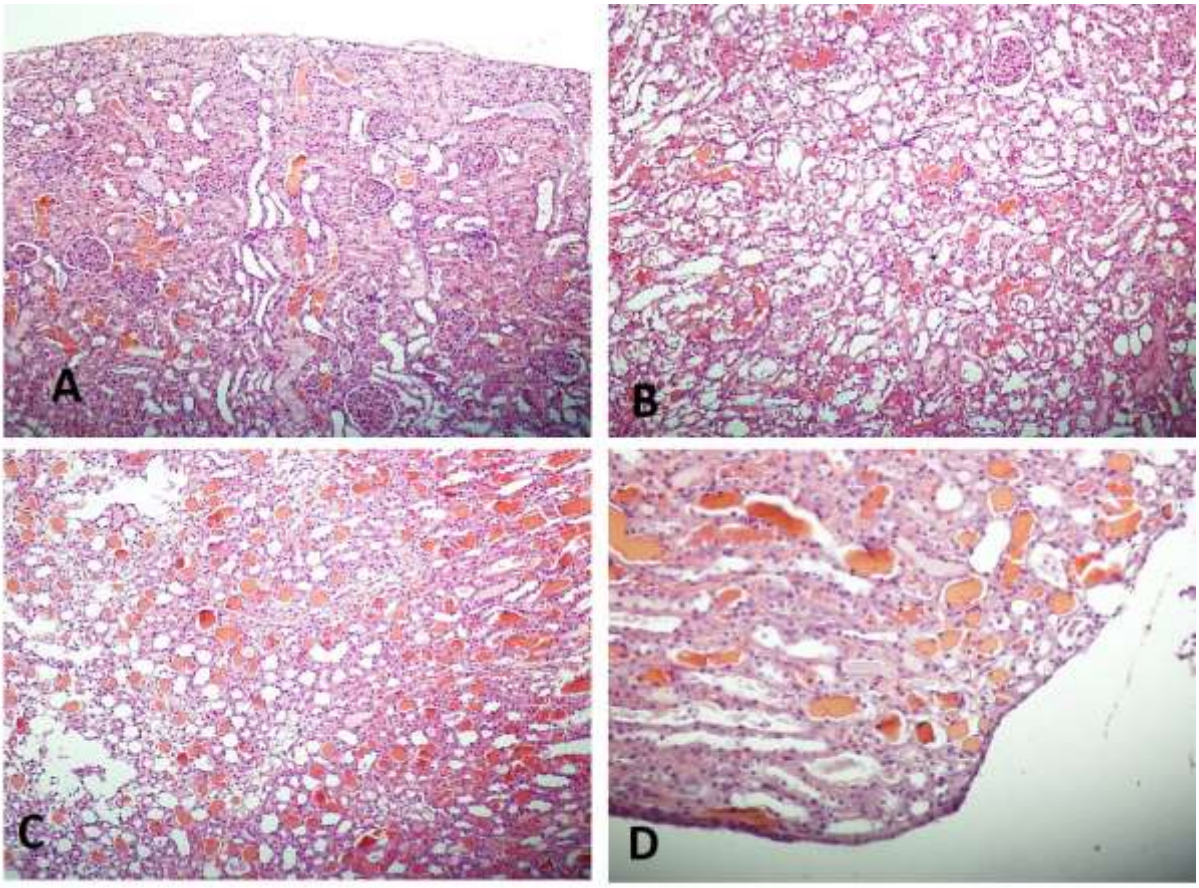
A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin.

Şekil 11. WIN grubu böbrek kesiti



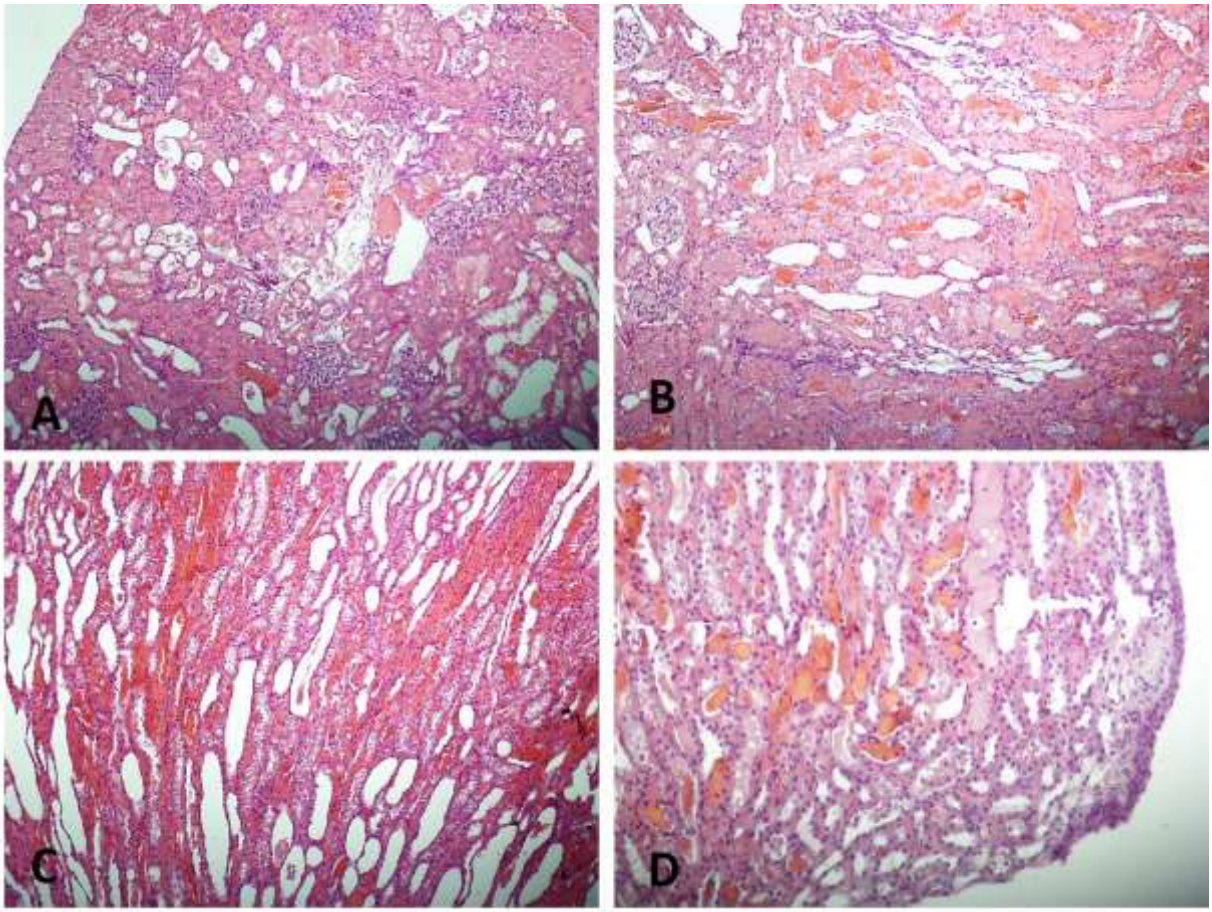
A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin

Şekil 12. AM251 grubu böbrek kesiti



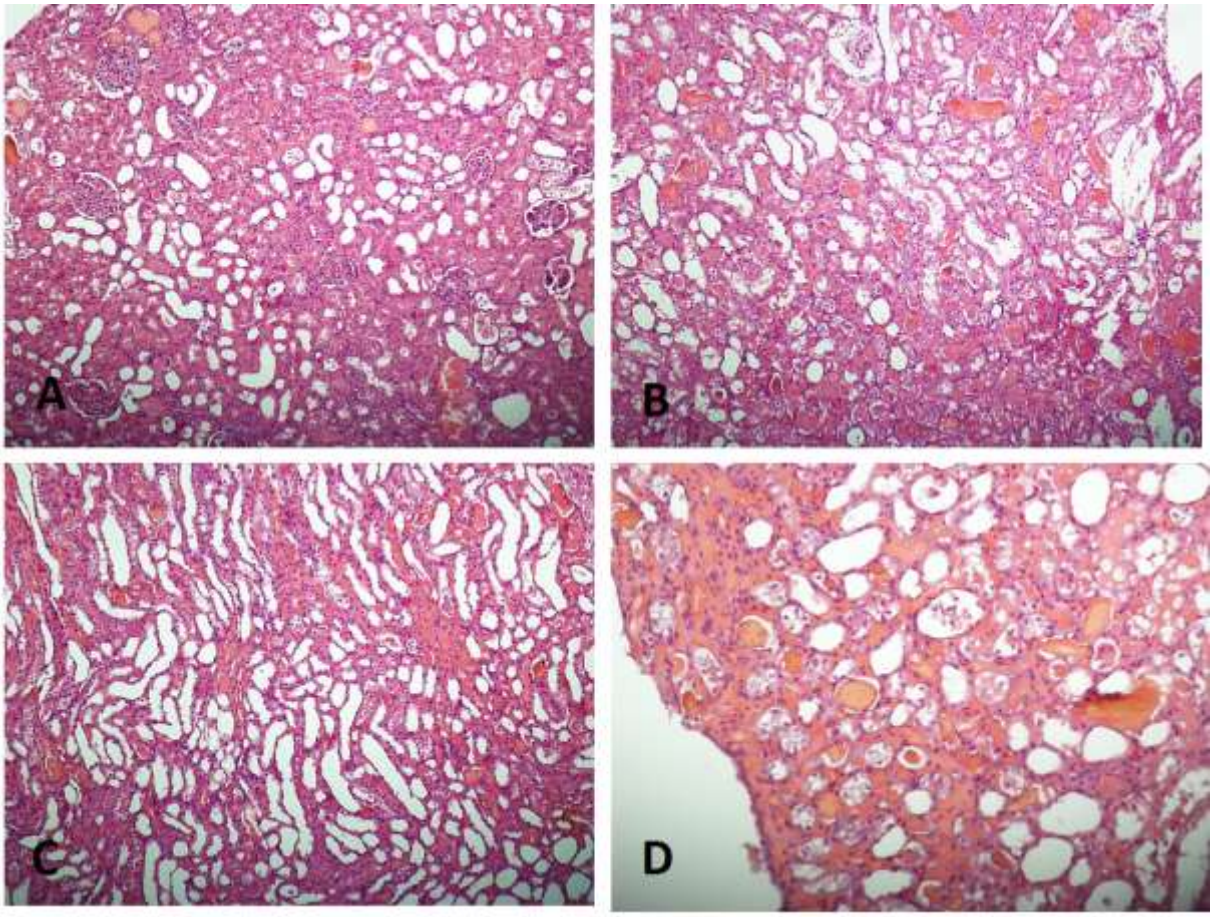
A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin.

Şekil 13. SR144528 grubu böbrek kesiti



A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin.

Şekil 14. WIN+AM251 grubu böbrek kesiti



A-Korteks, B-Dış medulla, C-İç medulla, x100, D-Papillax200. Hematoksilen + Eozin.

Şekil 15. WIN+ SR144528 grubu böbrek kesiti

TARTIŞMA

Çalışmamızda gliserol uygulanan sıçanlarda ABH geliştiği ve kannabinoid sistemi etkileyen bazı girişimlerin biyokimyasal ve histolojik olarak akut sonuçları olduğu görüldü. Yapılan literatür taramasında MABH modelinde kannabinoid agonist ve antagonistlerinin etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmadı. Bu yönüyle çalışmamız MABH kannabinoid sistem ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. Ayrıca ABH modelinde kannabinoid sistemin agonisti ile beraber CB1 ve CB2 reseptörlerinin etkilerinin karşılaştırıldığı ilk çalışmadır.

Serum kreatinin seviyesi böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde önemli bir kriterdir. Grupların böbrek fonksiyonlarındaki değişime bakıldığında serum kreatinin seviyesinde gliserol uygulanan grupların tamamında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görüldü. Bu durum deneysel modelin başarıyla uygulandığını gösterdi. Glomerüler fonksiyon bozukluğunun göstergesi olan serum kreatinin düzeylerindeki anlamlı artış daha önce laboratuvarımızda bu modelde yapılan çalışmalarla ve mevcut literatür bulgularıyla uygunluk göstermektedir (5,11). Çalışmamız ABH grubunda ortaya çıkan kreatinin seviyesindeki artışın sadece eksojen kannabinoid agonisti WIN55,212,2 ile CB2 antagonisti SR144528 uygulanan grupta anlamlı olarak düştüğünü gösterdi. İdrar kreatinin düzeyleri incelendiğinde sadece WIN+SR144528 grubu kontrol grubu ile benzerdi. Diğer gliserol verilen gruplarda idrar kreatinini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü. Bu sonuçlar eksojen verilen kannabinoid agonistinin böbrek fonksiyonu üzerine olumlu etkisini CB1 reseptörü üzerinden gösterdiğini düşündürdü. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için kullandığımız bir başka parametre olan serum üre düzeyi incelendiğinde gliserol verilen tüm gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artış görüldü. WIN uygulanan grup ile karşılaştırıldığında SR144528 grubunda serum üre düzeyi anlamlı olarak daha düşüktü.

Bu sonuç eksojen kannabinoid agonistinin CB2 reseptörleri üzerinden olumsuz etkiler gösterdiğini düşündürdü. Li ve ark. (4) renal iskemi-reperfüzyon ile oluşturdukları ABH çalışmalarında URB602 tarafından indüklenen artmış 2-AG'nin serum üre ve kreatinin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir. Ayrıca çalışmada iskemi-reperfüzyonla beraber CB1 antagonisti AM251 verilen grupta üre kreatinin seviyeleri sadece iskemi-reperfüzyon uygulanan gruplara göre düşerken iskemi-reperfüzyonla beraber CB2 antagonisti AM630 uygulanan grupta üre ve kreatinin düzeyleri sadece iskemi-reperfüzyon uygulanan grupla benzer kalmıştır. Bu sonuçlar renal iskemi-reperfüzyon modelindeki kannabinoide bağlı böbrek fonksiyonlarındaki olumlu etkilerin CB2 reseptörleri yoluyla gerçekleştiği şeklinde yorumlanmıştır. Çakır ve ark. (89) renal iskemi-reperfüzyon modeli uyguladıkları çalışmalarında CB2 agonisti JWH-133 uygulaması üç farklı dozda serum üre ve kreatinin seviyelerini iskemi-reperfüzyon grubuna göre düşürmüştür. Partha Mukhopadhyay ve ark. (90) sisplatinle uyarılmış ABH modelinde CB1 reseptör antagonistleri AM281 ve SR141716 uygulamalarının etkilerini inceledikleri çalışmalarında serum üre ve kreatinin seviyelerininin sisplatinle böbrek hasarı oluşturulan gruba göre düşük olduğu gösterilmiştir. Partha Mukhopadhyay ve ark. (91) diğer çalışmalarında sisplatinle uyarılmış böbrek hasarı modelinde CB2 reseptör agonisti LEI-101'in doz bağımlı olarak üre ve kreatinin seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamız ile bu çalışmalar arasındaki farklılık deneysel modelde, kullanılan ilaçlarda, kullanım şeklinde ve dozlardaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. Serum sodyum değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. İdrar sodyumları karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre tüm ABH oluşturulan gruplarda anlamlı bir azalma gözlendi. Bu sonuç böbreğin tübüler fonksiyonundaki bozulmanın bir göstergesi olarak değerlendirildi.

Gruplar arasında oksidatif stresin göstergesi olan MDA seviyelerinin dağılımı incelendiğinde eksojen kannabinoid agonisti WIN55,212,2 ile CB1 antagonisti AM251 verilen grupta CB2 antagonisti SR144528 verilen gruba göre anlamlı olarak yüksekti. Diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Bu durum kannabinoid sistemde CB2 reseptörleri üzerinden oksidatif stresin kötüleşebileceğini düşündürdü. Antioksidan sistemin bir elemanı alan GSH düzeyleri değerlendirildiğinde CB2 blokajının yapıldığı gruptaki yükselme eğilimi istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. Li ve ark. (4) çalışmalarında URB602 verilerek 2-AG düzeyleri artırılmış sıçanlarda renal iskemi-reperfüzyon grubuna göre lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA düzeyi azalırken antioksidan savunmanın göstergesi olan süperoksid dismutaz düzeyi artmıştır. CB1 antagonisti AM251 verilen grupta MDA düzeyi URB602 grubuyla benzerken CB2 antagonisti AM630 uygulanan grupta MDA

düzeyinde artış görülmüştür. AM251 verilen grupta SOD düzeyi iskemi-reperfüzyon grubuyla benzer iken AM630 verilen grupta SOD düzeyi iskemi-reperfüzyon grubuna göre yüksek bulunmuştur. Partha Mukhopadhyay ve ark. (90) çalışmasında farelerde CB1 reseptörlerinin genetik delesyonunun veya AM281 veya SR141716 ile farmakolojik inhibisyonunun sisplatin kaynaklı artmış oksidatif/nitrozatif stresi iyileştirdiği gösterilmiştir. Partha Mukhopadhyay ve ark. (91) farelerde yürüttüğü diğer çalışmasında CB2 reseptör agonisti LEI-101, sisplatin kaynaklı renal lipid peroksidasyonunu ve nitrotirozin oluşumunu zayıflattığı gösterilmiştir. Çalışmamızın verileri bahsedilen çalışmalarla uyumsuzdur. Deney hayvanındaki, deneysel modeldeki, ilaçlar ve dozlarındaki farklılıklar bu duruma sebep olmuş olabilir.

Çalışma gruplarında böbrekte meydana gelen histolojik değişiklikler hematoksilen eozin boyama ile değerlendirildi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında gliserol verilen tüm gruplarda değişik şiddette tübüler nekroz ve kast birikimi ile kortikal peritübüler ödem gözlendi. Gruplardaki hasarı gösteren histolojik değerlendirme skorları karşılaştırıldığında hasar skoru WIN ve WIN+SR144528 gruplarında ABH grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Gliserol verilen diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Eksojen olarak verilen kannabinoid agonistinin, histolojik olarak olumlu etkilerini özellikle CB1 reseptörlerini etkileyerek ortaya çıkardığı düşünüldü.

CB2 aktivasyonunun immün hücre akışını artırıp inflamasyonu şiddetlendirdiği ve miyofibroblastları etkileyerek rol oynadığı bildirilmiştir. Zhou ve ark. (92) Balb-c fareler üzerinde tek taraflı üreteral obstrüksiyon, adriamisin veya iskemi-reperfüzyon ile üç farklı modelde renal hasar oluşturdukları çalışmalarında CB2 reseptörlerinin genetik ablasyonu veya farmakolojik inhibisyonunun renal fibrozisi azalttığı gösterilmiştir. CB2 ters agonisti olan XL-001'ün in vivo intraperitoneal enjeksiyonları, hem obstrüksiyon hem de iskemi-reperfüzyon modellerinde böbrek hasarı, fibroz ve inflamasyonu iyileştirmiştir. CB2'nin fibroblast ve makrofaj aktivasyonuna aracılık ettiği bildirilmiştir. CB2 yukarı regülasyonunun, başlangıçtaki etiyolojiye bakılmaksızın hastalıklı böbreklerde yaygın bir patolojik özellik olduğu iddia edilmiştir. Netherland ve ark. (93) CB2 knock out ve düşük dansiteli lipoprotein reseptörü knockout farelerde yaptıkları çalışmada CB2 yokluğu kollajen sentezini azaltarak veya bozunmasını hızlandırarak kollajen birikimini azaltmıştır. Çalışmamızın CB2 reseptörünün aracılık ettiği etkilerle ilgili sonuçları Zhou ve Netherland'ın çalışmaları ile uyumludur. Pressly ve ark. (16) erkek farelerde gerçekleştirdikleri renal iskemi-reperfüzyon çalışmasında CB2 reseptörlerine yüksek selektivite gösteren SMM-295 kullanımının renal tübüler epitel hücre yapısını ve fonksiyonunu koruduğunu göstermişlerdir.

Mukhopadhyay ve ark. (94) sisplatinle uyarılmış ABH çalışmasında sisplatinin, farelere uygulamadan 72 saat sonra derin histopatolojik böbrek hasarına, protein kastlarına, vakuolizasyona ve renal tübüllerdeki epitel hücrelerinin deskuamasyonuna sebep olduğu ve sisplatin enjeksiyonundan 1.5 saat önce başlayan CB2 agonisti HU-308 tedavisi ile bu etkilerin zayıfladığı bildirilmiştir. CB2+/+ farelere kıyasla CB2-/-farelerde sisplatin kaynaklı böbrek hasarının daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda yukarıda bahsedilen çalışmalarla zıt sonuçlar elde edilmiştir. Kullanılan agonist ve antagonistlerin selektivitelerinin farklı olması, kullanılan deney hayvanlarının farklılığı, kullanılan deneysel modelin farklılığı, bizim sonuçlarımızla diğer çalışmaların sonuçlarının farklılığına sebep olmuş olabilir. Ayrıca kannabinod sistemin yüksek heterojenite göstermesi aynı etkenin klasik kannabinoid reseptörleri dışında tanımlanmış farklı reseptörleri etkileyerek (GRP55, TRPV1 gibi) farklı biyolojik etkiler göstermesine sebep olmuş olabilir. Çalışmamızda GPR55, GPR119, TRPV1 gibi kannabinoid ligandlarıyla ilişkisi gösterilmiş reseptörlerin etkileri değerlendirilmemiştir. Bu reseptörlerin etkilerinin de değerlendirileceği daha geniş kapsamlı çalışmalar kannabinoidlerin böbrek fonksiyonları ve histolojisi üzerine etkilerinin daha iyi anlaşılması için faydalı olacaktır.

SONUÇLAR

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yaptığımız çalışmamızda hipertonik gliserolün sıçanlara intramüsküler uygulanmasıyla oluşturulan deneysel MABH modelinde kannabinoid reseptörü agonist ve antogonistlerinin böbrek fonksiyonları, oksidatif parametreler ve histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerini inceledik.

Çalışmamız ile MABH modelinde eksojen uygulanan kannabinoidlerin böbrek fonksiyonlarını ve histolojisini etkilediği gösterilmiştir. Çalışma verilerimiz, birçok çalışmanın aksine CB2 reseptör blokajının böbrek fonksiyonları ve histopatolojisi üzerine olumlu etkiler ortaya çıkardığını göstermiştir. Bu etkilerin ortaya çıkmasında oksidatif stresin önemli bir faktör olarak göz önünde bulundurulması gerektiği düşünüldü.

Önceki yıllarda yapılan çalışmaların büyük çoğunluğuyla farklı sonuçlar elde etmemiz kullandığımız modelin ve kullandığımız agonist ve antagonistlerin farklılığından kaynaklanmış olabailir. Ayrıca çalışmamızda etkilerini incelemediğimiz, GPR55, GPR119, TRPV1 gibi kannabinoid ligandlarıyla ilişkisi gösterilmiş reseptörler bu sonuçların ortaya çıkışına katkıda bulunmuş olabilir. Bu reseptörlerin etkilerinin de değerlendirileceği daha geniş kapsamlı çalışmalar kannabinoidlerin böbrek fonksiyonları ve histolojisi üzerine etkilerinin daha iyi anlaşılması için faydalı olacaktır.

ÖZET

Endokannabinoid sistemin böbrek fizyolojisi ve patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Çalışmamızda kannabinoid reseptörü agonist ve antagonistlerinin miyoglobinürik akut böbrek hasarında biyokimyasal ve histopatolojik parametreler üzerine etkilerini ve bu etkilere oksidatif stresin olası katkısını incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda 7 grupta toplam 56 adet Wistar dişi sıçan kullanıldı. Kontrol grubuna serum fizyolojik diğer gruplara %50'lik gliserolün intramüsküler enjeksiyonları ile model oluşturuldu. Gruplara 60. ve 75. dakikalarda intraperitoneal enjeksiyonlar yapıldı [sırasıyla (kontrol: sf,sf), (ABH: sf,sf), (AM251: AM251,sf), (SR 144528: SR144528,sf), (WIN+AM251: WIN,AM251), (WIN+SR144528: WIN, SR144528)]. İntramüsküler enjeksiyonlardan sonra metabolik kafese alınan sıçanların 24 saatlik idrarları toplandı. Ardından anestezi altında kan ve böbrekleri alındı. Böbrek dokusunda glutatyon, malondialdehit düzeyleri, histopatolojik değişiklikler; serumda üre, kreatinin, sodyum düzeyleri; idrarda kreatinin, sodyum düzeyleri incelendi.

Çalışmamızda gliserol uygulanan grupların tamamında kontrol grubuna göre serum kreatinin ve üre seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenirken idrar sodyum seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlendi. WIN+SR144528 grubunda ABH grubuna göre serum kreatinin düzeyinin anlamlı olarak daha düşük olduğu görüldü. SR144528 grubunda WIN grubuna göre serum üre düzeyi daha düşüktü. MDA düzeyi WIN+AM251 grubunda SR144528 grubuna göre anlamlı olarak daha yüksekti. Histolojik olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında gliserol verilen grupların böbrek kesitlerinde değişik şiddette tübüler nekroz ve kast birikimi ile kortikal peritübüler ödem gözlendi. Hasar skoru WIN ve WIN+SR144528 gruplarında ABH grubuna göre anlamlı olarak düşüktü.

Tüm bu sonuçlar topluca değerlendirildiğinde eksojen olarak kannabinoid sistemi etkileyecek ajanların uygulanmasının böbrek fonksiyon ve histolojisi üzerinde önemli etkiler ortaya çıkardığı görüldü. Böbrek fonksiyon ve histolojisi üzerine olan bu etkilerde CB2 reseptörlerinin blokajının daha önceki çalışmaların aksine olumlu sonuçları olduğu, CB1 reseptörlerinin blokajının ise olumsuz sonuçlara yol açtığı görüldü. Bu etkilerin ortaya çıkmasında oksidatif stresin önemli bir faktör olarak göz önünde bulundurulması gerektiği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Rabdomiyoliz, Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarı, Kannabinoid, Oksidatif Stres

EFFECT OF CANNABIONID RECEPTOR AGONIST AND ANTAGONIST IN EXPERIMENTAL MYOGLOBINURIC ACUTE RENAL INJURY

SUMMARY

It has been reported that the endocannabinoid system plays an important role in kidney physiology and pathophysiology. In our study, we aimed to examine the effects of cannabinoid receptor agonists and antagonists on biochemical and histopathological parameters in myoglobinuric acute kidney injury and the possible contribution of oxidative stress to these effects.

A total of 56 Wistar female rats in 7 groups were used in our study. Saline solution to the control group, 50% glycerol solution to the other groups i.m. was given. The groups were given intraperitoneal injections at the 60th and 75th minutes (respectively (control: sf, sf), (ABH: sf, sf), (AM251: AM251, sf), (SR 144528: SR144528, sf), (WIN + AM251). : WIN, AM251), (WIN + SR144528: WIN, SR144528)]. The rats were placed in the metabolic cage after intramuscular injections and the 24-hour urine of the rats was collected. Then, blood and kidneys were taken under anesthesia. Glutathione, malondialdehyde levels, histopathological changes in kidney tissue; Urea, creatinine, sodium levels in serum; creatinine and sodium levels in urine were analyzed.

In our study, a significant increase was observed in serum creatinine and urea levels in all glycerol given groups compared to the control group, while a significant decrease was observed in urine sodium levels. Serum creatinine level was found to be significantly lower in the WIN+SR144528 group compared to the ABH group. Serum urea level was lower in the

SR144528 group than in the WIN group. MDA level was significantly higher in WIN + AM251 group than SR144528 group. Compared histologically with the control group, different severity of tubular necrosis, caste accumulation and cortical peritubular edema were observed in the kidney sections of the glycerol given groups. The damage score was significantly lower in the WIN and WIN+SR144528 groups compared to the ABH group.

When all these results were evaluated collectively, it was seen that the application of exogenous agents that would affect the cannabinoid system had significant effects on renal function and histology. In these effects on kidney function and histology, it was seen that blockade of CB2 receptors had positive results contrary to previous studies, and blockade of CB1 receptors had negative results. It was thought that oxidative stress should be considered as an important factor in the emergence of these effects.

Keywords: Rhabdomyolysis, Myoglobinuric Acute Kidney Injury, Cannabinoid, Oxidative Stress

KAYNAKLAR

1. Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of acute kidney injury. Compr Physiol 2012;2(2):1303-53.

2. Simpson JP, Taylor A, Sudhan N, Menon DK, Lavinio A. Rhabdomyolysis and acute kidney injury: creatine kinase as a prognostic marker and validation of the McMahon Score in a 10-year cohort: A retrospective observational evaluation. Eur J Anaesthesiol 2016;33(12):906-12.

3. Wu J, Pan X, Fu H, Zheng Y, Dai Y, Yin Y, et al. Effect of curcumin on glycerol-induced acute kidney injury in rats. Sci Rep 2017;7(1):10114.

4. Li XH, Liu YQ, Gong DY, Hai KR, Ke BW, Zuo YX. The Critical Role of Cannabinoid Receptor 2 in URB602-Induced Protective Effects Against Renal Ischemia-Reperfusion Injury in the Rat. Shock 2020;54(4):520-30.

5. Kaya O. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek yetmezliğinde losartanın etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.

6. 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.

7. Stanley M, Adigun R. Rhabdomyolysis. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.

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

9. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. Am J Kidney Dis 1997;29(3):465-77.

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

11. Yavuz ÖY. Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Yetmezliğinde Baicalinin Etkileri (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2013.

12. Deutsch DG, Goligorsky MS, Schmid PC, Krebsbach RJ, Schmid HH, Das SK, et al. Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. J Clin Invest 1997;100(6):1538-46.

13. Jenkin KA, McAinch AJ, Briffa JF, Zhang Y, Kelly DJ, Pollock CA, et al. Cannabinoid receptor 2 expression in human proximal tubule cells is regulated by albumin independent of ERK1/2 signaling. Cell Physiol Biochem 2013;32(5):1309-19

14. Jenkin KA, McAinch AJ, Grinfeld E, Hryciw DH. Role for cannabinoid receptors in human proximal tubular hypertrophy. Cell Physiol Biochem 2010;26(6):879-86.

15. Mukhopadhyay P, Rajesh M, Pan H, Patel V, Mukhopadhyay B, Bátkai S, et al. Cannabinoid-2 receptor limits inflammation, oxidative/nitrosative stress, and cell death in nephropathy. Free Radic Biol Med 2010;48(3):457-67.

16. Pressly JD, Mustafa SM, Adibi AH, Alghamdi S, Pandey P, Roy KK, et al. Selective Cannabinoid 2 Receptor Stimulation Reduces Tubular Epithelial Cell Damage after Renal Ischemia-Reperfusion Injury. J Pharmacol Exp Ther 2018;364(2):287-99.

17. Zoja C, Locatelli M, Corna D, Villa S, Rottoli D, Nava V, et al. Therapy with a selective cannabinoid receptor type 2 agonist limits albuminuria and renal injury in mice with type 2 diabetic nephropathy. Nephron 2016;132(1):59-69.

18. Jenkin KA, O'Keefe L, Simcocks AC, Briffa JF, Mathai ML, McAinch AJ, et al. Renal effects of chronic pharmacological manipulation of CB 2 receptors in rats with diet-induced obesity. Br J Pharmacol 2016 Apr;173(7):1128-42.

19. Jansen MPB, Florquin S, Roelofs JJTH. The role of platelets in acute kidney injury. Nat Rev Nephrol 2018;14(7):457-71.

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

21. Hoste EAJ, Kellum JA, Selby NM, Zarbock A, Palevsky PM, Bagshaw SM, et al. Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury. Nat Rev Nephrol 2018;14(10):607-25.

22. Obermuller N, Geiger H, Weipert C, Urbschat A. Current developments in early diagnosis of acute kidney injury. Int Urol Nephrol 2014;46(1):1-7.

23. Celebi N, Arikan AA. Acute Kidney Injury: Definitions and Epidemiology. Critical Care Pediatric Nephrology and Dialysis: A Practical Handbook; 2019. p. 3-10.

24. Roy JP, Devarajan P. Acute Kidney Injury: Diagnosis and Management. Indian J Pediatr 2020;87(8):600-7.

25. McDaniel BL, Bentley ML. The role of medications and their management in acute kidney injury. Integr Pharm Res Pract 2015;4:21-9.

26. Hamzagic N, Nikolic T, Jovicic BP, Canovic P, Jacovic S, Petrovic D. Acute Kidney Damage: Definition, Classification and Optimal Time of Hemodialysis. Ser J Exp Clin Res 2019;20(3):267-75.

27. Rahman M, Shad F, Smith MC. Acute kidney injury: a guide to diagnosis and management. Am Fam Physician 2012;86(7):631-9.

28. Rewa O, Bagshaw SM. Acute kidney injury-epidemiology, outcomes and economics. Nat Rev Nephrol 2014;10(4):193-207.

29. Makris K, Spanou L. Acute kidney injury: definition, pathophysiology and clinical phenotypes. Clin Biochem Rev 2016;37(2):85-98.

30. Dalili N, Kashani K. Acute Kidney Injury Risk Recognition in Resource-Sufficient Versus Resource-Limited Regions. Iran J Kidney Dis 2018;12(5):261-7.

31. Alscher MD, Erley C, Kuhlmann MK. Acute Renal Failure of Nosocomial Origin. Dtsch Arztebl Int 2019;116(9):149-58.

32. Ronco C, Bellomo R, Kellum JA. Acute kidney injury. Lancet. 2019;394(10212):1949-64.

33. Tanrıverdi MH. Akut böbrek yetmezliği. Konuralp Tıp Dergisi 2010;2(1):46-52.

34. Goyal A, Daneshpajouhnejad P, Hashmi MF, Bashir K. Acute Kidney Injury. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020

35. Patschan D, Muller GA. Acute kidney injury. J Inj Violence Res 2015;7(1):19-26.

36. Awdishu L, Wu S. Acute kidney injury. JQ Hudson, Pharm D, FASN, FCCP, FNKF, & BCPS, Renal/Pulmonary Critical Care 2017;2:7-26.

37. Fry AC, Farrington K. Management of acute renal failure. Postgrad Med J 2006;82(964):106-16.

38. Koçer M, Karakısa H, Avcı A, Satar S. Rabdomiyoliz. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 25(4):586-607.

39. Reis NG, Francescato HDC, de Almeida LF, Silva CGAD, Costa RS, Coimbra TM. Protective effect of calcitriol on rhabdomyolysis-induced acute kidney injury in rats. Sci Rep 2019;9(1):7090.

40. Sedhain A, Bhattarai GR, Shrestha B, Khan A. Comparison between Rhabdomyolysis Induced and Septic Acute Kidney Injury in Central Nepal. J Chitwan Med Coll 2019;9(2):3-10.

41. Nishida K, Watanabe H, Ogaki S, Kodama A, Tanaka R, Imafuku T, et al. Renoprotective effect of long acting thioredoxin by modulating oxidative stress and macrophage migration inhibitory factor against rhabdomyolysis-associated acute kidney injury. Sci Rep 2015;5:14471.

42. Giannoglou GD, Chatzizisis YS, Misirli G. The syndrome of rhabdomyolysis: Pathophysiology and diagnosis. Eur J Intern Med 2007;18(2):90-100.

43. Honore PM, De Bels D, Spapen HD. Beneficial effects of antioxidant therapy in crush syndrome in a rodent model: enough evidences to be used in humans? Ann Intensive Care 2018;8(1):96.

44. Yıldırım E, Kaymaz B, Dörtler S, Üstündağ SE, Akdeniz A, Erbaş O. Crush syndrome. İst Bilim Üniv Florence Nightingale Tıp Derg 2019;4(4):213-8.

45. Genthon A, Wilcox SR. Crush syndrome: a case report and review of the literature. J Emerg Med 2014;46(2):313-9.

46. Safari S, Yousefifard M, Hashemi B, Baratloo A, Forouzanfar MM, Rahmati F, et al. The value of serum creatine kinase in predicting the risk of rhabdomyolysis-induced acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. Clin Exp Nephrol 2016;20(2):153-61.

47. Song J, Ding H, Fan HJ, Dong WL, Sun ZX, Hou SK. Canine model of crush syndrome established by a digital crush injury device platform. Int J Clin Exp Pathol 2015;8(6):6117-25.

48. Demirkiran O, Dikmen Y, Utku T, Urkmez S. Complications in patients with Crush syndrome after the Marmara earthquake. Am J Anest and Pai Med 2018;1(1):001-5.

49. Peiris D. A historical perspective on crush syndrome: the clinical application of its pathogenesis, established by the study of wartime crush injuries. J Clin Pathol 2017;70(4):277-81.

50. Goubella A, Gankam-Kengne F, Baudoux T, Fagnoul D, Husson C, Delforge ML, et al. Severe myoglobinuric acute kidney injury in a kidney recipient: rapid recovery after hemodialysis with the super high-flux membrane Theralite®. Clin Nephrol 2017;88(12):359-63.

51. Chatzizisis YS, Misirli G, Hatzitolios AI, Giannoglou GD. The syndrome of rhabdomyolysis: complications and treatment. Eur J Intern Med. 2008;19(8):568-74.

52. Qazi MA, Molvi KI. Free radicals and their management. Am J Pharm Health Res 2018;6(4):1-10.

53. Nechita A, Dinu C, Ciubara AB, Raftu G, Ancuta C. Free Radicals and Antioxidants in Ankylosing Spondylitis. Rev Chim 2018;69(12):3634-7.

54. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian J Clin Biochem 2015;30(1):11-26.

55. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev 2010;4(8):118-26.

56. Lawson M, Jomova K, Poprac P, Kuča K, Musílek K, Valko M. Free Radicals and Antioxidants in Human Disease. Nutritional Antioxidant Therapies: Treatments and Perspectives; 2017. p. 283-305.

57. Ifeanyi OE. A review on free radicals and antioxidants. Int J Curr Res Med Sci 2018;4(2):123-33.

58. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J Biomed Sci 2008;4(2):89.

59. Kumar S. Free radicals and antioxidants: human and food system. Adv Appl Sci Res 2011;2(1):129-35.

60. Ahmadinejad F, Geir Moller S, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Bidkhori G, Jami MS. Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress. Antioxidants (Basel) 2017;6(3).

61. Bisht R. Antioxidants: a brief review. J Drug Deliv Ther 2018;8(6-s):373-6.

62. Kasapçopur Özel GS, Birdane YO. Antioksidanlar. Kocatepe Vet J 2014:41-52.

63. Sarkozy M, Kovacs ZZA, Kovacs MG, Gaspar R, Szucs G, Dux L. Mechanisms and Modulation of Oxidative/Nitrative Stress in Type 4 Cardio-Renal Syndrome and Renal Sarcopenia. Front Physiol 2018;9:1648.

64. Dikker O, Şahin M, Atar S, Bekpınar S. Postmenopozal Osteoporozlu Kadınlarda Oksidatif Stres Belirteçlerinin İncelenmesi. Turk J Osteoporos 2018;24(1):15.

65. Erçin U, Bilgihan A, Erkan AF, Yücel H. Koroner Arter Hastalığında Yeni Parametreler: Oksidatif Stres Belirteçleri. Türk Klinik Biyokimya Derg 2019;17(1):48-56.

66. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. YYU Vet Fak Derg 2004;15(1):91-6.

67. Brainina K, Stozhko N, Vidrevich M. Antioxidants: Terminology, Methods, and Future Considerations. Antioxidants (Basel) 2019;8(8):297.

68. Bardakçı Ö. Bazı sentetik antioksidanların 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme kapasitesi yöntemi ile antioksidan aktivitelerinin araştırılması (tez). Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2017.

69. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutatyonun rolü. Turkiye Klinikleri J Med Sci 2002;22(4):442-8.

70. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. MAE Vet Fak Derg 2016;1(1):65-76.

71. Kasnak C, Palamutoğlu R. Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology 2015;3(5):226-34.

72. Koch M. Cannabinoid Receptor Signaling in Central Regulation of Feeding Behavior: A Mini-Review. Front Neurosci 2017;11:293.

73. Karaüzüm B. Mezenter iskemi reperfüzyonu sonrasında gelişen uzak organ hasarı üzerine kannabinoidlerin etkisi (tez). Zonguldak: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2019.

74. Park F, Potukuchi PK, Moradi H, Kovesdy CP. Cannabinoids and the kidney: effects in health and disease. Am J Physiol Renal Physiol 2017;313(5):F1124-f32.

75. Wu J. Cannabis, cannabinoid receptors, and endocannabinoid system: yesterday, today, and tomorrow. Acta Pharmacol Sin 2019;40(3):297-9.

76. Zou S, Kumar U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. Int J Mol Sci 2018;19(3).

77. Shevyrin V, Melkozerov V, Endres GW, Shafran Y, Morzherin Y. On a New Cannabinoid Classification System: A Sight on the Illegal Market of Novel Psychoactive Substances. Cannabis Cannabinoid Res 2016;1(1):186-94.

78. Kara H. Kannabinoidlerin Kötüye Kullanımı. Ankara Med J 2017;17(4):293-9.

79. Whiting PF, Wolff RF, Deshpande S, Di Nisio M, Duffy S, Hernandez AV, et al. Cannabinoids for Medical Use: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA 2015;313(24):2456-73.

80. Chua JT, Argueta DA, DiPatrizio NV, Kovesdy CP, Vaziri ND, Kalantar-Zadeh K, et al. Endocannabinoid system and the kidneys: from renal physiology to injury and disease. Cannabis Cannabinoid Res 2019;4(1):10-20.

81. Drori A, Permyakova A, Hadar R, Udi S, Nemirovski A, Tam J. Cannabinoid-1 receptor regulates mitochondrial dynamics and function in renal proximal tubular cells. Diabetes Obes Metab 2019;21(1):146-59.

82. Hryciw DH, McAinch AJ. Cannabinoid receptors in the kidney. Curr Opin Nephrol Hypertens 2016;25(5):459-64.

83. Abohalaka R. Yağ asidi amid hidrolaz (FAAH) ve monoaçil gliserol lipaz (MAGL) inhibitörlerinin farede deneysel solunum yolu inflamasyonu üzerindeki etkileri (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2019.

84. Boyacıoğlu Ö. Akciğer kanserinde kannabinoidlerin CB reseptörleri aracılı antiproliferatif ve proapoptotik etkisinin araştırılması (tez). Ankara: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2019.

85. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys. 1959;82(1):70-7.

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

87. Al Asmari AK, Al Sadoon KT, Obaid AA, Yesunayagam D, Tariq M. Protective effect of quinacrine against glycerol-induced acute kidney injury in rats. BMC Nephrol. 2017;18(1):41.

88. Heyman SN, Rosen S, Fuchs S, Epstein FH, Brezis M. Myoglobinuric acute renal failure in the rat: a role for medullary hypoperfusion, hypoxia, and tubular obstruction. J Am Soc Nephrol 1996;7(7):1066-74.

89. Çakır M, Tekin S, Doğanyiğit Z, Çakan P, Kaymak E. The protective effect of cannabinoid type 2 receptor activation on renal ischemia-reperfusion injury. Mol Cell Biochem 2019;462(1-2):123-32.

90. Mukhopadhyay P, Pan H, Rajesh M, Bátkai S, Patel V, Harvey-White J, et al. CB1 cannabinoid receptors promote oxidative/nitrosative stress, inflammation and cell death in a murine nephropathy model. Br J Pharmacol 2010;160(3):657-68.

91. Mukhopadhyay P, Baggelaar M, Erdelyi K, Cao Z, Cinar R, Fezza F, et al. The novel, orally available and peripherally restricted selective cannabinoid CB2 receptor agonist LEI-101 prevents cisplatin-induced nephrotoxicity. Br J Pharmacol 2016;173(3):446-58.

92. Zhou L, Zhou S, Yang P, Tian Y, Feng Z, Xie XQ, et al. Targeted inhibition of the type 2 cannabinoid receptor is a novel approach to reduce renal fibrosis. Kidney Int 2018;94(4):756-72.

93. Netherland CD, Pickle TG, Bales A, Thewke DP. Cannabinoid receptor type 2 (CB2) deficiency alters atherosclerotic lesion formation in hyperlipidemic Ldlr-null mice. Atherosclerosis 2010;213(1):102-8.

94. Mukhopadhyay P, Rajesh M, Pan H, Patel V, Mukhopadhyay B, Bátkai S, et al. Cannabinoid-2 receptor limits inflammation, oxidative/nitrosative stress, and cell death in nephropathy. Free Radic Biol Med 2010;48(3):457-67.

ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİLLER

Şekil 1. Gruplar arası serum kreatinin düzeylerinin dağılımı……..**29**
Şekil 2. Gruplar arası serum sodyum düzeylerinin dağılımı……...**30**
Şekil 3. Gruplar arası serum üre düzeylerinin dağılımı……...**30**
Şekil 4. Gruplar arası idrar kreatinin düzeylerinin dağılımı……..….**31**
Şekil 5. Gruplar arası idrar sodyum düzeylerinin dağılımı……...…..**32**
Şekil 6. Gruplar arası MDA düzeylerinin dağılımı…….….**32**
Şekil 7. Gruplar arası GSH düzeylerinin dağılımı……...**33**
Şekil 8. Gruplar arası renal hasar skorları……..**34**
Şekil 9. Kontrol grubu böbrek kesiti……**35**
Şekil 10. ABH grubu böbrek kesiti…….....**36**
Şekil 11. WIN grubu böbrek kesiti…….....**37**
Şekil 12. AM251 grubu böbrek kesiti…….....**38**
Şekil 13. SR144528 grubu böbrek kesiti……..**39**
Şekil 14. WIN+AM251 grubu böbrek kesiti……....**40**
Şekil 15. WIN+ SR144528 grubu böbrek kesiti……..**41**

TABLOLAR

Tablo 1. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: RIFLE Kriterleri……...…....**4**
Tablo 2. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: AKIN Kriterleri……...…....**4**
Tablo 3. Akut Böbrek Hasarının Sınıflandırılması: KDIGO Kriterleri……...……..**5**

Tablo 4. Kannabinoid Reseptör Agonist ve Antagonistleri**…….…..…….16**
Tablo 5. Grupların serumlarına ait parametreler**…….....26**
Tablo 6. Grupların idrarlarına ait parametreler**…….....27**
Tablo 7. Grupların böbrek dokularına ait parametreler**…….....28**
Tablo 8. Grupların histopatolojik değerlendirme skorları**…….....34**

ÖZGEÇMİŞ

1995 yılında Aydın'ın Söke ilçesinde doğdum. İlköğrenimimi Ali Rıza Efendi İlkokulu'nda, lise eğitimimi Şehit Emre Acar Cumhuriyet Anadolu Lisesi'nde tamamladım. Lisans eğitimimi Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi'nde Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü'nde 2018 yılında tamamladım. 2018 yılında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.

EKLER

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: 2019/10 **Karar Tarihi:** 25.10.2019
Karar No: 2019.10.02
Hayvan Sayısı ve Cinsi: Sıçan 56 adet

Yürütücülüğünü Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dr. Öğretim Üyesi Oktay KAYA'nın yaptığı, TÜHADYEK-2019/15 protokol nolu "**Gliserolle Uyarılmış Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarında Kanabinoid Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Etkileri**'' başlıklı çalışmanın isminin "**Deneysel Miyoglobinürik Akut Böbrek Hasarında Kanabinoid Reseptör Agonist ve Antagonistlerinin Etkileri**" olarak değiştirilmesi ve deney protokolünde değişiklik yapılması önerisi görüşüldü. Araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan deneyleri etik kurullarının çalışma usul ve esaslarına dair yönetmelik ve Trakya Üniversitesi 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

Dr. Öğr. Üyesi Hayati ARDA
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet □ hayır

Dr. Öğr. Üyesi Beytullah ÖZKAN
Fen Fakültesi Öğretim Üyesi
Araştırma ile İlişki: □ var ☒ yok
Toplantı Katılım: ☒ evet □ hayır

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

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

-KATILMADI-
Ecz. F. 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