



T.C.

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

RADYOLOJİ ANA BİLİM DALI

DEKSPANTENOL'ÜN DİATRİZOAT SONRASI OLUŞMUŞ
KONTRAST NEFROPATİSİNE KARŞI SIRT 1, P53, BCL2/BAX
YOLAKLARI ÜZERİNDEN TEDAVİ EDİCİ ETKİ
MEKANİZMALARININ AYDINLATILMASI

Cenk Mustafa HAVABULUT

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜNDÜZ

Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2024-9444 proje numarası ile desteklenmektedir.

ISPARTA – 2025

BEYAN

Dekspantenol'ün diatrizoat sonrası oluşmuş kontrast nefropatisine karşı SIRT 1,P53, BCL2/BAX yolakları üzerinden tedavi edici etki mekanizmalarının aydınlatılması adlı Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesine uygun olarak hazırlanmıştır.

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Hazırlayan

Cenk Mustafa HAVABULUT

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜNDÜZ

TEŞEKKÜRLER

Zorlu tez sürecimin her aşamasında değerli bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen, pozitif enerjisi ile bize daima güç veren, çalışkanlığı ile bizlere örnek olan, kıymetli bilim insanı tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Demet GÜNDÜZ'e,

Bize her tezimizin her aşamasında yardımını muhabbetini esprilerini ve bilgilerini esirgemenyen sayın Prof.Dr.Halil AŞCI hocama,

Tıp ilmi ile beraber hayata dair tecrübelerini bizlerle paylaşan, bugünlere gelmemizde büyük emeği olan, her zaman biz asistan hekimlerin yanında olan ve bizlere her konuda destek veren Anabilim Dalı Başkanımız, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Mustafa KAYAN'a,

Zorlu uzmanlık eğitimi sürecinde bilgi ve tecrübeleri ile bizlerin daima yanında olan Radyoloji Anabilim Dalımızın değerli öğretim üyesi hocalarıma;

Asistanlık sürecimde her anımda yanımda olan kıymetli kıdemlim Mahmut ERBAŞ'a,

Uzmanlık eğitimimizde beraber efor sarfettiğimiz, birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum ve herbirinin gönlümde özel yeri olan, birbirinden kıymetli asistan arkadaşlarıma,

Radyoloji Bölümü teknisyenleri, sekreterleri ve tüm çalışanlarına,

Beni büyüten ve her anımda yanımda olan tüm ilgilerini ve desteklerini esirgemeyen kıymetli aileme,

Hayatıma girdiği andan itibaren varlığı ile bana güç veren, iyi ki karşıma çıkmışsın dediğim, hayat arkadaşım, biricik eşim meleğime sonsuz teşekkürler.

Dr. Cenk Mustafa HAVABULUT

Isparta/2025

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BEYAN	i
TEŞEKKÜRLER	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Böbrek Anatomisi,Fonksiyonu ve Kanlanması.....	2
2.1.1. Böbrek Anatomisi	2
2.1.2. Böbrek Fonksiyonu.....	4
2.1.3. Böbreğin Kanlanması	4
2.2. Kontrast Maddeler	4
2.2.1. Kontrast Maddelerin Tanımı ve Amacı	4
2.2.2. Kontrast Maddelerin Sınıflandırılması	5
2.2.2.1. İyot Bazlı Kontrast Maddeler.....	5
2.2.3. Kontrast Maddelerin Yan Etkileri.....	9
2.2.4. Kontrast Madde Yan Etkilerinin Tedavisi	9
2.2.5. Kontrast Madde Nefropatisi.....	9
2.2.5.1. Kontrast Madde Nefropati Tanımı	9
2.2.5.2. Kontrast Madde Nefropati Risk Faktörleri	10
2.2.5.3. Kontrast Madde Nefropati Etiyopatogenezi.....	11
2.2.5.4. Kontrast Madde Nefropatisi İçin Tedavi Ve Önlemler.....	11
2.3. Apoptoz	14
2.4. Dekspantenol	15

2.4.1. Dekpantenolün Kimyası	15
2.4.2. Dekspantenolün Etkileri	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	17
3.1. Deney Planı	17
3.2. Histopatolojik Değerlendirme	20
3.3 Hematoksilen- Eozin Boyama.....	21
3.4. İmmunohistokimyasal Analiz.....	22
3.5. Biokimyasal Analiz	27
4. BULGULAR.....	29
4.1. Histopatolojik İncelemeler	29
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	36
4.2.1. Kaspaz-3 İmmunohistokimyasal Bulguları	36
4.2.2. TNF- α İmmünohistokimyasal Bulgu Sonuçları.....	39
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	49
4.3.1. Kan Parametreleri	49
4.3.2. Oksidatif Stres Göstergeleri.....	51
4.4. Genetik Bulgular	53
5. TARTIŞMA.....	56
6.SONUÇ ve ÖNERİLER	59
ÖZET	60
SUMMARY	61
KAYNAKLAR	62
EKLER.....	66
Ek 1. Etik Kurul Kararı	66

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AG-RC	:Atrofik glomerül ve Renal Cisimcikler
AT	:Atrofik Tübüller
DAB	:Diaminobenzidin
DEKS	:Dekspantenol
DT	:Distal tübül
DNA	:Deoksiribonükleik asit
GBM	:Glomerüler Bazal Membran
G	:Glomerül
İBKM	:İyot Bazlı Kontrast Madde
İP	:İntra peritoneal
İV	:İntravenöz
KKN	:Kontrast Kaynaklı Nefropati
KMB	:Kolajenöz Madde Birikimi
MHI	:Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu
OSİ	:Oksidatif Stres İndeksi
PÇ	:Piknotik Çekirdekler
PT	:Proksimal Tübül
RKM	:Radyokontrast Madde
URO	:Ürografi
TAS	:Total Antioksidan Status-Total Antioksidan Kapasitesi
TD	:Tübüllerde Dilatasyon
TOS	:Total Oksidan Status-Total Oksidan Kapasitesi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Renal Anatomi	3
Şekil 2.2. İyotlu Kontrast Maddelerin Temel Moleküler Yapısal Birimi	6
Şekil 2.3. Kontrast Madde Nefropati ve Kardiovasküler Hastalık Arasındaki İlişki. 11	
Şekil 2.4. Dekspantenol Moleküler Yapısı	15
Şekil 4.1. Hücresel Düzeyde Atrofik Glomerül ve Renal Cisimcik Skoru.....	42
Şekil 4.2. Hücresel Düzeyde Kollajenöz Madde Birikim Skoru	43
Şekil 4.3. Hücresel DüzeydePiknotik Çekirdek Skoru	44
Şekil 4.4. Hücresel Düzeyde Mononükleer Hücre İnfiltrasyon Skoru	45
Şekil 4.5. Hücresel Düzeyde Atrofik Tübül Skoru	46
Şekil 4.6. Hücresel Düzeyde Tübüllerde Dilatasyon Skoru	47
Şekil 4.7. TNF-ALFA Skoru	48
Şekil 4.8. Kaspaz 3 Skoru	49
Şekil 4.9. Kandaki ÜRE Değerleri.....	50
Şekil 4.10. Kandaki Kreatinin Değerleri.....	50
Şekil 4.11. Böbrek Dokusunda Toplam Oksidan Seviyeleri	51
Şekil 4.12. Böbrek Dokusunda Toplam Antioksidan Seviyeleri	52
Şekil 4.13. Böbrek Dokusunda Oksidatif Stres İndeks Değerleri.....	52
Şekil 4.14. SIRT1 mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri.....	53
Şekil 4.15. p53 mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri	54
Şekil 4.16. Bax mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri.....	54
Şekil 4.17. Bel2 mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri.....	55

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. Kontrast Maddelerin Sınıflaması	5
Tablo 2.2. İyotlu Kontrast Madde Sınıflaması	7
Tablo 2.3. İyot Bazlı Kontrat Maddelerin Sınıflaması	8
Tablo 2.4. Kontrast Maddeye Bağlı Nefropati İçin Risk Faktörleri.....	10
Tablo 2.5. Kontrast Madde Nefropatisinde Uygulanacak Algoritma	13
Tablo 2.6. Hücre Ölümü ve Alt Başlıkları	15
Tablo 3.1. Doku Takibi Protokolü.....	20
Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü.....	21
Tablo 3.3. 20 µl Revers Transkriptaz Reaksiyon Karışımı	24
Tablo 3.4. Revers Transkriptaz Termal Döngü Protokolü	25
Tablo 3.5. Genler ve Genlere Ait Spesifik Primer Dizilimleri.....	25
Tablo 3.6. PCR Reaksiyon Karışımı	26
Tablo 3.7. Gerçek Zamanlı PCR Döngüsü.....	26
Tablo 4.1. Böbrek Hasarının Histolojik Skor Tablosu.....	29
Tablo 4.2. Böbrek Hasarının İmmunohistokimyasal Skor Tablosu	36

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Resim 3.1. Ratlara Enjeksiyon Yapılırken	18
Resim 3.2. Ratların Böbrek Dokuları Ekarte Edilirken.....	19
Resim 4.1. Kontrol Grubundaki Bir Ratın Normal Böbrek Görünümü.....	30
Resim 4.2. Kontrol Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Normal Görünümü.....	31
Resim 4.3. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü.....	31
Resim 4.4. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü.....	32
Resim 4.5. Uro+Deks Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü	33
Resim 4.6. URO+DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü	33
Resim 4.7. DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü.....	34
Resim 4.8. DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü.....	35
Resim 4.9. Kontrol Grubuna Ait Rat Böbreğinde Negatif Ekspresyon Streptavidin Biyotin Peroksidaz Yöntemi	37
Resim 4.10. Negatif Kontrol.....	37
Resim 4.11. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Glomerül ve Tübül Epitellerinde Belirgin Ekspresyon (Oklar). Streptavidin Biyotin Peroksidaz Yöntemi	38
Resim 4.12. URO+DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Glomerül ve Tübül Epitellerinde Azalmış ve Hafif Şiddette Ekspresyon (Oklar) Streptavidin Biyotin Peroksidaz Yöntemi	38
Resim 4.13. DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinde Negatif Ekspresyon Streptavidin Biyotin Peroksidaz Yöntemi	39
Resim 4.14. Kontrol Grubuna Ait Rat Böbreğinde Negatif Ekspresyon.....	40
Resim 4.15. Negatif Kontrol.....	40
Resim 4.16. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Glomerül, Tübül Epiteli ve Tübül Bazal Membranında Belirgin Ekspresyon.	41
Resim 4.17. URO+DEKS Grubuna Ait Böbreğin Glomerül, Tübül Epiteli ve Tübül Bazal Membranında Orta Şiddette Ekspresyon.	41
Resim 4.18. DEKS Grubuna Ait Böbreğinde Negatif Ekspresyon	42

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Kontrast madde tıbbi görüntülemelerde vücuttaki yapıların kontrastını artırmak amacıyla kullanılan maddelerdir. Kontrast maddeler normal doku ile patolojik olan dokular arasında kontrast farkı oluşturmak için kullanılır. Günümüzde birçok tanı amacıyla kontrast maddelerin kullanımları gün geçtikçe artmaktadır. Ancak kontrast maddelerin kullanımı esnasında ve sonrasında bazı istenmeyen yan etkileri mevcuttur. Kontrast maddelerin yan etkileri kaşıntı gibi hafif bir rahatsızlıktan hayatı tehdit eden bir acil duruma kadar değişebilir. Kontrast nefropatisi ilacın iv veya ia kullanımını sonrası iyi bilinen bir yan etkisidir(1).

Literatürde kontrast nefropatisinin oluşması sonrasında ve engellemek amacıyla hidrasyon, N-asetil sistein gibi premedikasyonlar belirtilmiş olsa da henüz hiçbirinin çok etkili olduğu söylenemez. Bizde bu çalışmamızda dekspantenol'ün nefrotoksisite üzerine SIRT 1, p53, Bcl2/Bax yolakları üzerinden tedavi edici mekanizmalarını aydınlatmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi,Fonksiyonu ve Kanlanması

2.1.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler retroperitoneal boşlukta solda ve sağda olmak üzere 2 adet ve yetişkin insanlarda yaklaşık 12 santimetre uzunluğundadır(2,3).

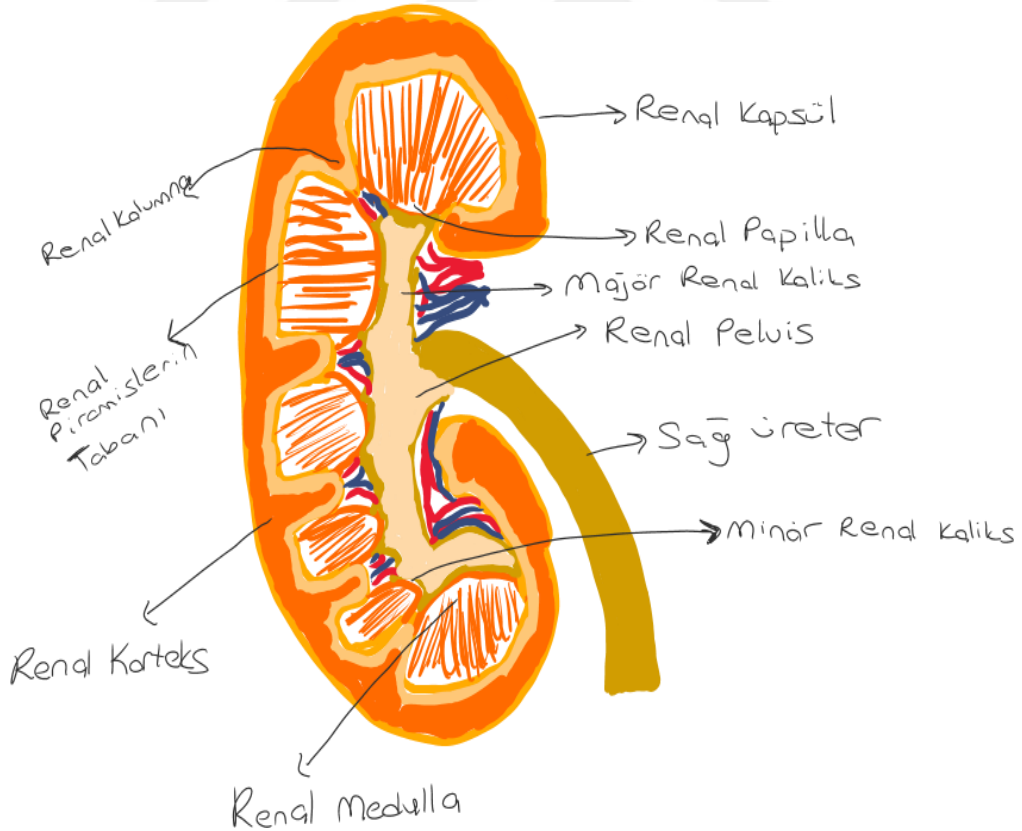
Batın içerisinde retroperitoneal olarak bulunurlar ve T12 ile L3'ün transvers çıkıntıları seviyesi arasında yer alırlar. Üst kutupların her ikisi de genellikle alt kutuplara göre hafif medial ve posterior yönelimlidir.Böbrek üst kutupları laterale doğru yönelmişse, bu bir at nalı böbrek düşündürebilir. Ayrıca, karaciğer sebebiyle sağ böbrek genellikle sol böbreğe göre daha aşağı konumdadır(4).

Böbrek iki bölgeden oluşur(Şekil 2.1): Korteks ve medulla. Korteks renal korpüsküller, düz tübüller, toplayıcı tübüller, kıvrımlı tübüller, toplayıcı kanallardan oluşur. Düz tübüller ve toplayıcı kanallardan oluşan medüller ışınlar medulladan kortekse uzanır. Medulla ayrıca karşı akım değişim sistemine entegre bir kılcal damar ağı olan vasa rekta'yı da içerir. Medullar piramitler medulladaki tübüllerin toplanmasıyla oluşan konik yapılardır.Tabanları kortekse ve uçları hiluma doğru yönelmiştir. Piramitlerin apekslerindeki papillalar minör kalikslere uzanır ve uçlarındaki toplayıcı kanallar aracılığıyla kribrosa bölgesine boşalır. Bir toplayıcı kanal ve onun drene ettiği nefron grubu lobül olarak adlandırılır(5).

Nefronlar böbreğin işlevsel birimleridir.Yetişkin böbrek başına yaklaşık 2 milyon nefron bulunmaktadır. Afferent bir arteriyol, çift katmanlı bir epitel olan bowman kapsülü ile çevrili glomerül olarak adlandırılan bir kapiller ilmek ağını besleyerek topluca bir renal korpüskülü oluşturur. Bir efferent arteriyol glomerülü drene eder ve renal tübüllerini besleyen vasa rekta haline gelir. Bowman kapsülünün distalinde sırayla: proksimal kıvrımlı tübül, proksimal düz tübül veya henle kulbunun kalın inen kolu, henle kulbunun ince inen kolu, henle kulbunun ince çıkan kolu, distal düz tübül distal kıvrımlı tübül, toplayıcı tübül, kortikal toplayıcı kanal, medüller toplayıcı kanal, papiller kanal, minör kaliks, majör kaliks, renal pelvis ve üreter.

Tübüller kortekste başlar, medullaya iner. Henle halkasının ince kolunda bir dönüş yapar ve orijinal renal korpüskülün yakınında kortekse doğru yükselir(6,7).

Renal korpüskülün glomerüler filtrasyon bariyeri, glomerüler kapillerlerin fenestralı endoteli, glomerüler bazal membran (GBM) ve kapillerlerin etrafında uzanan podositleri içeren bowman kapsülünün viseral tabakasından oluşur. Podositlerden uzanan yapılar birleşerek aralarında filtrasyon yarıkları adı verilen ve yarık diyaframı tarafından kaplanan boşluklar bırakır. GBM lamina rara eksterna, lamina rara interna ve lamina densa'dan oluşur. Bowman kapsülünün parietal tabakası basit skuamöz epitelden oluşur. Visseral tabakadan bowman boşluğu ile ayrılır. Mesangial hücreler kapillerlerin dışında renal korpüskül boyunca bulunur. Jukstaglomerüler aparat, renal korpüskülün dışındaki özelleşmiş mezangial hücreler, jukstaglomerüler hücreler ve makula densadan oluşur. Kalın çıkan uzuv orijinal glomerülüne geri döner ve makula densa olarak adlandırılan afferent arteriyolü çevreleyen özelleşmiş hücreler oluşturur(7-9).



Şekil 2.1. Renal Anatomi

2.1.2. Böbrek Fonsiyonu

Böbrekler, amonyak ve üre gibi atık ürünlerin atılması, elektrolit regülasyonu ve asit-baz dengesi dahil olmak üzere birçok önemli işlevi yerine getirir. Kan basıncının kontrolünde ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi aracılığıyla intravasküler hacmin korunmasında hayati bir rol oynarlar. Amino asitlerin, elektrolitlerin, kalsiyum, fosfat, su ve glukozun geri emiliminden ve kalsitriol ve eritropoietin hormonlarının salgılanmasından sorumludurlar(5-7).

2.1.3. Böbreğin Kanlanması

Böbrekler kanı, doğrudan abdominal aorttan dallanan sol ve sağ renal arterlerden alır. Böbrekler yetişkin insanda kardiyak output'un yaklaşık %20-25'ini alır(10-12).

Her renal arter segmental arterlere dallanır ve daha sonra renal kapsülü delen ve renal piramitler arasındaki renal kolonlardan uzanan interlober arterlere ayrılır. İnterlober arterler daha sonra korteks ve medulla sınırından geçen arkuat arterlere kan sağlar. Her arkuat arter, glomeruli'yi besleyen aferent arteriollere beslenen birkaç interlober arteri besler.

Kan böbreklerden en sonunda inferior vena kavaya boşalır. Filtrasyon gerçekleşikten sonra kan, interlobüler venlere birleşen küçük bir damar ağı (venüller) boyunca hareket eder. Arterioller dağılımında olduğu gibi, damarlar da aynı örüntüyü takip eder: İnterlobüler, arkuat venlere kan sağlar ve daha sonra böbrekten çıkan renal venleri oluşturmak üzere gelen interlober venlere geri döner.

2.2. Kontrast Maddeler

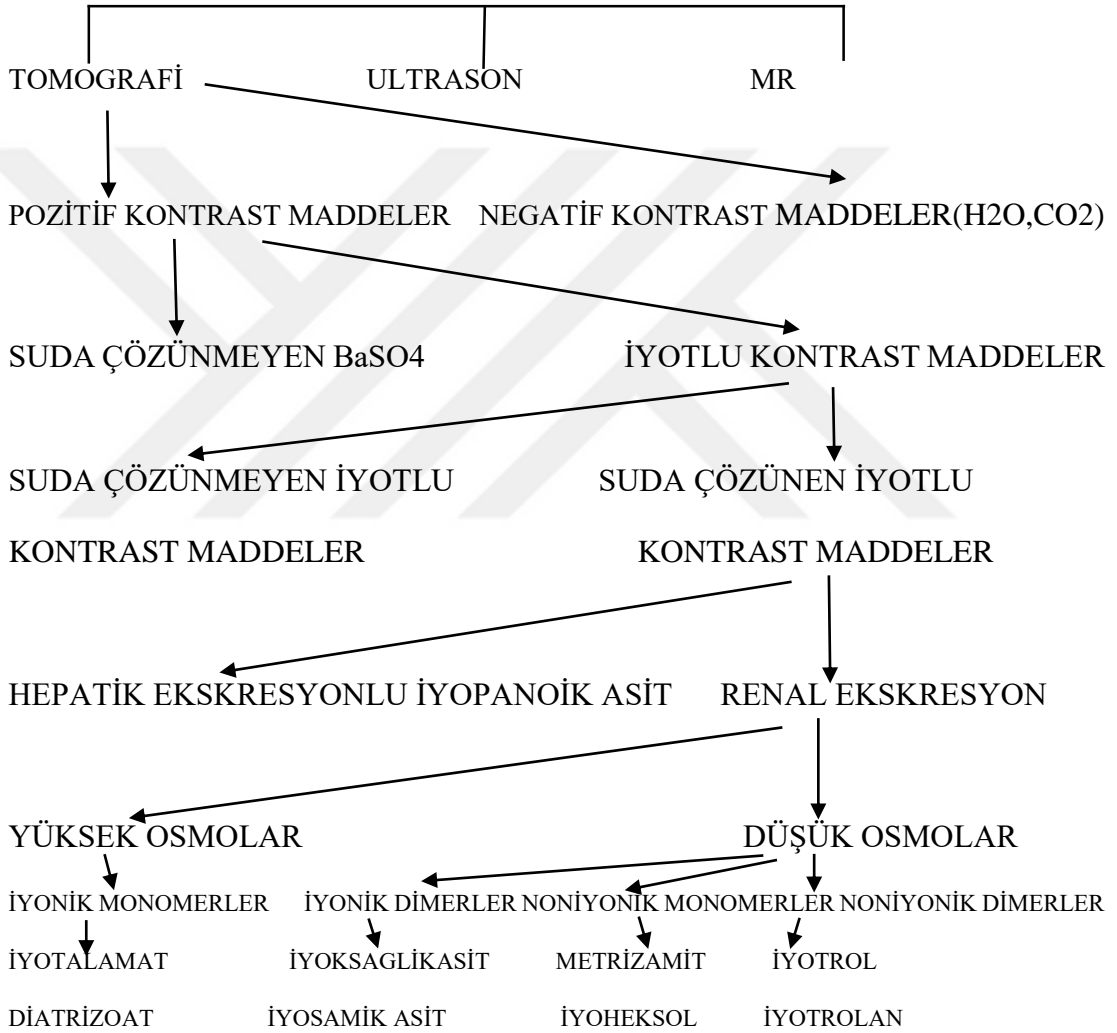
2.2.1. Kontrast Maddelerin Tanımı ve Amacı

Kontrast madde, görüntüleme tekniklerinde vücut dokuları arasındaki farklılıkları görüntülerde artırmak için kullanılır. İdeal kontrast madde, herhangi bir olumsuz etki yaratmadan dokularda çok yüksek konsantrasyona ulaşmalıdır. Ne yazık ki, bu şimdiye kadar mümkün olmamıştır ve tüm kontrast maddelerin olumsuz etkileri vardır(13).

2.2.2. Kontrast Maddelerin Sınıflandırılması

Radyografik kontrast maddeler pozitif ve negatif kontrast ajanlar olarak ikiye ayrılır(Tablo 2.1). Pozitif kontrast maddeler vücut yumuşak dokularından daha fazla X-ışınlarını atenüasyona uğratar ve suda çözünen iyot bazlı ajanlar ve suda çözünmeyen baryum ajanları olarak ikiye ayrılabilir. Negatif kontrast maddeler vücut yumuşak dokularından daha az X-ışınlarını atenüe eder.

Tablo 2.1. Kontrast Maddelerin Sınıflaması

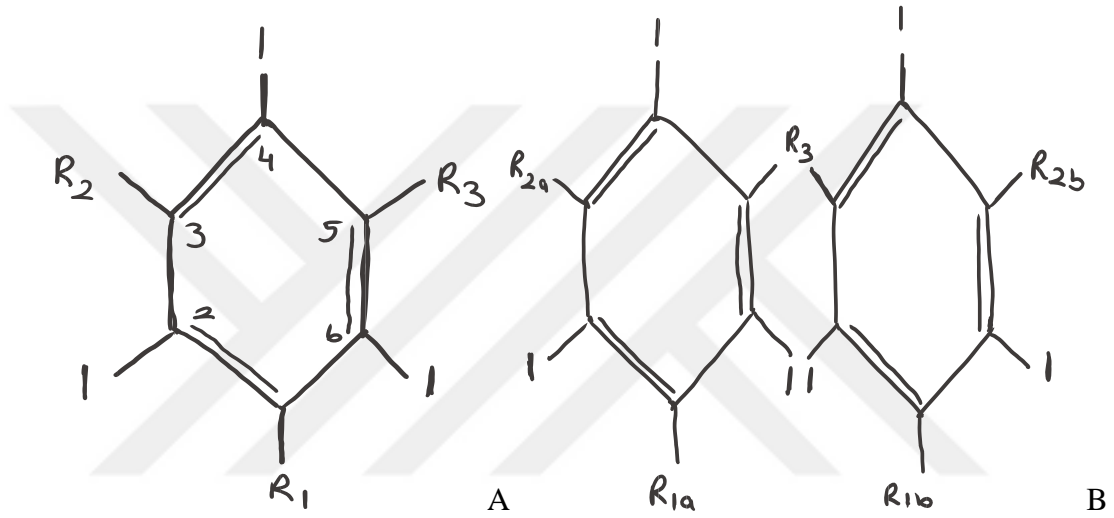


2.2.2.1. İyot Bazlı Kontrast Maddeler

Tüm iyot bazlı kontrast maddeler(İBKM) benzer bir fonksiyon grubuna sahiptir: Üç iyotlu bir benzen halkası (Şekil 2.2). İyot, x-ışınlarının zayıflatılmasında önemli bir rol oynar. Kovalent olarak bağlanmış bir iyot atomunun atom yarıçapı

yaklaşık 133 pikometredir ve bu, x-ışınlarının dalga boyları aralığına girer.10 ila 10.000 pikometre, bu nedenle x-ışınları iyot atomları tarafından kolayca zayıflatılır. Dahası, bir benzen halkasına kovalent olarak bağlanmış 3 iyot atomu 2 önemli avantaj sunar(14).

Bu kadar yakın mesafede bulunan 3 büyük atom, etkili moleküler boyutu artırır, böylece daha uzun dalga boylu x-ışınlarını zayıflatır ve (15) kararlı bir organik fonksiyonel gruba yani, benzene kovalent bağlanma, serbest iyodürden kaynaklanan toksik etki riskini azaltır.



Şekil 2.2. İyotlu Kontrast Maddelerin Temel Moleküler Yapısal Birimi

İBKM'lerin temel moleküler yapısal birimleri. A.Monomerik form. B. Dimerik form. Benzen halkaları 2, 4 ve 6 pozisyonlarında iyot atomları ile bağlı haldedir.Monomerik formda R1 bölgesinde veya dimerik formda R1a bölgesinde karboksilat (-COO-) içeren bir grupla yer değiştirme "iyonik" bileşiklerle sonuçlanır. Aksi takdirde, bu bölgede karboksilat içermeyen fonksiyonel grupla yer değiştirme "noniyonik" bileşiklerle sonuçlanır. R2, R2a, R2b ve R3 bölgeleri karboksilat içermeyen fonksiyonel gruplara sahiptir.

İki büyük kimyasal varyasyon 4 sınıf İBKM ile sonuçlanır (Şekil 2). Bileşikler, organik bir fonksiyonel grupla (yani dimerler) bağlanmış 1 üç iyotlu benzen halkasından (yani monomerler) veya 2 üç iyotlu benzen halkasından oluşur. Ek olarak, iyonik eğilim, organik bir yan zincirde bulunan bir karboksilat (-COO-) fonksiyonel grubunun varlığı (yani iyonik) veya yokluğu (yani iyonik olmayan) tarafından

yönetilir. Tipik olarak, karboksilat kısmı moleküle net bir negatif yük eklediğinden, bu anyonik ajanlar genellikle sodyum, kalsiyum veya metilglukamin katyonlarının tuzları olarak mevcuttur. Bu nedenle, 4 büyük iyotlu kontrast ajan sınıfı (Tablo 2.2) aşağıdaki gibidir:

1) İyonik Monomer: Karboksilat içeren bir benzen ikamesi olan tek üç iyotlu benzen halkası.

2) İyonik Dimer: En az 1 karboksilat içeren grubun en az 1 benzen halkası üzerinde ikame edildiği 2 bağlı üç iyotlu benzen halkası.

3) İyonik Olmayan Monomer: Karboksilat içeren bir benzen ikamesi olmayan tek üç iyotlu benzen halkası.

4) İyonik Olmayan Dimer: Herhangi bir benzen ikamesi içinde karboksilat fonksiyonel grubu içermeyen 2 bağlı üç iyotlu benzen halkası.

Tablo 2.2. İyotlu Kontrast Madde Sınıflaması

İyonizasyon	Polimer	Örnek	Osmolarite
İyonik	Monomer	Diatrizoate	1400-2400 mOsm/L
İyonik	Dimer	Ioxaglot	600 mOsm/L
Noniyonik	Monomer	Isohexol	290-860 mOsm/L
Noniyonik	Dimer	Iodixanol	280 mOsm/L

4 gruptaki İBKM'ler (Tablo 2.3) farklı özelliklere, klinik kullanımlara ve toksisite profillerine sahiptir ve bir dereceye kadar bu farklılıklar radyoloji bölümü tarafından belirli endikasyonlar için hangi tip ajanların kullanıldığını etkiler. Örneğin, yüksüz olan iyonik olmayan ajanların aksine, yüklü iyonik türler hücre zarlarının elektrik potansiyelini bozma eğilimindedir ve bu da artan toksisitelerinden sorumludur (16).

Ayrıca, iyonik monomerler x-ışınlarını zayıflatma konusunda en az yeteneğe sahiptir ve bu nedenle kanla (yaklaşık ozmolarite = 280-290 mOsm/L) karşılaştırıldığında hiperozmolar (yaklaşık ozmolarite = 1500-2000 mOsm/L) olan yüksek konsantrasyonlarda uygulanmaları gerekir. Bu nedenle, iyonik monomerler yüksek ozmolariteli ajanlar olarak da adlandırılır. Düşük ozmolariteli ajanlar arasında ozmolariteleri 290 ila 860 mOsm/L aralığında olan iyonik dimerler ve iyonik olmayan

monomerler bulunur. Noniyonik dimerler kanla izo-ozmolar olup ozmolariteleri 290 mOsm/L'dir.

Tüm İBKM'ler protein düşük bağlanma özelliği gösterir. İntravasküler bölmeden beyin, karaciğer ve böbrek gibi yüksek oranda perfüze organlara dağıtım hızlıdır. Kemik ve yağ gibi daha az perfüze organlara ve dokulara dağıtım ise çok daha yavaştır. Bu nedenle, intravasküler bölmenin yeniden dağıtımının yarı ömrü hala hızlıdır (çoğu ajan için 2-5 dakika). Şu anda, mevcut hiçbir ajan klinik olarak önemli bir metabolizmaya uğramaz çünkü hepsi böbrekler tarafından glomerüler filtrasyon yoluyla önemli bir tübüler reabsorpsiyon olmadan değişmeden atılır(17).

Çoğu ajanın eliminasyon yarı ömrü normal böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda 90 ila 120 dakika aralığındadır ve böbrek yetmezliği olan hastalarda haftalarca sürebilir.

Tablo 2.3. İyot Bazlı Kontrat Maddelerin Sınıflaması

İYONİK MONOMERLER
Diatrizoat İyotalamat İyodamid Metrizoat
NON İYONİK MONOMERLER
İyoheksol İyopamidol İyobitridol İyopentol İyoversol İyomeprol İyopromid İyoksilan
İYONİK DİMERLER
İyoksaglat
İYON-İYONİK DİMERLER
İyodiksanol İyotrolan

Baryumlu Kontrast Maddeler

Gastrointestinal sistemi görüntülemek için kullanılan baryum sülfat preparatları, bağırsaktan emilmeyen çözünmeyen baryum sülfat parçacıklarının bir süspansiyonundan oluşur.

2.2.3. Kontrast Maddelerin Yan Etkileri

Radyografik kontrast maddenin yan etkileri, kaşıntı gibi hafif bir rahatsızlıktan yaşamı tehdit eden acil duruma kadar değişir . Kontrast kaynaklı nefropati (KKN), intravenöz veya intra-arteriyel kontrast madde kullanımıyla ilişkili iyi bilinen bir yan etkidir. Diğer yan etki formları arasında gecikmiş alerjik reaksiyonlar, anafilaktik reaksiyonlar ve kutanöz reaksiyonlar bulunur(18).

2.2.4. Kontrast Madde Yan Etkilerinin Tedavisi

Kontrast maddeye karşı önceki alerjik reaksiyonlar, kontrast maddelere karşı istenmeyen reaksiyonlar geliştirme riskini artırır. Bu tür risk faktörleri olan hastaların kortikosteroid ve difenhidramin ile ön tedavisi, anafilaksi veya yaşamı tehdit eden acil durum dahil olmak üzere alerjik reaksiyon şansını azaltır. İlki için prednizon (kontrast enjeksiyonundan 1,7 ve 13 saat önce oral olarak 50 mg) veya hidrokortizon (kontrast enjeksiyonundan 1 saat önce intravenöz olarak 200 mg) veya metilprednizolon (kontrast madde enjeksiyonundan 2 ve 12 saat önce oral olarak 32 mg) kullanılır. Difenhidramin (kontrast enjeksiyonundan 1 saat önce 50 mg intravenöz/intramusküler/oral olarak) da kullanılır(19).

2.2.5. Kontrast Madde Nefropatisi

2.2.5.1. Kontrast Madde Nefropati Tanımı

KKN,İBKM uygulanmasından sonra oluşan ciddi bir komplikasyondur(20-22).

KKN böbrek fonksiyonunun bozulması olarak tanımlanan, serum kreatinin seviyesinde bazal değerden %25'lik bir artış veya intravenöz kontrast uygulamasından sonraki 48-72 saat içinde bazal serum kreatinin değerinde 0,5 mg/dL'lik bir artış olarak ölçülen bir durumdur(23).

Serum kreatinin genellikle kontrast madde uygulamasından 3-5 gün sonra zirveye ulaşır ve 1-3 hafta içinde başlangıç seviyesine veya başlangıç seviyesine yakın bir seviyeye döner(24).

2.2.5.2. Kontrast Madde Nefropati Risk Faktörleri

Önceden var olan böbrek yetmezliği (glomerüler filtrasyon hızı (eGFR) <60 ml/dak) ve diabetes mellitus en önemli risk faktörleridir. Diğerleri arasında >75 yaş, kontrolsüz hipertansiyon, inotropik gerektiren hipotansiyon, konjestif kalp yetmezliği, anemi, hipotalbüminemi ve karaciğer sirozu bulunur.

Yüksek kontrast hacmi, ozmolalite veya viskozite ve 72 saat içinde kontrast maddeye tekrarlanan maruziyetler bulunur. KKN riskini artırabilecek diğer faktörler arasında diüretiklerin veya nefrotoksik ilaçların (steroid olmayan anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID'ler) ve aminoglikozitler) eş zamanlı kullanımı bulunur(25- 30).

Tablo 2.4. Kontrast Maddeye Bağlı Nefropati İçin Risk Faktörleri

KONTRAST MADDEYE BAĞLI NEFROPATİ İÇİN RİSK FAKTÖRLERİ
1)DEĞİŞTİRİLEMEZ FAKTÖRLER
Kronik böbrek yetmezliği(contrast maddeye bağlı nefropati için major risk faktörü) Böbrek disfonksiyon varlığı(GFR<60 ml/min/1.73 m2),diabetic nefropati,multipl myelom ilişkili nefropati Konjestif kalp yetmezliği Diabet İleri yaş Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu <40%
2)DEĞİŞTİRİLEBİLİR FAKTÖRLER
Dehidratasyon Nefrotoksik ajan kullanımı(amfoterisin B,aminoglikozid..) Yüksek doz kontrast madde Yüksek osmolarlı contrast İyonik kontrast Kontrast maddelerin kısa aralıklarla tekrarı

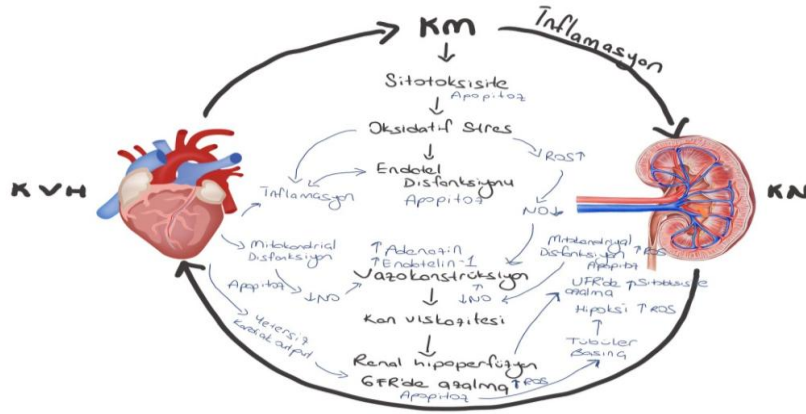
2.2.5.3. Kontrast Madde Nefropati Etyopatogenezi

KKN'nin kesin mekanizması iyi anlaşılmamış olsa da, birkaç mekanizma önerilmiştir(Şekil 2.3).

Vazodilatörlerde (nitrik oksit veya prostaglandinler) azalma veya vazokonstriktörlerde (adenozin ve endotelin) artış nedeniyle renal medulla hipoksisi.

Serbest radikallerin ve oksidatif stresin zararlı etkileriyle ilişkili olabilecek doğrudan kontrast madde toksisitesi. Reaktif serbest radikaller tarafından sitokin kaynaklı inflamatuvar mediatörlerin aktivasyonunun sorumlu mekanizma olduğu düşünülmektedir(31-36).

Ek olarak, apoptozis de KKN gelişiminde rol oynayabilir(37,38).



Şekil 2.3. Kontrast Madde Nefropati ve Kardiyovasküler Hastalık Arasındaki İlişki

2.2.5.4. Kontrast Madde Nefropatisi İçin Tedavi Ve Önlemler

KKN riskini azaltmak için en yaygın strateji kontrast madde maruziyetinden önce düşünülmelidir. Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda, işlemden 6 ila 12 saat önce 1 ml/kg/saat hızında %0,9 normal salin infüzyonu ile IV sıvı başlatılarak ve işlemden sonra devam edilerek hidrasyon sağlanmalıdır.

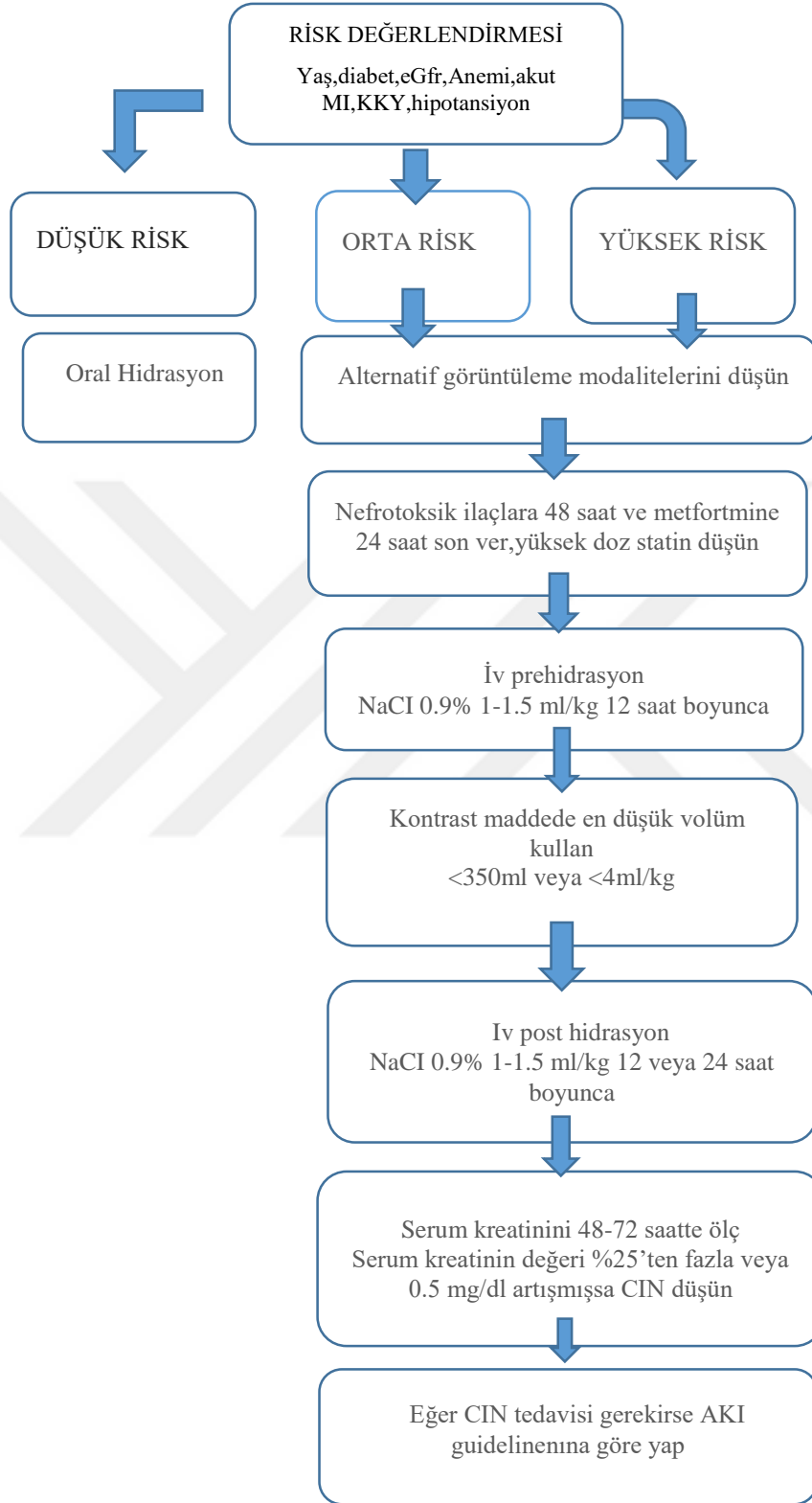
Bikarbonat, serbest radikal hasarını önleyerek renal tübüler sıvıyı alkalileştirir. Bikarbonat ortamı alkalileştirerek serbest radikal hasarına yol açacak olan Harber-Weiss reaksiyonunu yavaşlatır. Ayrıca, peroksinitrit gibi NO'dan reaktif oksijen türlerinin temizlenmesine yardımcı olur.

Bikarbonat, genellikle işlemden bir saat önce 3 mL/kg/saat hızında sodyum bikarbonat infüzyonu olarak verilir ve altı saat boyunca 1 mL/kg/saat hızında devam ettirilir. Ancak, tam süre hala tartışma konusudur. Bazı çalışmalara göre, sodyum bikarbonat ile hidrasyon, tek başına %0,9 normal salin infüzyonundan daha koruyucudur.

Klinik bir çalışmada, kardiyak kateterizasyon geçiren hastalarda sodyum bikarbonatın rutin uygulanmasını haklı çıkaracak anlamlı bir fayda bulunamamıştır. Benzer şekilde, KKN için N-asetilsistein denemesi, kontrast madde kaynaklı nöropati veya diyaliz ihtiyacının önlenmesinde N-asetilsistein ile plasebo arasında bir fark bulamamıştır.

Kontrast madde kullanımından önce hastalara yüksek yoğunluklu statin ile ön tedavi uygulanması uygun görünmektedir. Bir meta-analiz, rosuvastatin ile ön tedavinin, kontrast madde kaynaklı nefropatinin insidansını önemli ölçüde azaltabileceğini gözlemlemiştir. Ancak rosuvastatin, elektif kardiyak kateterizasyon geçiren kronik böbrek hastalığından muzdarip hastalarda kontrast madde kaynaklı nefropatinin önlenmesinde etkili görünmemektedir(39).Aşağıda contrast maddde nefropatisinde uygulanacak algoritma tablo şeklinde verilmiştir.(Tablo 2.5)

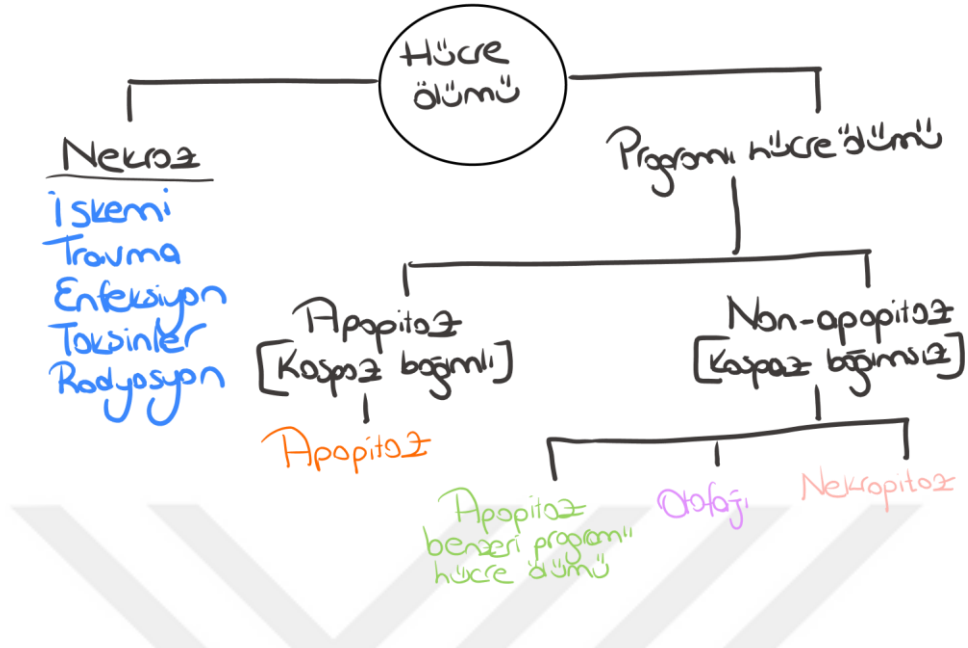
Tablo 2.5. Kontrast Madde Nefropatisinde Uygulanacak Algoritma



2.3. Apoptoz

Hücre ölümü, canlı sistemlerdeki dinamik dengenin kontrolü için temel bir stratejidir ve iki temelde farklı hücre ölümü biçimi, apoptoz ve nekroz tanımlanmıştır(Tablo 2.6). Nekroz, hücre zarının erken bozulmasına ve şiddetli hipoksi/iskemi, aşırı sıcaklık ve mekanik travma gibi şiddetli çevresel bozulmalara yanıt olarak düzenli hücre yapılarının kademeli olarak bozulmasına neden olan pasif bir süreçtir. Buna karşılık, apoptoz veya programlanmış hücre ölümü, sıkı bir şekilde düzenlenen ve korunan enerji gerektiren bir hücre içi mekanizmanın aktivasyonunu içerir . Apoptoz, tipik olarak inflamatuvar değişikliklerin yokluğunda tek hücreleri eş zamanlı olmayan bir şekilde etkiler . Embriyonik dokuların morfogenezinde ve yetişkin organların ve dokuların homeostazında rol oynar. Örneğin, apoptozis fetal ve doğum sonrası gelişim sırasında akciğerin normal yapısal olgunlaşmasına katkıda bulunur . Apoptozis ayrıca organizmayı tehlikeye maruz bırakan hücreleri de ortadan kaldırır. Örneğin, viral olarak enfekte olmuş hücreler veya hasarlı DNA'ya sahip hücreler apoptozisle ortadan kaldırılır. Apoptotik hücreler ilk olarak bir dizi tipik morfolojik değişikliklerle tanımlanmıştır ve morfoloji hala altta yatan sürecin önemli bir deneysel kanıtıdır. Başlangıçta, hücre zarı bütünlüğü korunurken, örneğin fosfatidilserin maruziyeti gibi ince değişiklikler meydana gelir. Apoptotik hücrelerin diğer özellikleri arasında hücresel büzülme, membran kabarması, nükleer kromatin yoğunlaşması ve parçalanma bulunur. Sonunda hücre, fagositler (makrofajlar ve dendritik hücreler) tarafından in vivo yutulan zarla çevrili parçalara (apoptotik gövdeler) ayrılır(40).

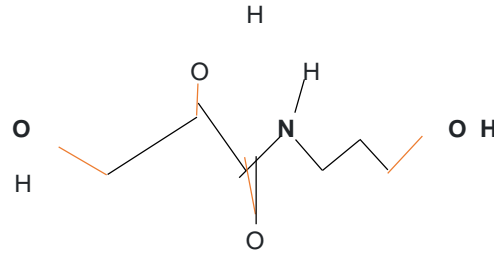
Tablo 2.6. Hücre Ölümü ve Alt Başlıkları



2.4. Dekspantenol

2.4.1. Dekspantenolün Kimyası

Dekspantenol, B kompleks vitaminlerinin bir bileşeni ve normal şekilde işleyen bir epitelin temel bir bileşeni olan pantotenik asidin bir alkol türevidir (Şekil 2.4). Dekspantenol, epiteldeki protein metabolizması için önemli olan birçok enzimatik reaksiyonda bir kofaktör görevi gören Koenzim A'nın temel bir bileşeni olan pantotenik asidi oluşturmak üzere enzimatik olarak parçalanır(41).



Şekil 2.4. Dekspantenol Moleküler Yapısı

2.4.2. Dekspantenolün Etkileri

İyi penetrasyonu ve yüksek lokal konsantrasyonları nedeniyle, dekspantanol, kaşıntıyı gidermek ve iyileşmeyi desteklemek için dermatolojik durumların tedavisi için merhemler ve losyonlar gibi birçok topikal üründe kullanılır. Dekspantenolün topikal kullanımının dermatolojik etkileri arasında fibroblast proliferasyonunun artması ve yara iyileşmesinde hızlandırılmış yeniden epitelizasyon bulunur. Ayrıca, topikal bir koruyucu, nemlendirici olarak etki eder ve anti-inflamatuar özellikler göstermiştir(42).



3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Planı

-SDÜ Deney Hayvanlarından temin edilecek 32 adet dişi Wistar Albino cinsi 300-350 gr arası ratlarla çalışıldı.

-Deney hayvanları her grupta 8 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı:

(I) Kontrol grubu; İntraperitoneal (i.p.) olarak sağ inguinal bölgeden 1 ml serum fizyolojik (SF) 3 gün boyunca uygulandı. Ayrıca sadece 3. gün sol inguinal bölgeden 3-4 ml SF i.p. olarak uygulandı.

(II) RCM grubu; 1 ml SF 3 gün boyunca günde bir kez i.p uygulandı, deneyin üçüncü günü tek doz 10 ml/kg Urografin i.p. verildi(43).

(III) RCM+DEKS grubu; 3 gün boyunca her gün, günde bir kez 500 mg/kg DEKS (BEPANTHEN® 500mg/2ml Ampul) i.p. uygulandı. Deneyin üçüncü günü DEKS uygulamasından 30 dakika sonra 10 ml/kg i.p. Urografin uygulandı (44).

(IV) DEKS grubu; 3 gün boyunca her gün günde bir kez 500 mg/kg DEKS i.p. uygulandı. Ayrıca sadece 3. gün sol inguinal bölgeden 3-4 ml SF i.p. uygulandı.

RCM uygulamasından 24 saat önce tüm ratlara su kısıtlaması uygulandı. Son ilaç uygulamasından 24 saat sonra bütün ratlara 90 mg/kg Ketamin ve 8-10 mg/kg Xylazin anestezisi uygulandı. Anesteziyi takiben abdominal insizyon yapılan ratların kanlar Vena Cava İnferiordan alınarak cerrahi egzanguinasyon yöntemi ile ötenazi yapıldı. Ratların böbrek dokuları alındı. Böbrek dokularının yarısı eşit porsiyonlanarak ependorf tüplerine konuldu. Porsiyonların birisi biyokimyasal analizler için -20°C'ye, diğeri genetik analizler için -80°C 'ye kaldırıldı. Dokuların diğeri yarısı ise histopatolojik olarak Hematoksilen Eozin boyama, immunhistokimyasal olarak TNF- α , Caspase 3 gibi inflamatuvar ve apoptotik parametrelerin değerlendirilmesi için %10'luk formaldehit içerisinde koyuldu. TAS, TOS, OSI biyokimyasal olarak spektrofotometrik yöntem ile bakıldı. SIRT 1, p53, Bcl2/Bax gibi hücre içi yolların gen ekspresyon incelenmesi için qRT-PCR yöntemi uygulanmak üzere ilgili birime iletildi. Kanda ise kan üre azotu (BUN) ve kreatinin düzeyleri incelendi. Histopatolojik analizler bir medikal firmadan hizmet alımı şeklinde yapıldı.



Resim 3.1. Ratlara Enjeksiyon Yapılırken



Resim 3.2. Ratların Böbrek Dokuları Ekarte Edilirken

3.2. Histopatolojik Değerlendirme

Böbrek doku örnekleri %10' luk tamponlu nötral formaldehit solüsyonu ile tespit edildi. Böbrek doku örneklerden fiksatorün uzaklaştırılabilmesi için dokular 6-8 saat akarsu altında bırakılarak yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkamanın ardından dokular, rutin histolojik doku takip basamaklarından geçirildi ve dokular parafin içerisinde bloklandı (Tablo 3.1). Bloklardan mikrotom ile 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Böbrek dokusunun genel histolojisinin görüntülenmesi için Hematoksilen-Eozin ile boyanarak incelendi (Tablo 3.2). Tüm preparatlar Eclipse E-600 Nikon, Japan fotomikroskopta ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Nikon, Japan) ile incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

Histopatolojik incelemelerde atrofik glomerül ve renal cisimcikler, kolajenöz madde birikimi, mononükleer hücre infiltrasyonu, piknotik çekirdek, proksimal ve distal tübüllerde dilatasyon, tübüllerde atrofiye göre skorlamalar 20'lik objektif altında yapıldı ve değerlendirme için 0-3 arasında değerler kullanıldı. Elde edilen sonuçlar istatistik analizler ile değerlendirildi.

Tablo 3.1. Doku Takibi Protokolü

Uygulama	Süre
%70'lik alkol	1 saat
%80'lik alkol	1 saat
%96'lık alkol	30 dk
%100' lik alkol	30 dk
Ksilol-alkol	30 dk
Ksilol-I	1 saat
Ksilol-II	1 saat
Parafin (60°C etüvde eriyen sert parafin)	4 saat
Blok gömme	

3.3 Hematoksilen- Eozin Boyama

Histokimyasal analizler için 5 µm kalınlığında kesilen örnekler, parafinin uzaklaştırılması için 3 saat süreyle 60°C'de bir etüvde bekletildi. Parafinin uzaklaştırıldıktan sonra kesitler tablodaki protokole göre boyandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

Uygulama	Süre
Ksilol	30 dk
Ksilol-alkol	30 dk
%100 alkol	5 dk
%96'lık alkol	5 dk
%80'lik alkol	5 dk
%70'lik alkol	5 dk
Distile su	1 dk
Hematoksilen	3 dk
Asit+Alkol	10 sn
Yıkama (akarsu)	10 dk
Eozin	2 dk
Distile su	5 dk
%70'lik alkol	1 dk
%80'lik alkol	1 dk
%96'lık alkol	1 dk
%100'luk alkol	1 dk
Ksilol	30 dk
Kapatma (entellan)	

3.4. İmmunohistokimyasal Analiz

İmmunohistokimyasal yöntemle inceleme yapmak için parafin bloklardan histopatolojik inceleme için kesitler alınırken 3 seri kesitte kesitler polilizinli lamalara alındı. Parafin bloklardan 5µ kalınlığında kesitler alındıktan sonra 45⁰C sıcaklıktaki etüvde bir gece boyunca tutularak kesitlerin lam üzerine daha iyi yapışması ve kuruması sağlandı. Daha sonra ksilolde 10 dk bekletildi ve azalan alkol serilerinden (%100-%96-%90-%80-%70) geçirilerek distile su içerisine alındı. İmmunohistokimyasal inceleme için Kaspaz-3 ve TNF-α antikorları oda sıcaklığına alındı ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlandı. TNF-α (sc-52746, Santa Cruz) antikoruna için 1:100 dilüsyon yapılırken, Kaspaz-3 (FNab01289, Fine Test) antikoruna için 1:200 dilüsyonu yapıldı. TNF-α ve Kaspaz-3 ekspresyonlarının değerlendirilmesi için streptavidin-biyotin kompleks peroksidaz yöntemi kullanılarak boyandı. Kesitler sitrat tamponunda mikro dalgada orta seviyede 2x5 dk tutuldu (Ph:6). Daha sonra oda sıcaklığına alınarak soğutulması sağlandı. Soğuyan kesitler fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile 3x5 dk yıkandı. Endojen peroksidaz aktivitesini yok etmek amacıyla H₂O₂ (TA-060-HP, Lab Vision Corporation)'de 20 dk bekletildi. PBS ile 3x5 dk yıkandı. Ultra V Block (TA-125-UB, Thermo Scientific) solüsyonu ile 5 dk muameleden sonra üzerine primer antikorlar; TNF-α (sc-52746, Santa Cruz) ve Kaspaz-3 (FNab01289, Fine Test) damlatıldı ve 60 dk. inkübe edildi. Kesitler tekrar PBS ile 3x5 dk yıkandı ve sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent TP-125-BN, Thermo Scientific) damlatılarak 30 dk bekletildi. Kesitler PBS ile 3x5 dk yıkandı ve Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz) (TS-125-HR, Thermo Scientific) ile 30 dk oda ısısında inkübe edildi. Kesitler PBS ile 3x5 dk yıkandı ve DAB (3,3'-diaminobenzidine) (TA-125 HD, Thermo Scientific) solüsyonundan sonra Harris hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular entellan ile kapatıldı. Tüm preparatlar Eclipse E-600 Nikon, Japan fotomikroskopta ve görüntü analiz sistemi (NIS Elements Nikon, Japan) ile incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmün boyanmanın şiddeti (0, -) negatif boyanma, (1, +) fokal ve zayıf boyanma, (2, ++) yaygın ve normal boyanma ve (3, +++) yoğun ve güçlü boyanma olacak şekilde semi-kantitatif olarak skorlandı. Skorlara istatistiksel analiz yapılarak gruplar arasındaki fark değerlendirildi. İmmunohistokimyasal skorlamalar için Image J 1.46r (National Institutes of Health, Bethesda MD) programı kullanıldı.

Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA İzolasyonu

Elde edilen dokular DNaz/RNaz ve pirojen içermeyen önceden etiketli ependorf tüplerine konularak prosedür uygulanıncaya kadar -80°C de derin dondurucuya kaldırılmıştır. Çalışma gününde oda ısısına getirilen doku örnekleri örnekleri üzerine 1000 µL Geneall RiboExT^M solüsyonu (Seul/Kore) konularak sonikatörde düşük hızda homojenize edildi. RNA izolasyonu GeneAll Ribospin RNA izolasyon kiti (Seul/Kore) ile aşağıdaki protokole uygun olarak yapıldı.

1. Homojenize edilen örnekler oda ısısında 2 dk inkübe edildi ve üzerlerine 200 µL kloroform ilave edilerek 15 sn vortekslendi.

2. Süpernatanın üzerine %70 lik etanolden 1-1 hacimde olacak şekilde eklendi ve santrifüj edilmeden pipetajla karıştırıldı.

3. Karışım 12.000 g'de 15dk santrifüj edilir. Bu adım sonunda üç faz oluştu:

Alt faz (Renkli)

Orta faz (İnce Beyaz Opak)

Üst faz (Renksiz Şeffaf)

4. En üst şeffaf faz (yaklaşık 450 µl) pipetle dikkatlice alınıp EzPure Filtresine (Sarı Renkli) aktarıldı. 10.000 g'de 30 sn santrifüjlendi.

5. Spin kolondan geçen sıvı boşaltıldı ve geri kalan Lizat+RBI karışımı da Mavi Renk Type W spin kolona tekrar aktarıldı.

6. 10.000 g'de 30 sn santrifüjlenip Spin kolondan geçen sıvı uzaklaştırıldı.

7. Spin Kolon üzerine 500 µl RBW ilave edilip, 10.000 g 'de 30sn santrifüjlendi ve alta geçen sıvı atıldı.

8. Spin kolon üzerine 500 µl RBN ilave edilip, 10.000 g 'de 30 sn santrifüj sonrasında alta geçen sıvı atıldı.

9. Spin kolonda kalabilecek alkolün tamamının uzaklaşması için 11.000 g de 3 dk santrifüj edildi.

10. Spin kolon yeni 1,5mL lik DNaz/RNaz ve pirojen içermeyen ependorf tüplere aktarıldı ve üzerine 30 µl RNAase-free su ilave edildi.

11. 2 dk oda sıcaklığında bekletilip 10.000 g'de 30 sn santrifüj edilerek RNA örnekleri elde edildi.

Elde edilen RNA örnekleri cDNA sentezinde kullanılmak üzere nanodrop cihazı ile miktar ve saflık tayini yapılmıştır. 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilen ölçümlerin birbirine oranı (260 nm / 280 nm) RNA saflığını göstermektedir. Saflığı 1,8-2,0 arasında olan RNA numularının miktar tayinleri cDNA sentezinde kullanılmak üzere not edilmiş, saflığı bu oranlar dışında olan örneklerin RNA'ları tekrar izole edilmiştir. İzole edilen her bir RNA örneğinin konsantrasyonu 1000 ng/µl'de standardize edilmiş ve cDNA sentez aşamasında kullanılmak üzere -80° C'ye kaldırılmıştır.

cDNA Sentezi

cDNA sentezi, A.B.T.™ cDNA Sentez Kit (Atlas Biyoteknoloji, Türkiye) protokolüne göre termal döngü cihazında gerçekleştirilmiştir. Her örnek için total reaksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde 0.2 ml'lik PCR tüplerine buz üzerinde aşağıdaki konsantrasyonlarda karışım hazırlanmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. 20 µl Revers Transkriptaz Reaksiyon Karışımı

10X reaksiyon tamponu	2 µl
dNTP karışımı (2.5 mM)	1 µl
Random hekzamer (50 µM)	2 µl
Revers Transkriptaz (200 U/µl)	1 µl
RNaz inhibitör	0.5 µl
RNaz içermeyen su	3.5 µl
RNA örneği	10 µl

Hazırlanan karışım termal döngü cihazına (Thermo scientific/USA) yerleştirilmiş ve aşağıdaki kit protokolü kullanılmıştır (Tablo 3.4). Elde edilen cDNA'lar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.4. Revers Transkriptaz Termal Döngü Protokolü

RT basamakları	Sıcaklık °C	Süre	Siklus
1. Basamak	25	10 dak	1
2. Basamak	37	120 dak	1
3. Basamak	85	5 dak	1
4. Basamak	4	∞	1

Primer Tasarımı ve Hazırlanması

Primer tasarımları, NCBI internet sitesi kullanılarak spesifik mRNA dizilimlerinin saptanması ve olası primer dizilimlerinin denenmesi ile yapılmıştır. Ekspresyon aşamasında kullanılan genler ve spesifik primer dizilimleri Tablo 3.5'te verilmiştir.

Dizaynı yapılan primerler ticari olarak sentezletirilmiş, liyofilize olarak temin edilmiştir ve DNaz/RNaz ve pirojen içermeyen, ticari olarak satılan hazır steril su ile stok 100 µM olacak şekilde sulandırılmıştır. Daha sonra stok primer solüsyonu kantitatif gerçek zamanlı PCR prosedüründe, kit üreticisi firmanın talimatlarına göre son hacimde 500 nM olacak şekilde tekrar sulandırılmıştır.

Tablo 3.5. Genler ve Genlere Ait Spesifik Primer Dizilimleri

Gen	Spesifik Primer Dizilimi Forward (F)-Revers (R)	Ürün uzunluğu	Erişim Nosu
SIRT1	F: GGTAGTTCCTCGGTGTCCT	152 bp	NM_001414959.1
	R: ACCCAATAACAATGAGGAGGTC		
P53	F: CTCCTCTCCCAGCAAAAG	151 bp	NM_001429996.1
	R: CCTGCTGTCTCCTGACTCCT		
BCL2	F: CATCTCATGCCAAGGGGGAA	284 bp	NM_016993.2
	R: TATCCCACTCGTAGCCCCTC		
BAX	F: CACGTCTGCGGGGAGTCAC	419 bp	NM_017059.2
	R: TAGAAAAGGGCAACCACCCG		
GAPDH (HouseKe eping)	F: AGTGCCAGCCTCGTTCATA	248 bp	NM_017008.4
	R: GATGGTGATGGGTTTCCCGT		

Ekspresyon seviyelerinin ölçülmesi

Ekspresyon seviyeleri A.B.T.TM cDNA Synthesis Kit with RNase (Atlas Biyoteknoloji/ Türkiye) kitleri kullanılarak Biorad CFX96 (California/USA) gerçek zamanlı PCR cihazında ölçülmüştür. cDNA sentezi yapılan örnekler çalışmadan 10 dakika önce +4°C'de ki blok üzerine alınarak bir süre bekletilmiştir. Çalışmada GAPDH geni housekeeping gen olarak kullanılmış ve normalizasyon için bu genin Ct değerleri kullanılmıştır. Cihazda 0.1 ml'lik pcr tüpleri kullanılmış reaksiyon son hacmi 20 µL olarak ayarlanmıştır. Reaksiyon karışımı üretici protokolüne göre aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (Tablo 3.6). Reaksiyonun cihaza yüklemekten başlamasını engellemek için prosedür buz üzerinde sürdürülmüştür.

Tablo 3.6. PCR Reaksiyon Karışımı

	Hacim	Final konsantrasyon
A.B.T. TM 2X qPCR SYBR-Green MasterMix (without ROX)	10 µl	1X
Forward Primer (10 µM)	1 µl	1 µM
Reverse Primer (10 µM)	1 µl	1 µM
cDNA	2 µl	2 µl
DNaz/RNaz içermeyen su	6 µl	6 µl

Elde edilen reaksiyon karışımı kit üreticisinin protokolüne göre belirlenen termal döngü (Tablo 3.7) ile gerçek zamanlı qPCR cihazına yerleştirilmiş ve her bir örnek 3 tekrarlı olarak çalışılmıştır.

Tablo 3.7. Gerçek Zamanlı PCR Döngüsü

PCR basamakları	Sıcaklık (°C)	Süre	Siklus
Başlangıç denaturasyonu	95	300 sn	1
Denaturasyon	95	15 sn	40
Primer bağlanması / Uzama	60-65	30 sn	
Melt-Curve Analizi	65-95	2-5 sn/basamak	1

Elde edilen Ct değerleri ekspresyon seviyesinin değerlendirilmesi için her bir örnek ve grup için ayrı ayrı not edilmiştir. Normalize edilen örneklerin verilerine $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü uygulanmış ve elde edilen ham veriler kullanılacak olan istatistik çalışmasına uygun hale getirilmiştir,

3.5. Biokimyasal Analiz

Numunelerin Alınışı ve Hazırlanması:

Ratlardan alınan venöz kan örnekleri biyokimya tüplerine alındıktan sonra Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda 3000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum numuneleri eppendorf tüplerine ayrılarak -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Sıçanların böbrek dokuları ise pH 7.4 olan fosfat tamponu ile dolu cam tüplere konuldu. Her bir doku tartılarak fosfat tamponu ile 10 kat dilue edildi. Janke & Kunkel Ultraturax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ile ve daha sonra UW-2070 Bandelin Electronic (Almanya) marka sonikatör ile homojenizasyon tamamlandı. Doku rnekleri, Eppendorf 5415-R (Almanya) santrifüj ile 10000 devir/dk, 10 dk. santrifüj edilerek ve süpernatantı alınarak eppendorf tüplerinde çalışma zamanına kadar saklandı.

Serum Parametrelerinin alıřma Prensipleri:

Serum re ve kreatinin düzeyleri Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, ABD) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntemle lld.

TAS ve TOS Seviyelerinin alıřma Prensipleri

Örneklerdeki TAS(Total antioksidan kapasitesi) düzeyleri, Rel Assay ticari kitler kullanılarak belirlenmiştir. Ölüm yöntemi, tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini indirgemesi ve renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması prensibine dayanmaktadır. Kalibratör olarak E vitamininin suda znr bir analog kullanılmıştır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/gr protein olarak ifade edilmiştir (45).

Örneklerdeki TOS (Total oksidan kapasitesi) düzeyleri, Rel Assay ticari kitler kullanılarak belirlenmiřtir. Bu lm testi için, örnekteki oksidan moleküllerin

miktarını belirlemek amacıyla moleküllerin ferroz iyonunu ferrik iyon kümülatif olarak oksitlemesine dayanan bir kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/gr protein olarak ifade edilmiştir (46).

OSİ Hesaplanması

Örneklerden OSİ(Oksidatif stres indeksi) hesaplanırken TAS değerleri 10 ile çarpılarak TOS ile birimler eşitlendi. Daha sonra aşağıdaki formül kullanılarak OSİ hesaplanmıştır (47). Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edilmiştir.

$$\text{OSİ} = \left[\frac{(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS}, \text{mmol trolox Equiv. / L.})} \right] \times 100$$

Kullanılan malzeme ve cihazlar

1. Derin dondurucu : Kirsch Bosch -80°C (Almanya)
2. Santrifüj cihazı : Nüve NF 1200 R model soğutmalı (Türkiye)
3. Otomatik pipetler : Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
4. Vorteks cihazı : Nüve NM 100 (Türkiye)
5. Janke & Kunkel Ultraturrax T-25 (Almanya) homojenizatör
6. UW-2070 Bandelin Electronic (Almanya) sonikatör
7. Beckman Coulter AU5800 Biyokimya Otoanalizörü (Beckman Coulter, ABD)
8. Santrifüj cihazı : Eppendorf 5415 R eppendorf (Almanya)

4. BULGULAR

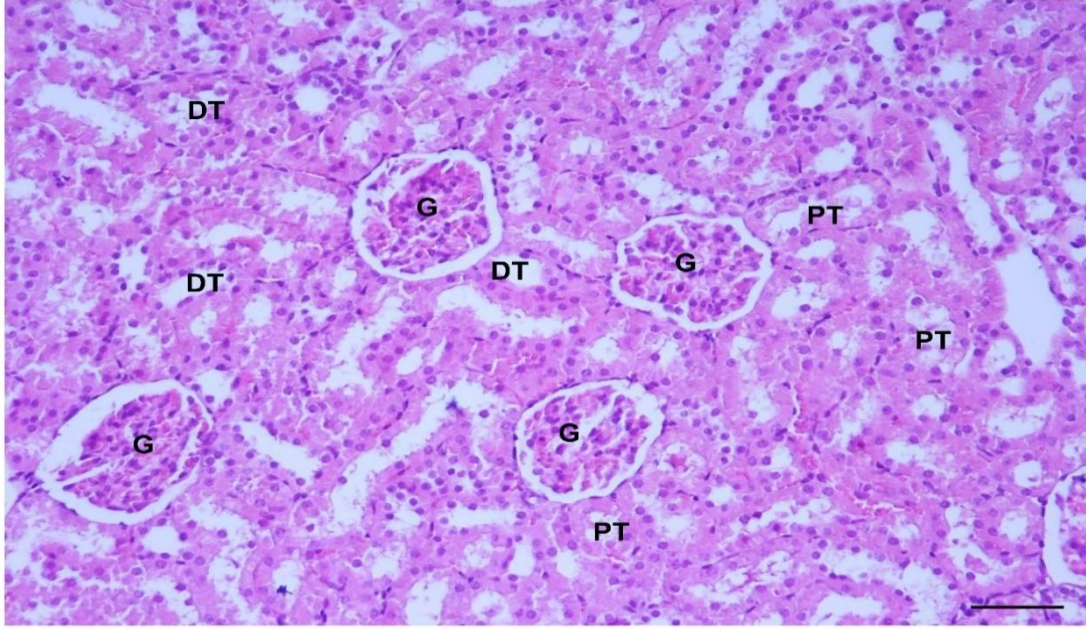
4.1. Histopatolojik İncelemeler

Tablo 4.1. Böbrek Hasarının Histolojik Skor Tablosu

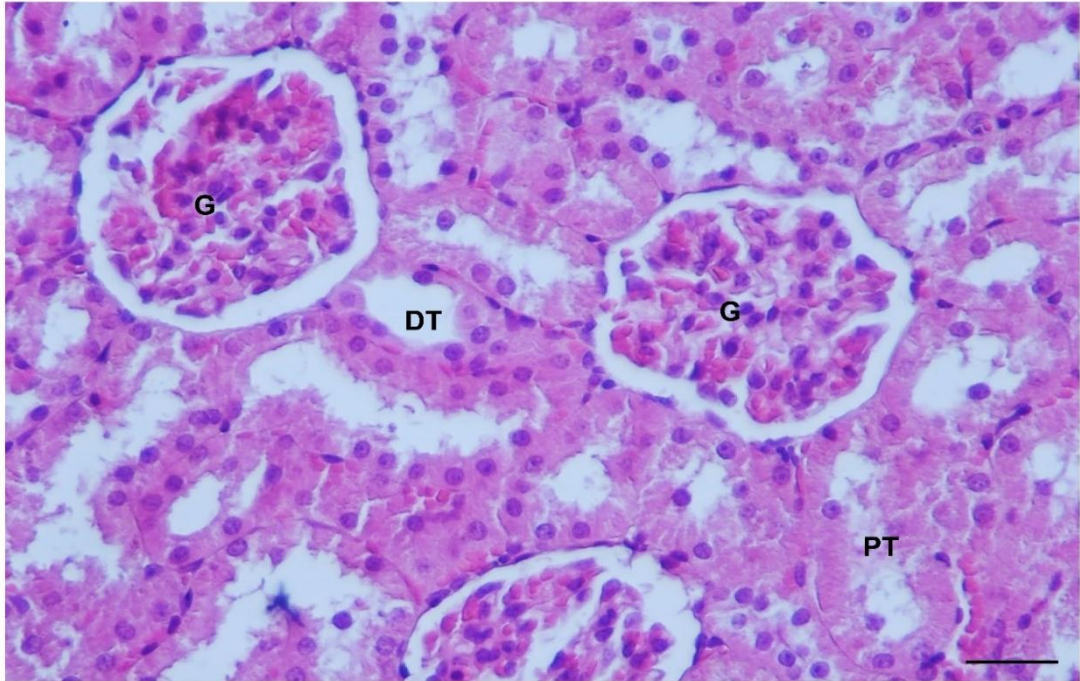
	KONTROL	RKM	RKM+DEKS	DEKS
Atrofik glomerül ve renal cisimcikler	0	2	1	0
	0	2	2	0
	0	2	2	0
	0	1	1	0
	0	2	1	0
	0	2	2	0
	0	1	1	0
	0	1	1	0
Kolajenöz madde birikimi	0	2	1	0
	0	2	0	1
	0	1	0	0
	0	1	0	0
	0	1	1	0
	0	2	1	0
	0	2	0	0
	0	1	0	0
Tübüllerde dilatasyon	1	3	2	0
	0	3	2	0
	0	3	2	0
	0	3	2	0
	1	2	2	0
	0	3	3	0
	0	3	3	1
	0	3	2	0
Atrofik tübüller	0	2	2	0
	0	2	2	0
	0	1	1	1
	0	2	1	0
	0	2	2	0
	0	1	1	0
	0	2	1	0
	0	2	1	0
Mononükleer hücre infiltrasyonu	0	1	3	0
	0	1	3	0
	0	1	3	0
	0	2	3	0
	0	1	3	0
	0	1	2	0
	0	2	3	1
	0	1	2	0
Piknotik çekirdekler	0	1	1	0
	0	1	2	0
	0	2	2	0
	0	2	1	0
	0	2	2	0
	0	1	2	0
	0	1	1	0
	0	1	2	0

Yukarıda (Tablo 4.1)böbrek hasarının histopatolojik skor tablosu verilmiştir.

Kontrol grubundaki tüm rat böbrek dokularının normal doku histolojisine sahip olduğu gözlemlendi (Resim 4.1 ve 4.2).

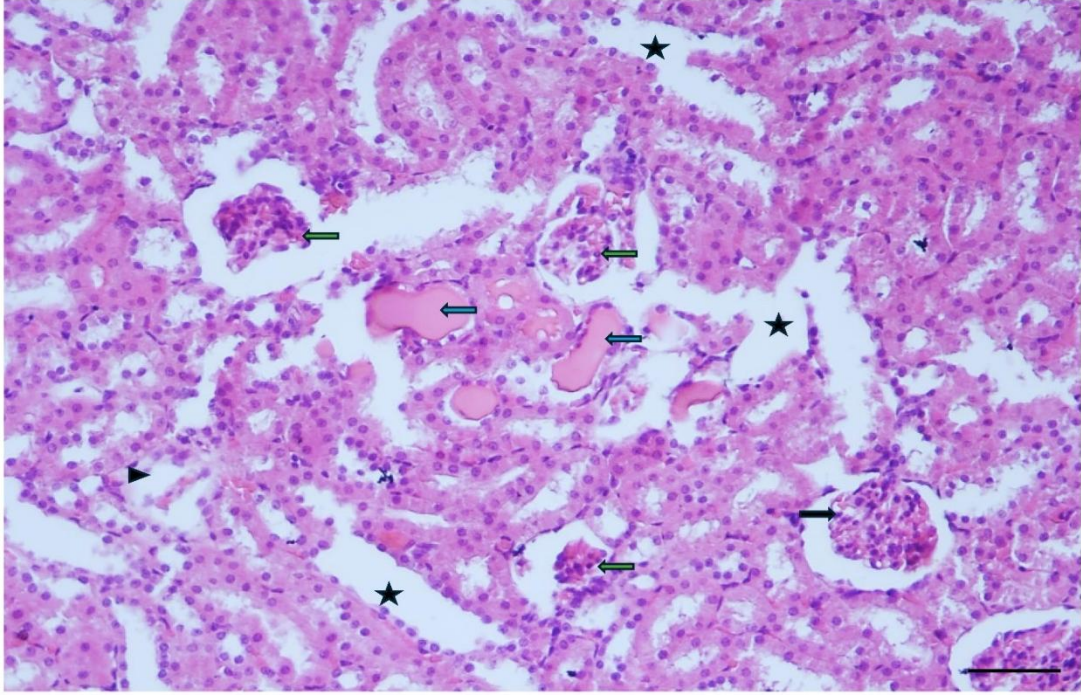


Resim 4.1. Kontrol Grubundaki Bir Ratın Normal Böbrek Görünümü
(HE, X20)



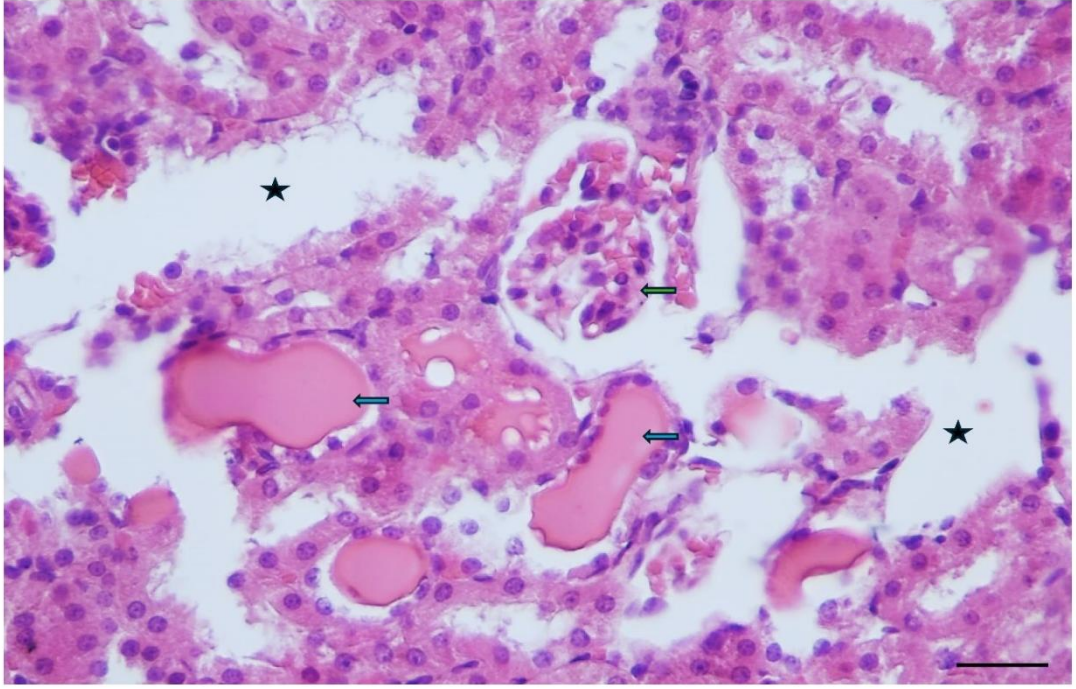
Resim 4.2. Kontrol Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Normal Görünümü
(HE, X40)

RKM grubundaki bütün sıçanların böbreklerinde kolajenöz madde birikimi, tübüllerde dilatasyon ve atrofi, mononükleer hücre infiltrasyonu ve atrofik glomerül, renal cisimcikler gözlemlendi(Resim 4.3 ve 4.4).



Resim 4.3. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü

(HE, X20).(Normal görünümlü glomerül ve renal cisimcik: Siyah ok, atrofik glomerül ve renal cisimcikler: Yeşil ok, kolajenöz madde birikimi: Mavi ok, tübüllerde dilatasyon: Siyah yıldız, atrofik tübüller: Siyah ok başı)

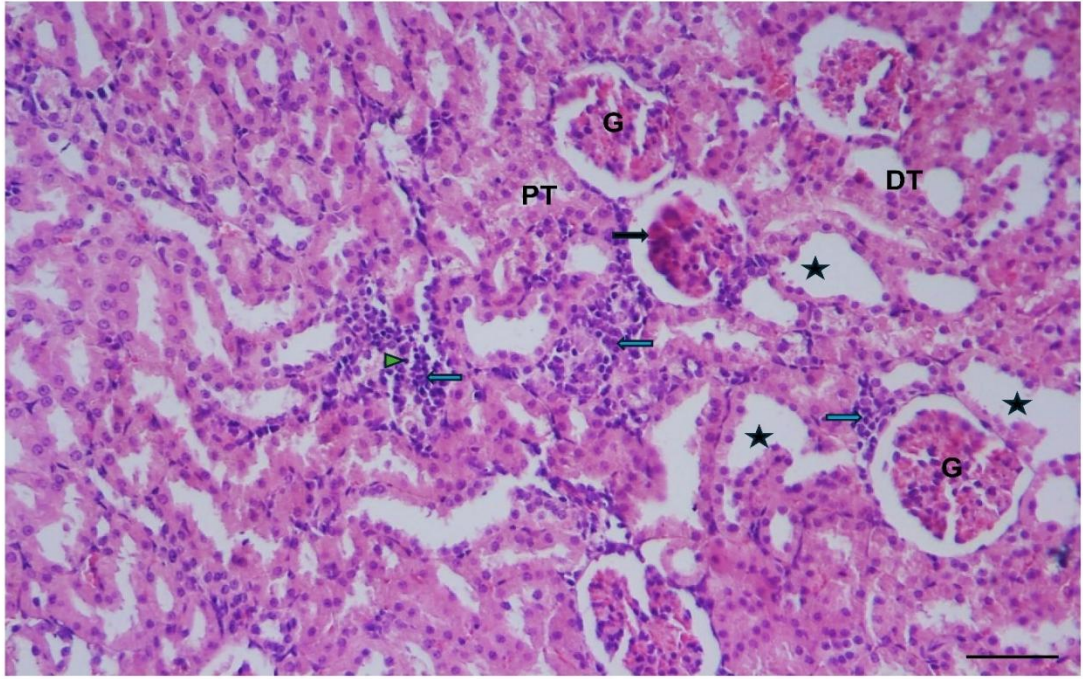


Resim 4.4. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü

(HE, X40).

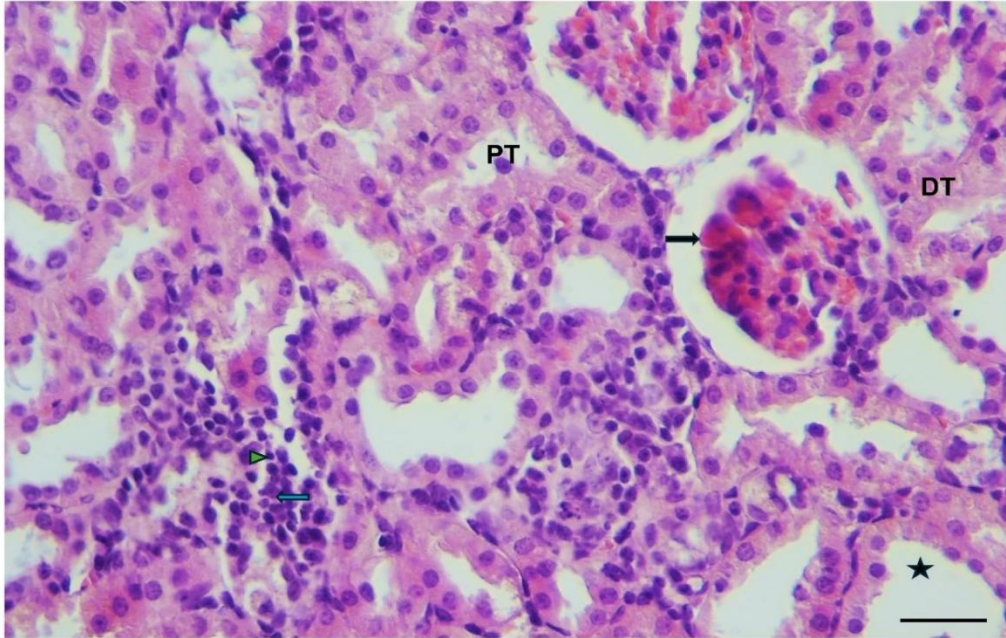
(Atrofik glomerül ve renal cisimcik: Yeşil ok, kolajenöz madde birikimi: Mavi ok, tübüllerde dilatasyon: Siyah yıldız)

DEKS+URO grubundaki sıçanlarda ürografinin neden olduğu hasar kısmen dekspantenol tarafından engellendi(Resim 4.5 ve 4.6).



Resim 4.5. Uro+Deks Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü

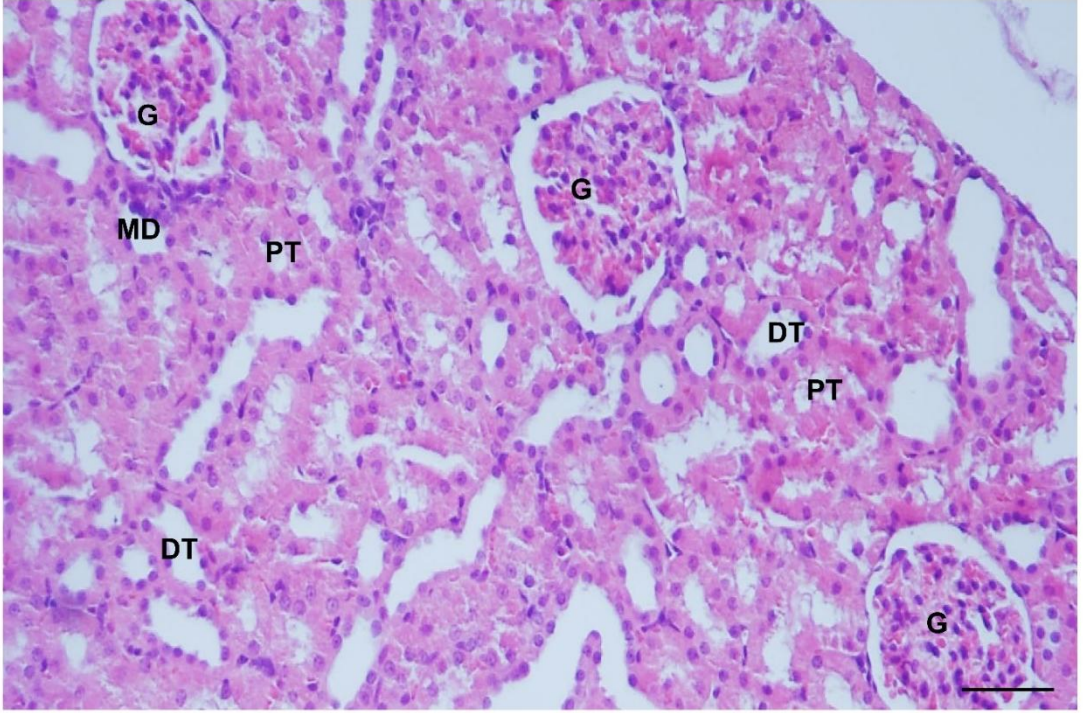
(HE, X20). (Normal görümlü glomerül ve renal cisimcik: G, bazı glomerüllerde asidofilik yapılar: Siyah ok, Proksimal tübül: PT, Distal tübül: DT, mononükleer hücre infiltrasyonu: Mavi ok, piknotik çekirdek: Yeşil ok başı, tübüllerde dilatasyon: Siyah yıldız)



Resim 4.6. URO+DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü

(HE, X40). (Bazı glomerüllerde asidofilik yapılar: Siyah ok, Proksimal tübül: PT, Distal tübül: DT, mononükleer hücre infiltrasyonu: Mavi ok, piknotik çekirdek: Yeşil ok başı, tübüllerde dilatasyon: Siyah yıldız)

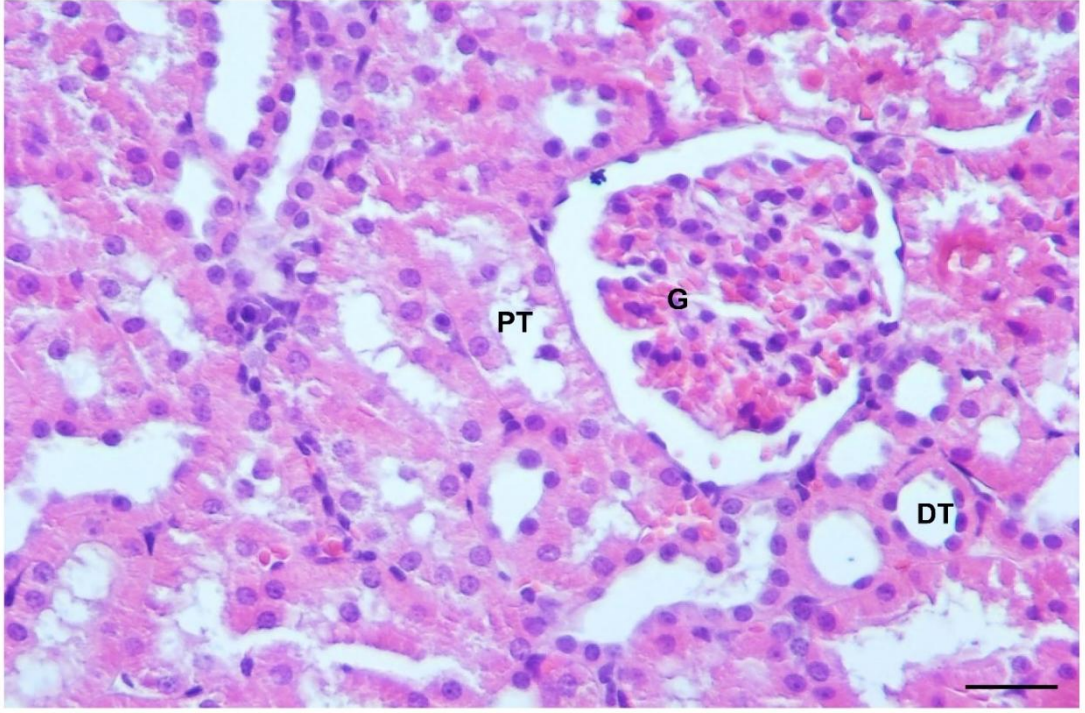
DEKS grubundaki bütün sıçanların böbrekleri normal görünümdeydi(Resim 4.7 ve 4.8).



Resim 4.7. DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü

(HE, X20).

(Glomerül: G, Proksimal tübül: PT, Distal tübül: DT, Makula Densa: MD)



Resim 4.8. DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Korteks Bölgesinin Görünümü

(HE, X40).

(Glomerül: G, Proksimal tübül: PT, Distal tübül: DT)

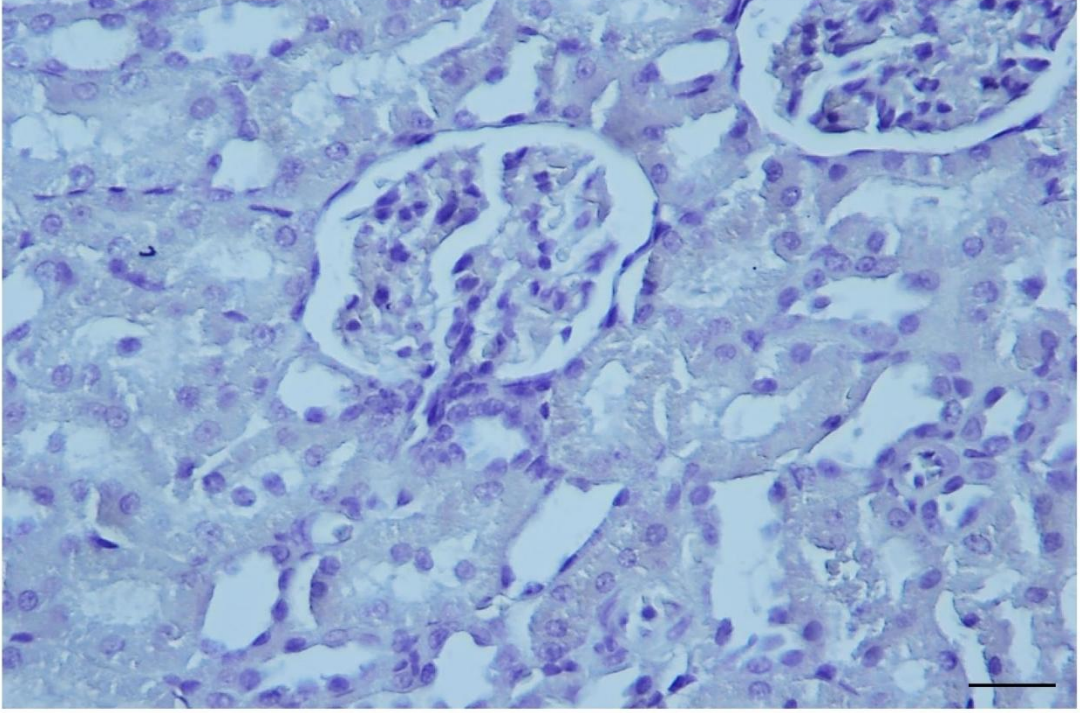
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

Tablo 4.2. Böbrek Hasarının İmmünohistokimyasal Skor Tablosu

	KONTROL	RKM	RKM+DEKS	DEKS
Kaspaz-3	0	+3	+2	0
	+1	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+3	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+3	0
TNF-α	0	+3	+3	0
	0	+2	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0
	0	+3	+2	0

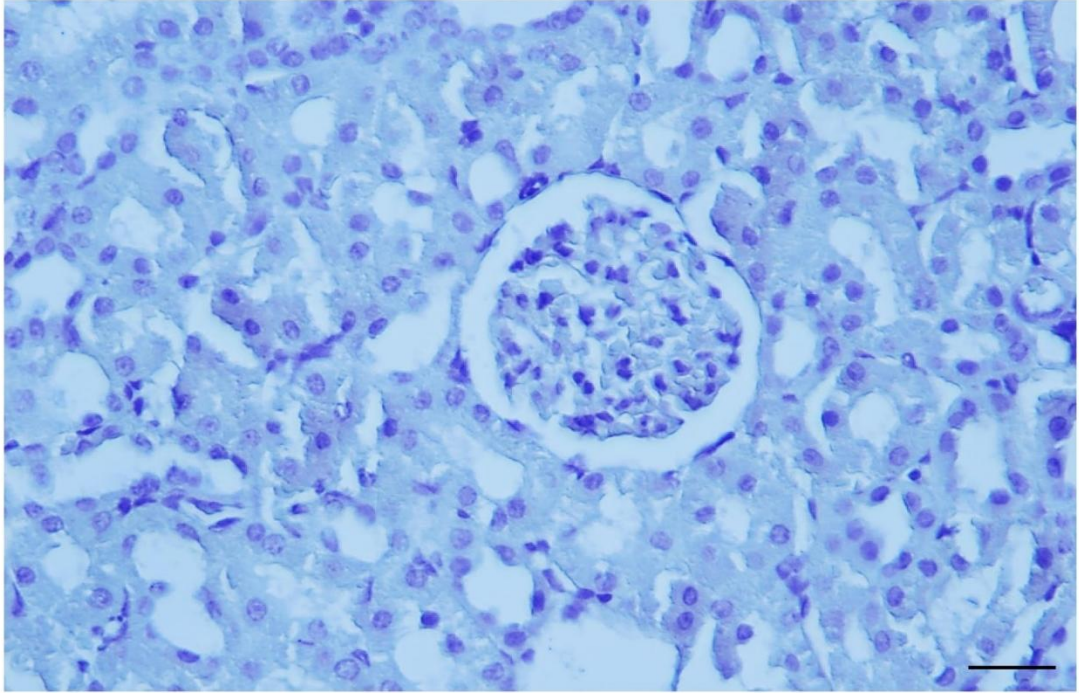
4.2.1. Kaspaz-3 İmmünohistokimyasal Bulguları

Gruplara göre kaspaz-3 ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda negatif veya hafif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.9 ve 4.10). URO grubunda ise glomerül ve tübül epitelinde kaspaz-3 ekspresyonu artmıştır ve +3 şiddetindedir (Resim 4.11). URO+DEKS grubunda glomerül ve tübül epitelinde kaspaz-3 ekspresyonu +2 şiddetinde olması dikkat çekmiştir (Resim 4.12). DEKS grubunun ise kontrol grubuyla benzer olduğu, negatif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.13).

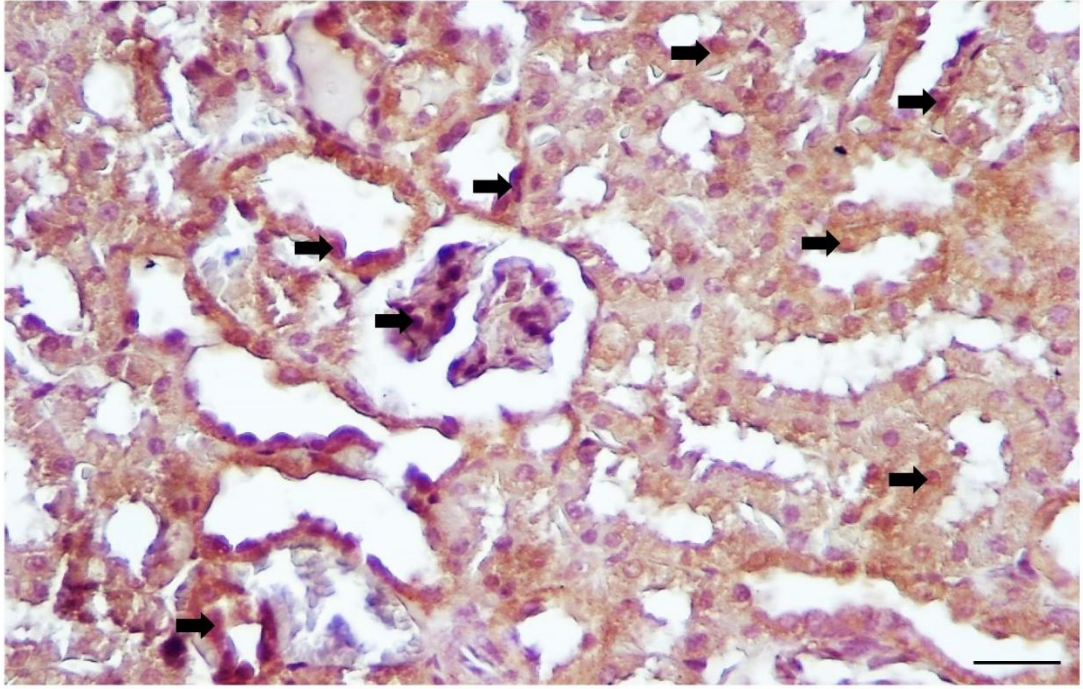


Resim 4.9. Kontrol Grubuna Ait Rat Böbreğinde Negatif Ekspresyon Streptavidin Biotin Peroksidaz Yöntemi

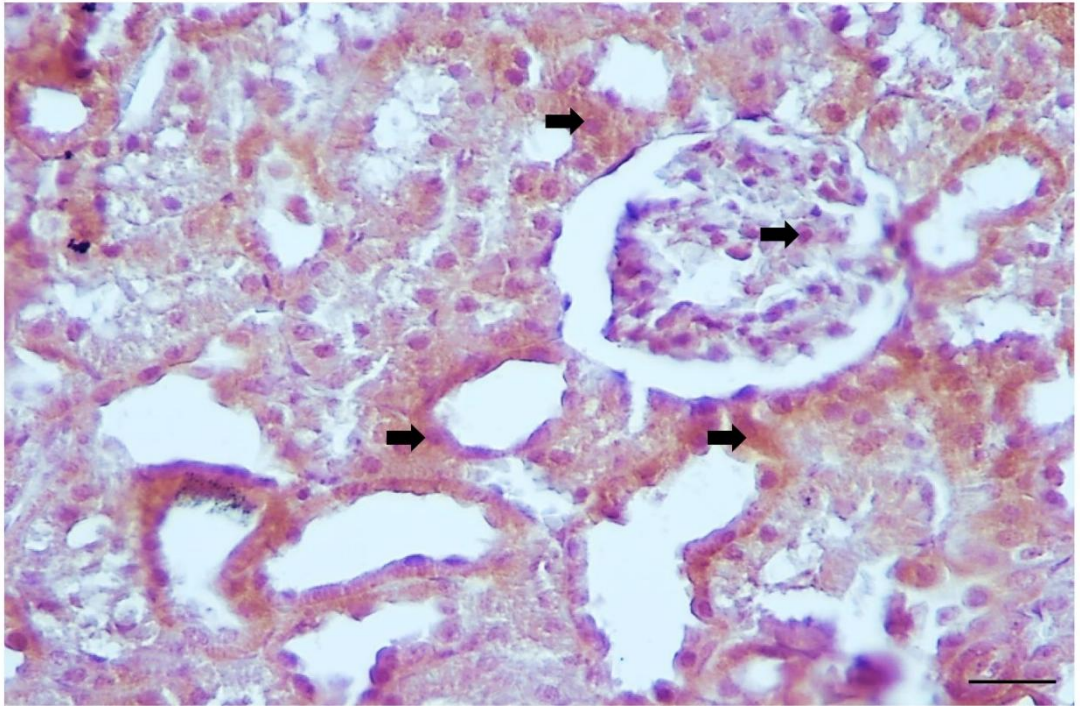
DAB X40



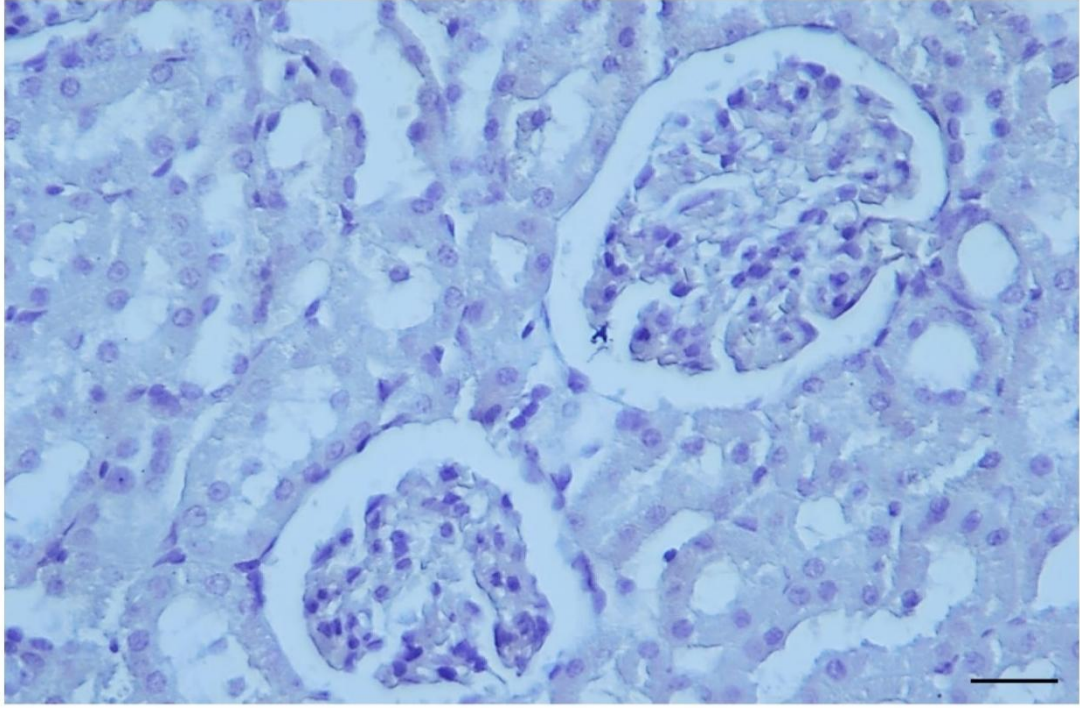
Resim 4.10. Negatif Kontrol



Resim 4.11. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Glomerül ve Tübül Epitellerinde Belirgin Ekspresyon (Oklar). Streptavidin Biotin Peroksidaz Yöntemi DAB X40



Resim 4.12. URO+DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinin Glomerül ve Tübül Epitellerinde Azalmış ve Hafif Şiddette Ekspresyon (Oklar) Streptavidin Biotin Peroksidaz Yöntemi DAB X40

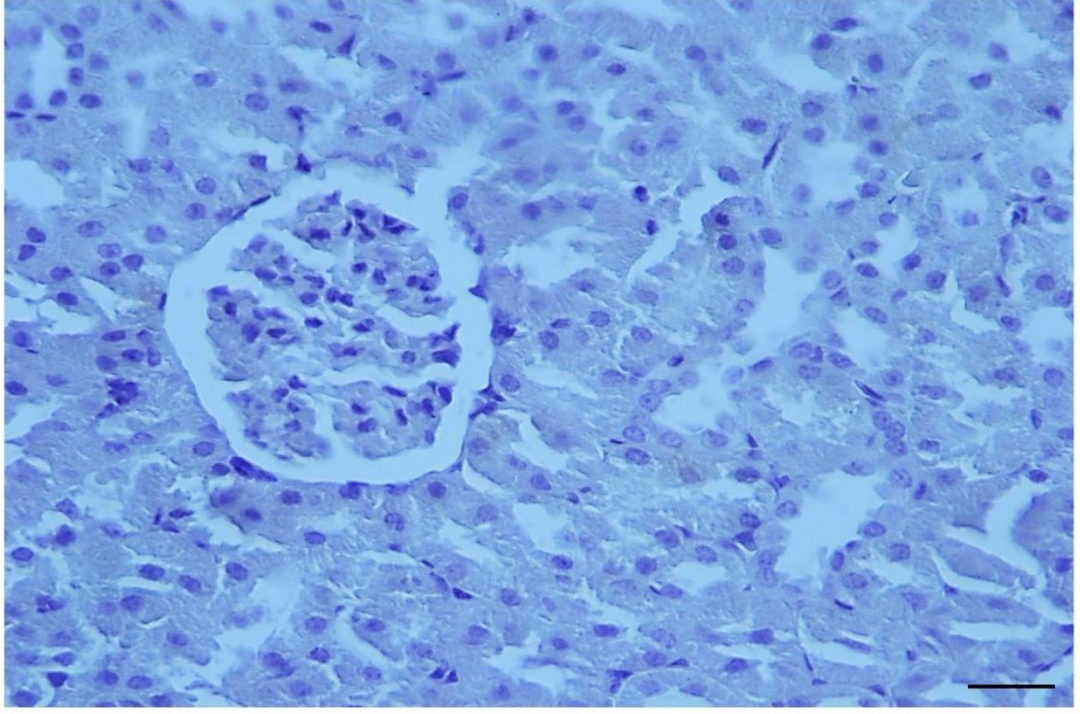


Resim 4.13. DEKS Grubuna Ait Rat Böbreğinde Negatif Ekspresyon Streptavidin Biotin Peroksidaz Yöntemi

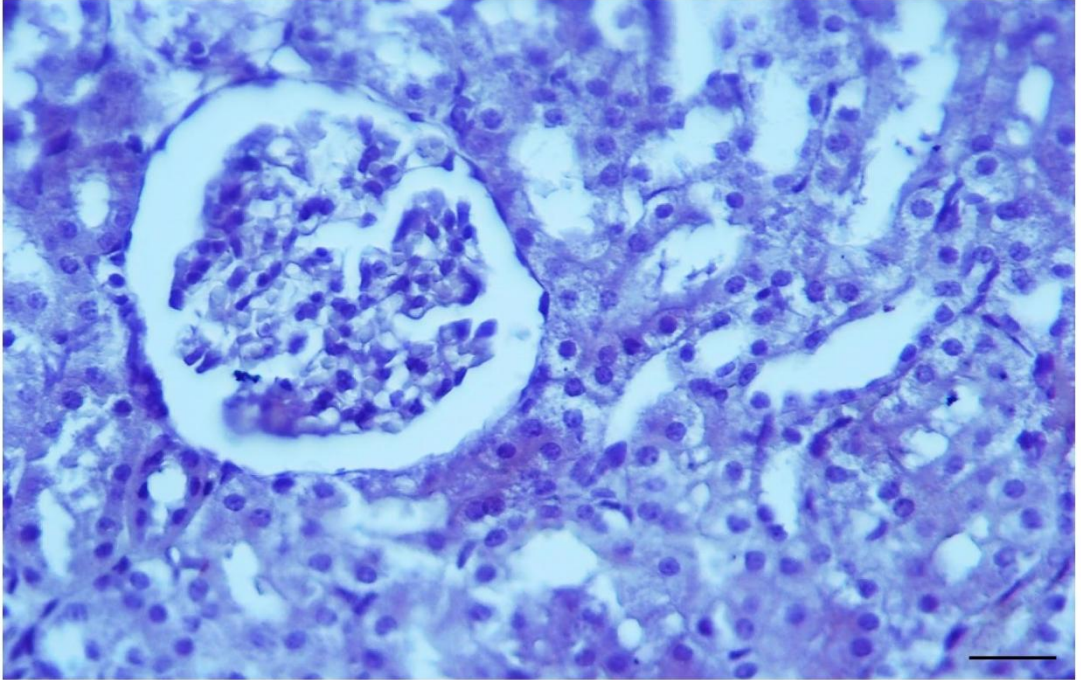
DAB X40

4.2.2. TNF- α İmmünohistokimyasal Bulgu Sonuçları

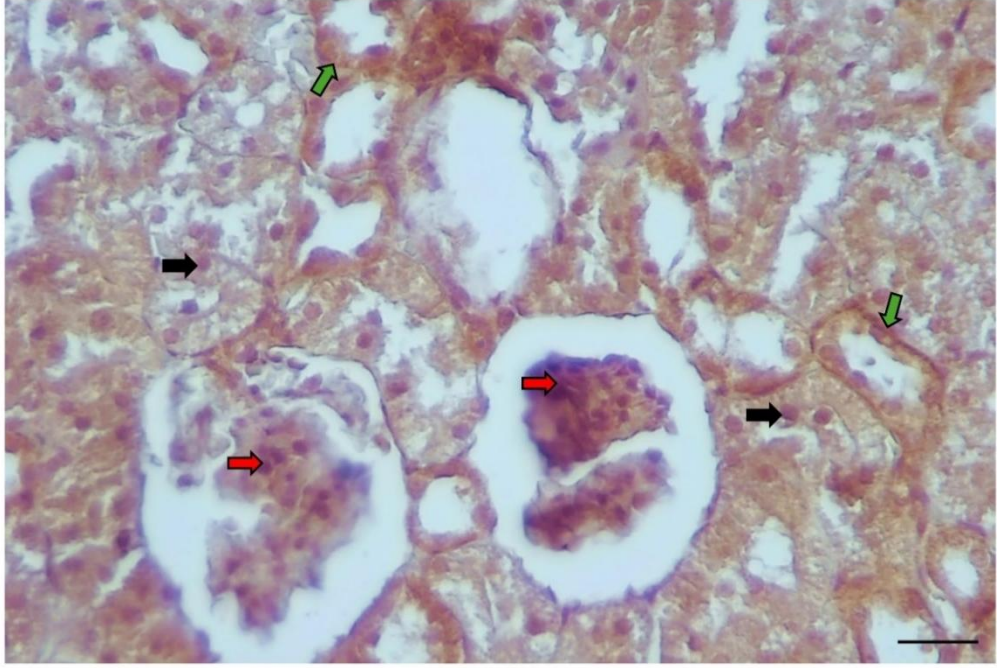
Gruplara göre TNF- α ekspresyonları incelendiğinde kontrol grubunda negatif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.14 ve 4.15). URO grubunda ise glomerüllerde, tübül epiteli ve bazal membranında TNF- α ekspresyonu artmıştır ve +3 şiddetindedir (Resim 4.16). URO+DEKS grubunda glomerüllerde, tübül epiteli ve bazal membranında TNF- α ekspresyonu +2 şiddetinde olması dikkati çekti (Resim 4.17). DEKS grubunda ise negatif ekspresyon olduğu görülmüştür (Resim 4.18).



Resim 4. 14. Kontrol Grubuna Ait Rat Böbreğinde Negatif Ekspresyon
Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40

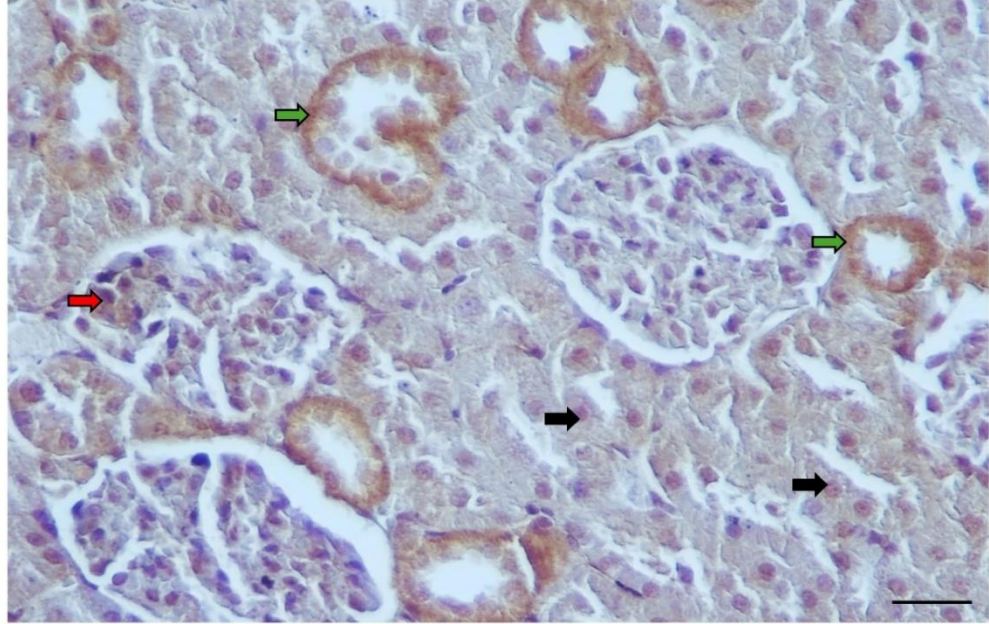


Resim 4.15. Negatif Kontrol.



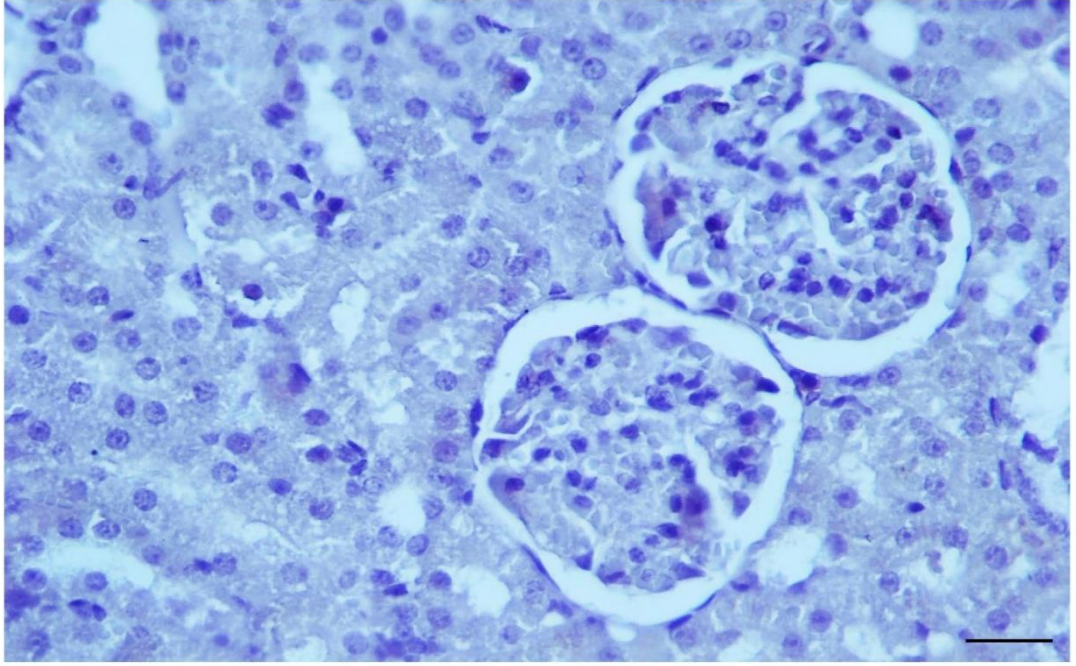
Resim 4.16. URO Grubuna Ait Rat Böbreğinin Glomerül,Tübül Epiteli ve Tübül Bazal Membranında Belirgin Ekspresyon.

URO grubuna ait rat böbreğinin glomerül (kırmızı ok), tübül epiteli (siyah ok) ve tübül bazal membranında (yeşil ok) belirgin ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40

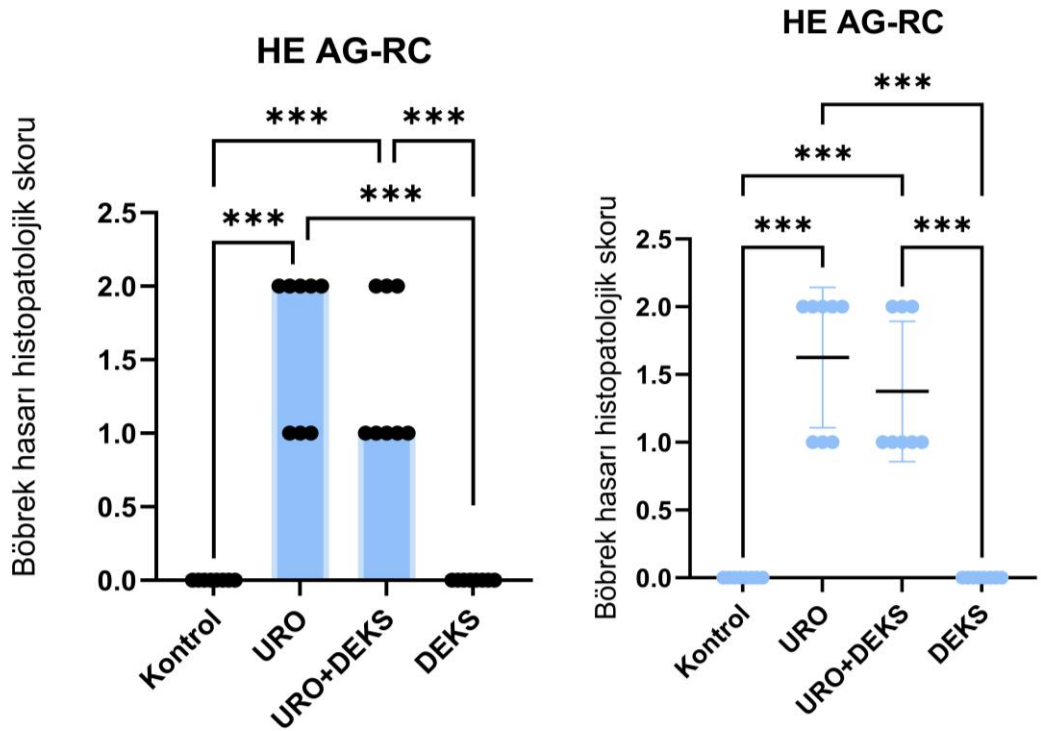


Resim 4.17. URO+DEKS Grubuna Ait Böbreğın Glomerül, Tübül Epiteli ve Tübül Bazal Membranında Orta Şiddette Ekspresyon.

URO+DEKS grubuna ait böbreğın glomerül (kırmızı ok), tübül epiteli (siyah ok) ve tübül bazal membranında (yeşil ok) orta şiddette ekspresyon. Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40



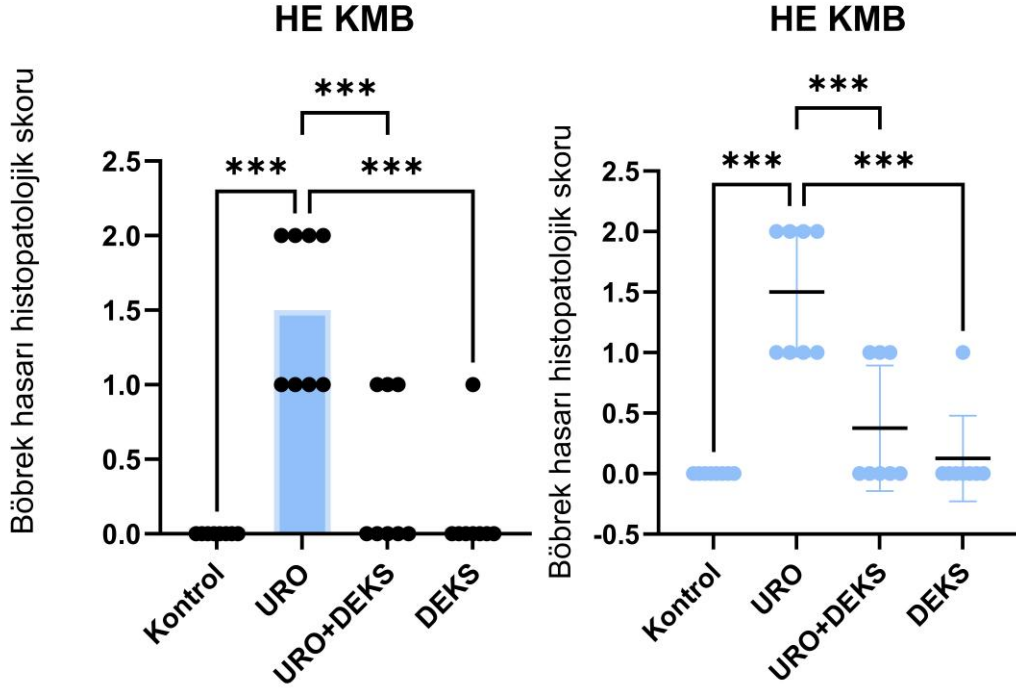
Resim 4.18. DEKS Grubuna Ait Böbreğinde Negatif Ekspresyon Streptavidin biyotin peroksidaz yöntemi, DAB X40



Şekil 4.1. Hücresel Düzeyde Atrofik Glomerül ve Renal Cisimcik Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. URO: Ürografin, DEKS: Dekspantenol HE: Hematoksilen Eozin AG-RC:Atrofik Glomerül ve Renal Cisimcikler. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

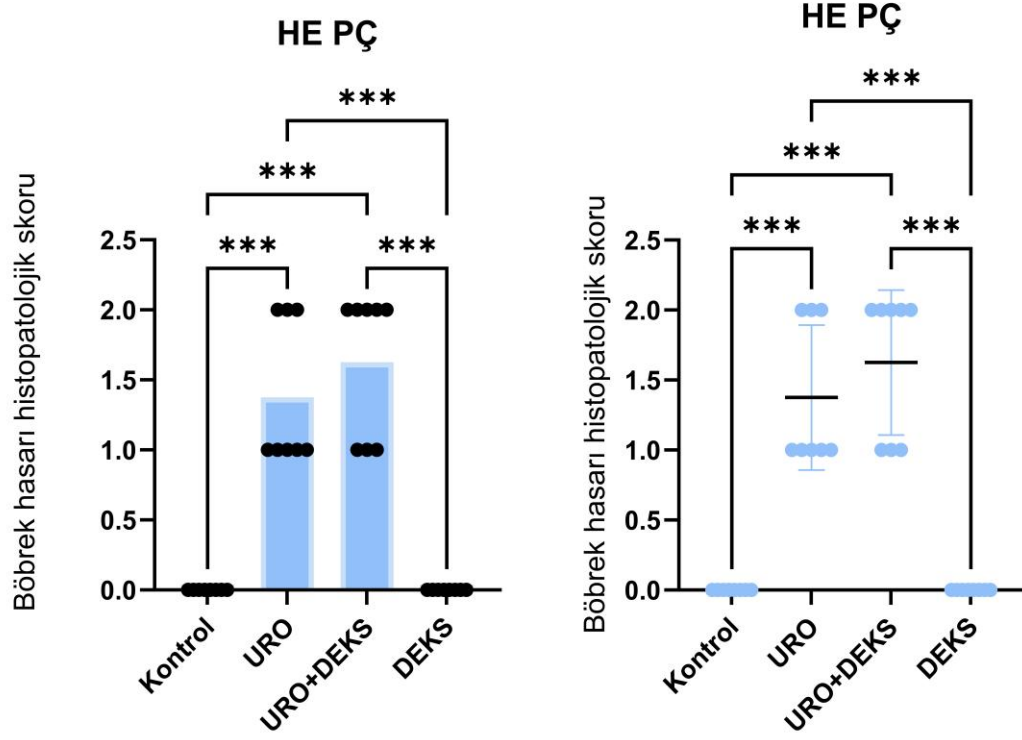
ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında hücresel düzeyde anlamlı olarak atrofik glomerül ve renal cisimciklerde azalma izlenmemiştir(Şekil 4.1).



Şekil 4.2. Hücresel Düzeyde Kollajenöz Madde Birikim Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol HE: Hematoksilen Eozin KMB:Kollajenöz Madde Birikimi. ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05

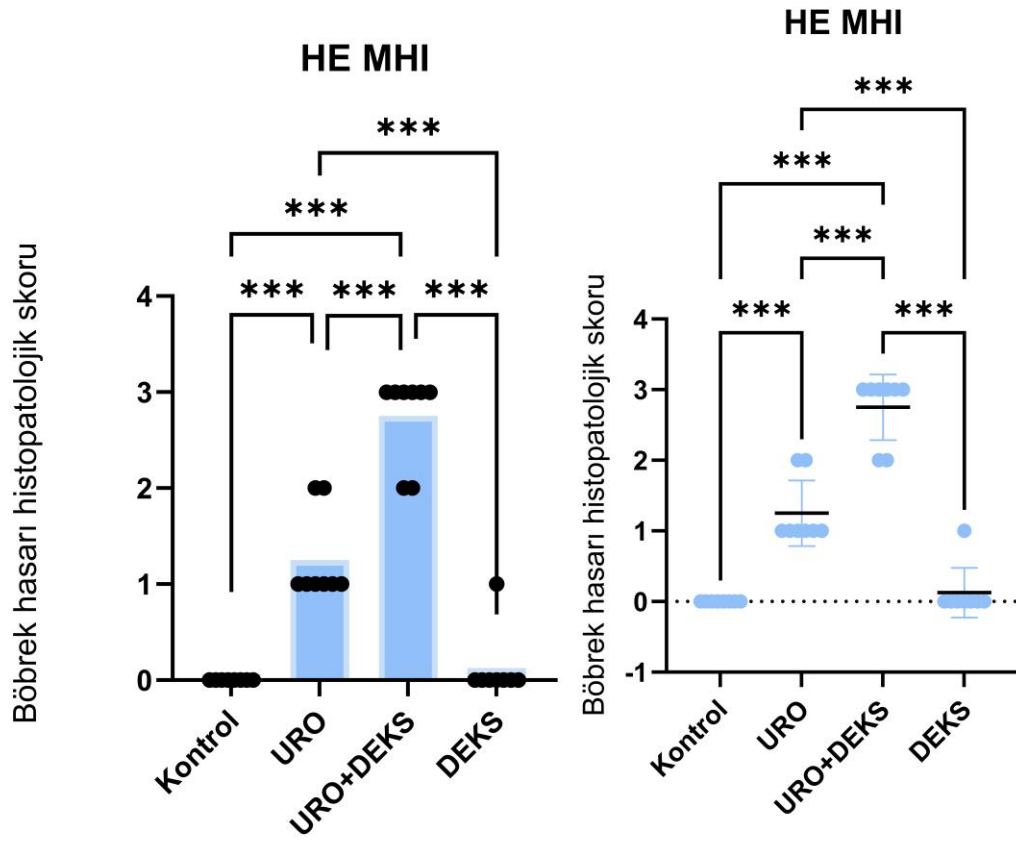
ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında hücresel düzeyde anlamlı olarak kollajenöz madde birikiminde azalma izlenmiştir(Şekil 4.2).



Şekil 4.3. Hücresel DüzeydePiknotik Çekirdek Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol HE: Hematoksilen Eozin PÇ: Piknotik Çekirdek. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

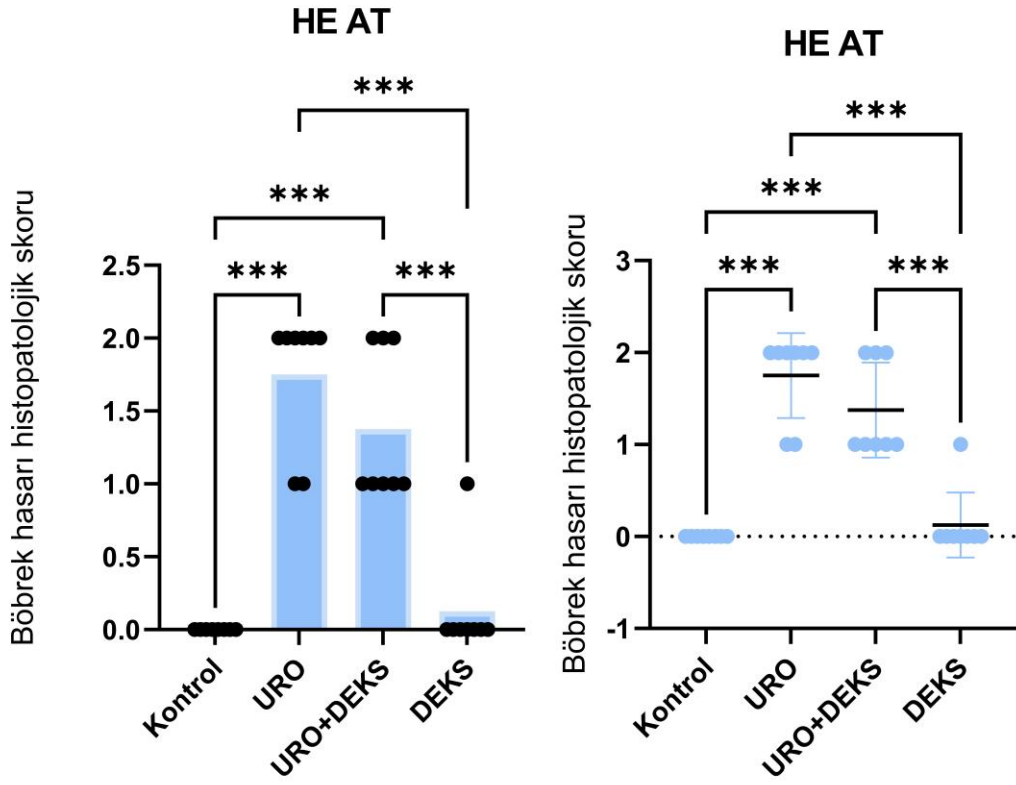
ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında hücresel düzeyde anlamlı olarak piknotik çekirdeklerde azalma izlenmemiştir(Şekil 4.3).



Şekil 4.4. Hücresel Düzeyde Mononükleer Hücre İnfiltrasyon Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol HE: Hematoksilen Eozin MHI: Mononükleer Hücre İnfiltrasyonu. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

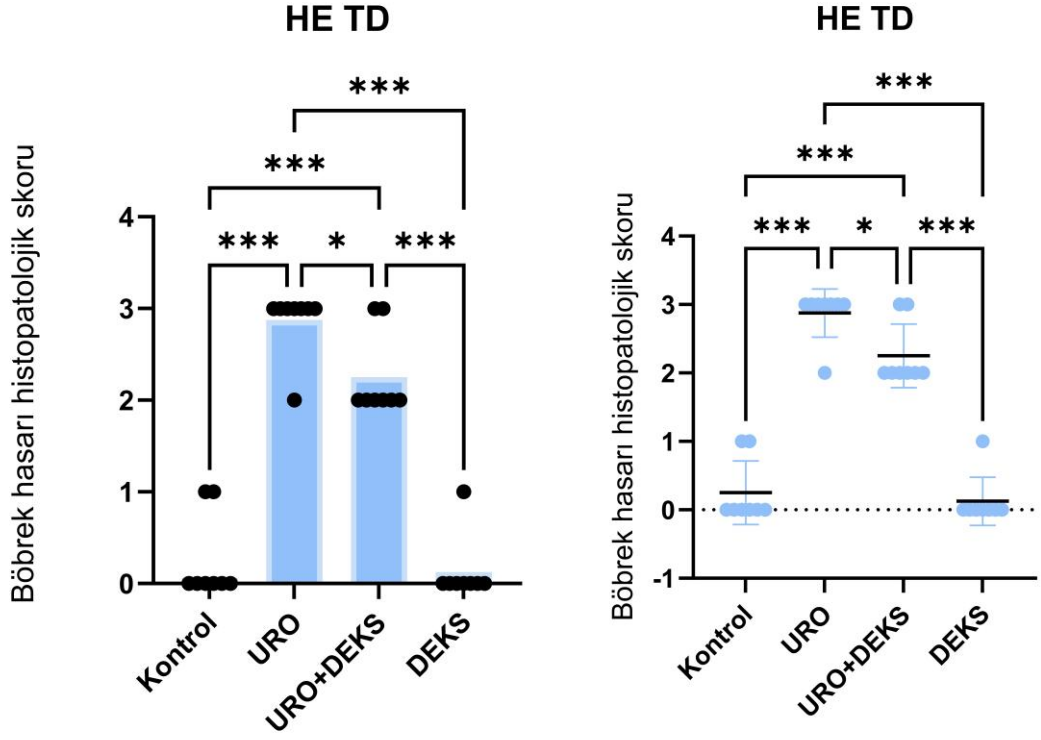
ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında hücresel düzeyde anlamlı olarak mononükleer hücre infiltrasyonunda azalma izlenmemiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Hücresel Düzeyde Atrofik Tübül Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspanenol HE: Hematoksilen Eozin AT:Atrofik Tübül. ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05

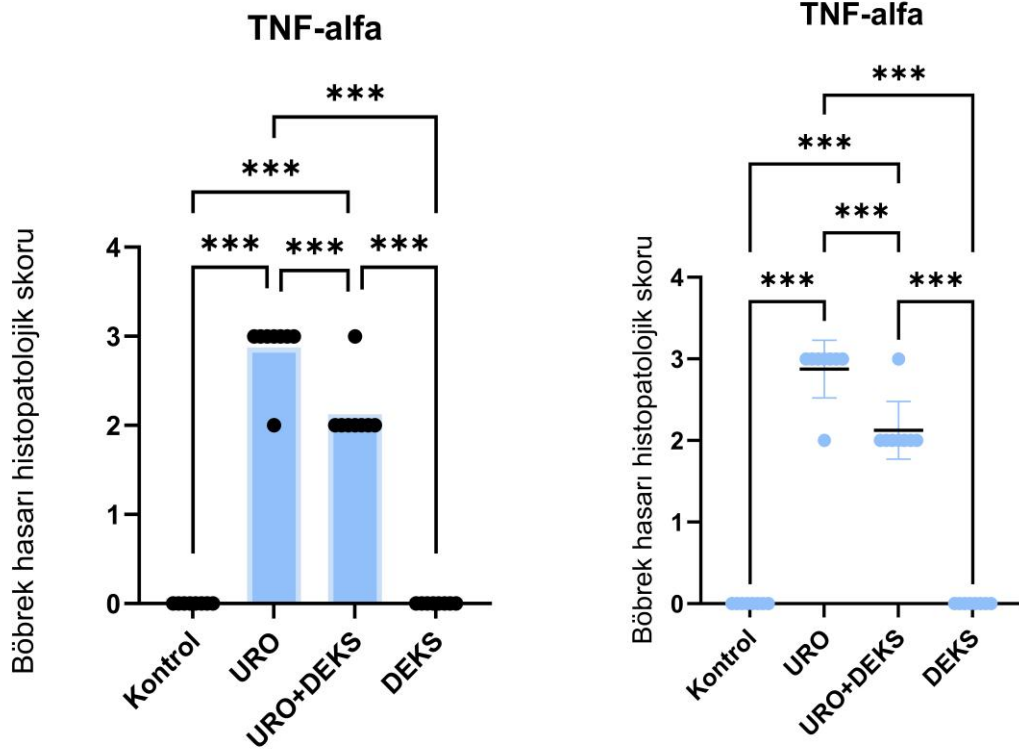
ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında hücresel düzeyde anlamlı olarak Atrofik Tübüllerde azalma izlenmemiştir(Şekil 4.5).



Şekil 4.6. Hücresel Düzeyde Tübüllerde Dilatasyon Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol HE: Hematoksilen Eozin TD:Tübüllerde Dilatasyon. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

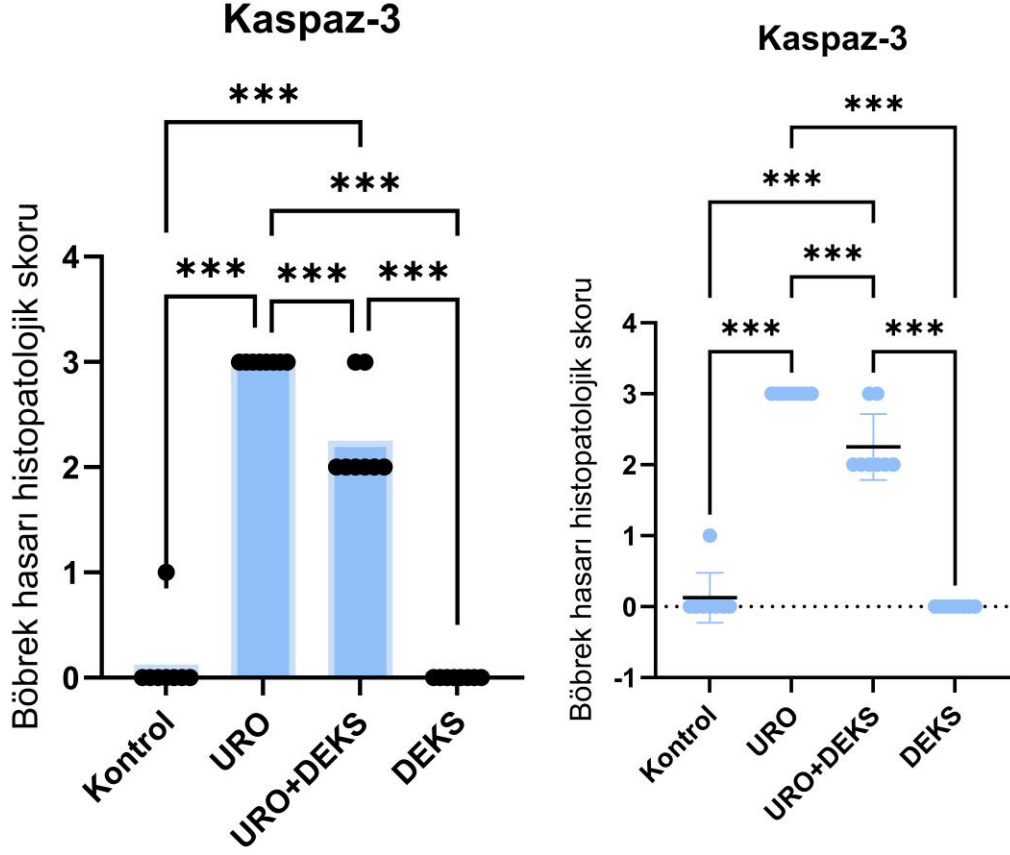
ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında hücresel düzeyde anlamlı olarak tübüllerde dilatasyonda azalma izlenmiştir(Şekil 4.6).



Şekil 4.7. TNF-ALFA Skoru

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol TOS: Toplam oksidan seviyesi. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında anlamlı olarak TNF alfa'da azalma izlenmiştir(Şekil 4.7).



Şekil 4.8. Kaspaz 3 Skoru

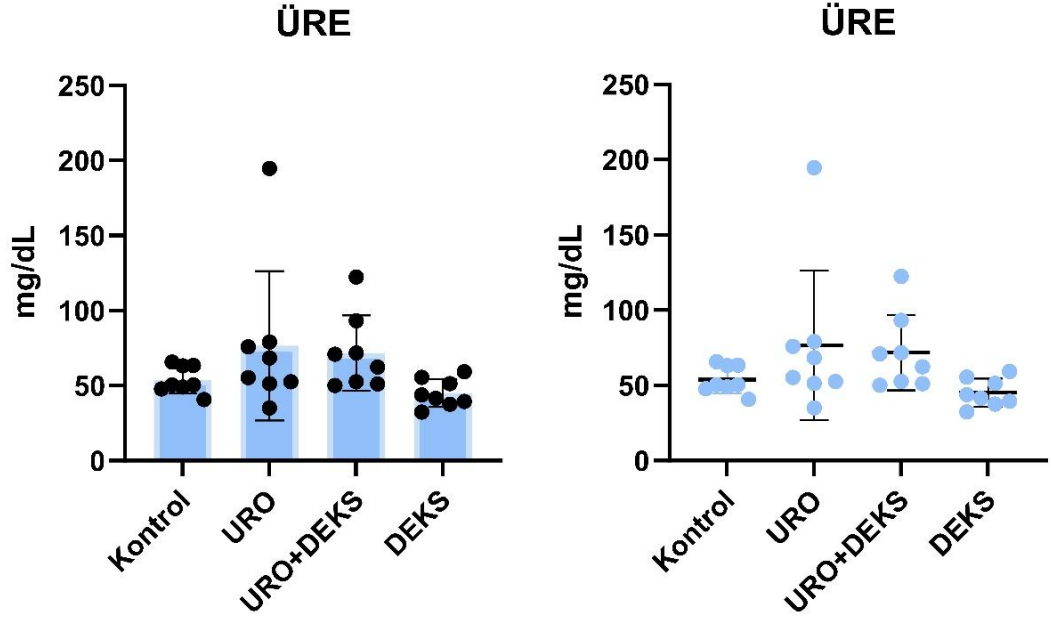
Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol TOS: Toplam oksidan seviyesi. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

ÜRO+DEKS verilen grup ile yalnızca ÜRO verilen grup karşılaştırıldığında anlamlı olarak kaspaz 3’de azalma izlenmiştir(Şekil 4.8).

4.3. Biyokimyasal Bulgular

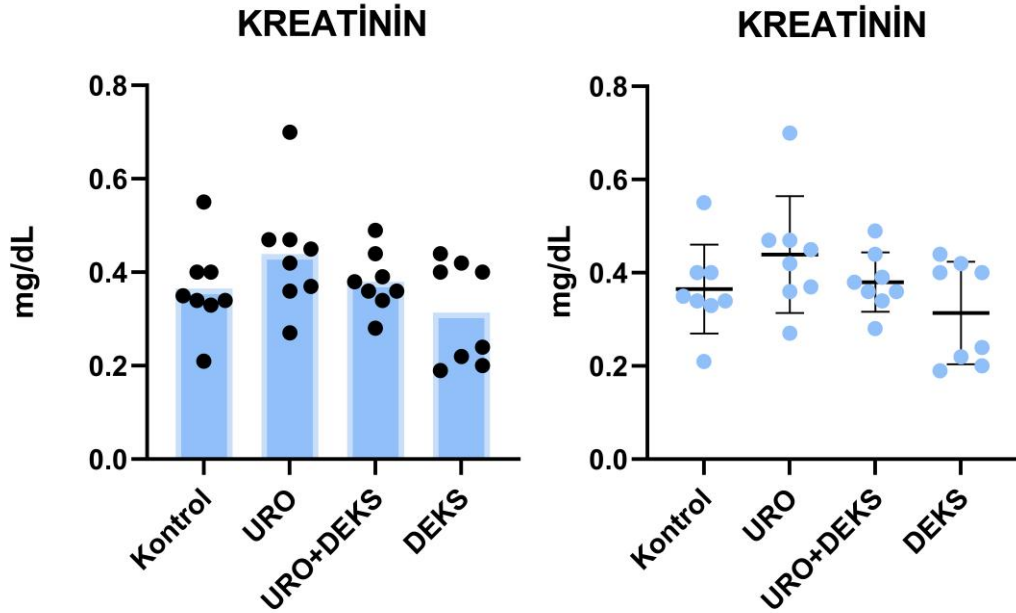
4.3.1. Kan Parametreleri

Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla kanda üre ve kreatinin seviyeleri biyokimyasal olarak incelendi. Hem üre hem de kreatin düzeyleri ÜRO grubunda ve DEKS+ÜRO grubunda anlamlı farklılık saptanmamıştır(Şekil 4.9 ve 4.10).



Şekil 4.9. Kandaki ÜRE Değerleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografın, DEKS: Dekspantenol *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$,

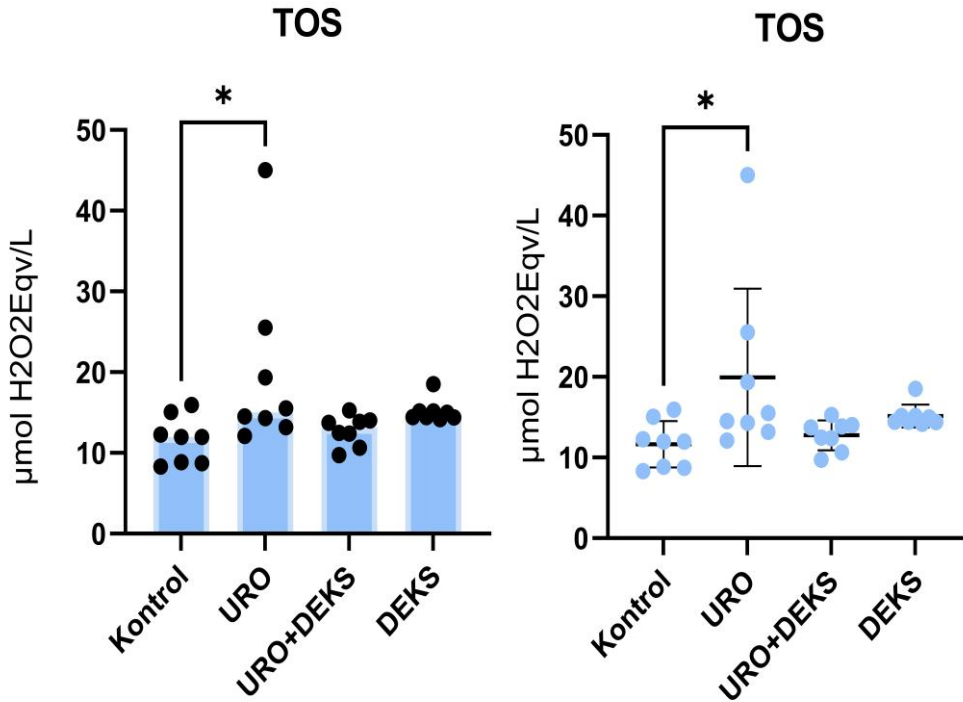


Şekil 4.10. Kandaki Kreatinin Değerleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografin, DEKS: Dekspantenol *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$,

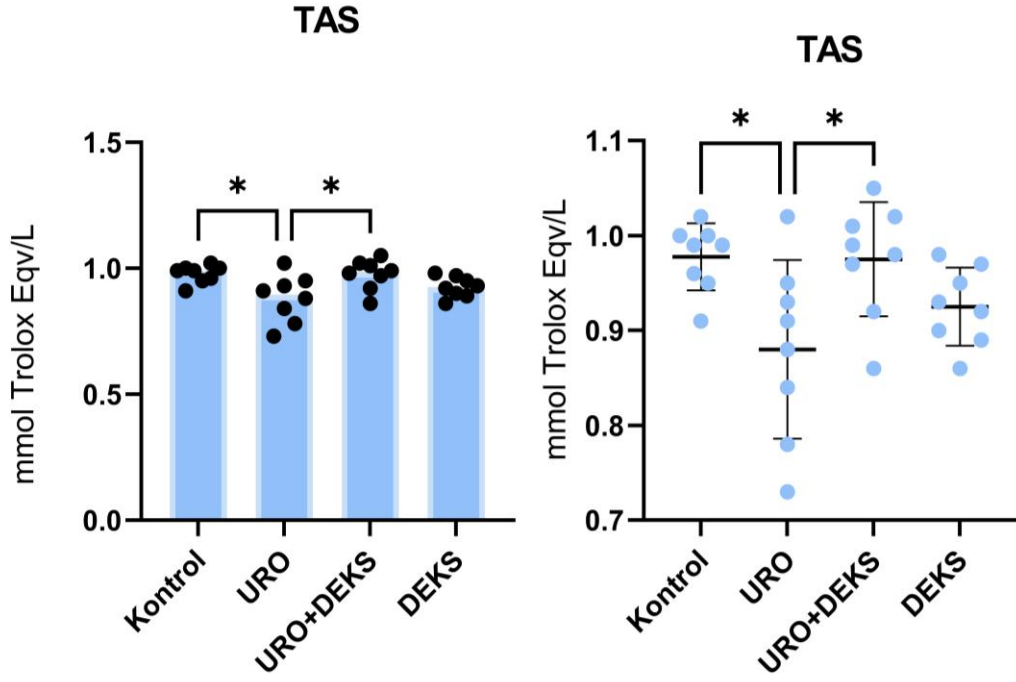
4.3.2. Oksidatif Stres Göstergeleri

Oksidatif stresi değerlendirmek amacıyla spektrofotometrik olarak TOS ve TAS seviyeleri ölçüldü ve OSI değeri hesaplandı. TOS ve OSI seviyeleri değerlendirildiğinde hasar grubu olan ÜRO grubunun seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (sırasıyla; $p < 0.05$ ve $p < 0.01$). ÜRO tedavisi uygulanan ÜRO+DEKS grubunda TOS değerleri anlamlı çıkmamış olup OSI değerlerinde anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p < 0.05$). TAS değerleri ise yine aynı grupta ÜRO+DEKS grubu ile ÜRO karşılaştırıldığında istatistiksel olarak yüksek saptanmıştır ($p < 0.05$). Sadece DEKS kullanılan grubun değerlerine bakıldığında üç değer de kontrol grubuna yakın olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği belirlendi (Şekil 4.11 , 4.12 ve 4.13).



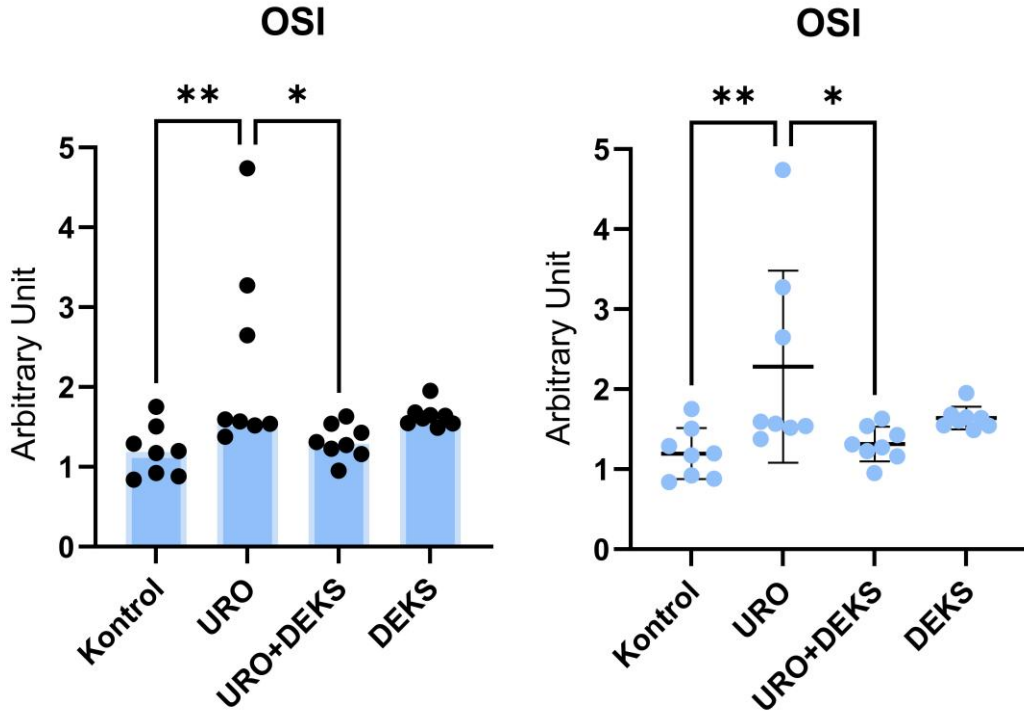
Şekil 4.11. Böbrek Dokusunda Toplam Oksidan Seviyeleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. ÜRO: Ürografin, DEKS: Dekspantenol TOS: Toplam oksidan seviyesi. *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$



Şekil 4.12. Böbrek Dokusunda Toplam Antioksidan Seviyeleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. URO: Ürografin, DEKS: Dekspantenol, TAS: Toplam antioksidan seviyesi.
 *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$



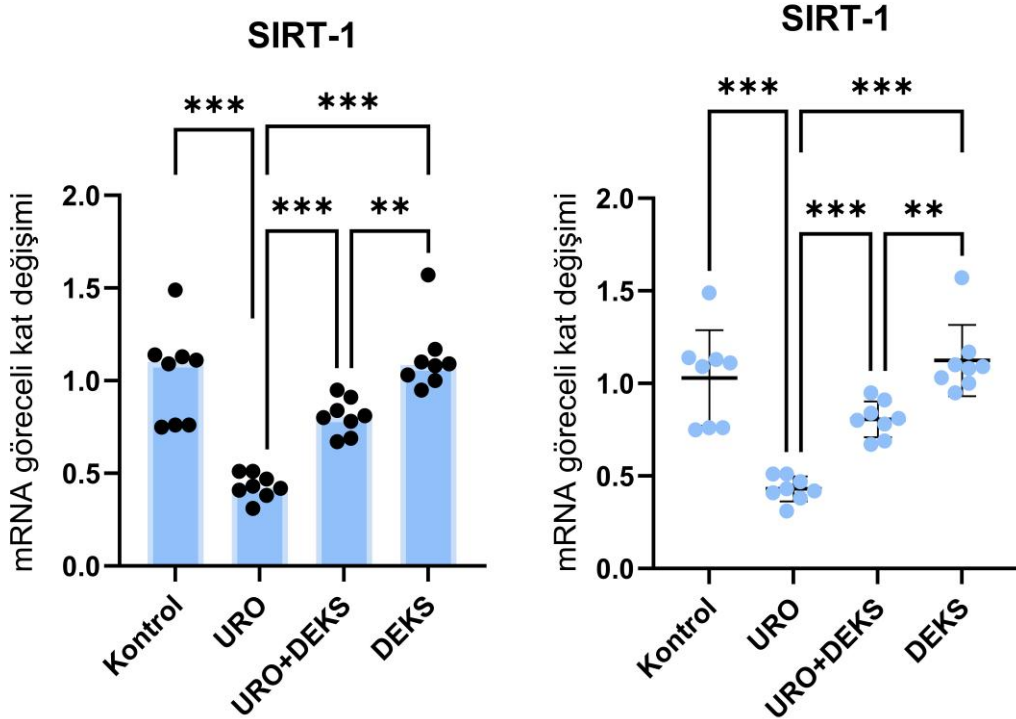
Şekil 4.13. Böbrek Dokusunda Oksidatif Stres İndeks Değerleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. URO: Ürografin, DEKS: Dekspantenol, *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

4.4. Genetik Bulgular

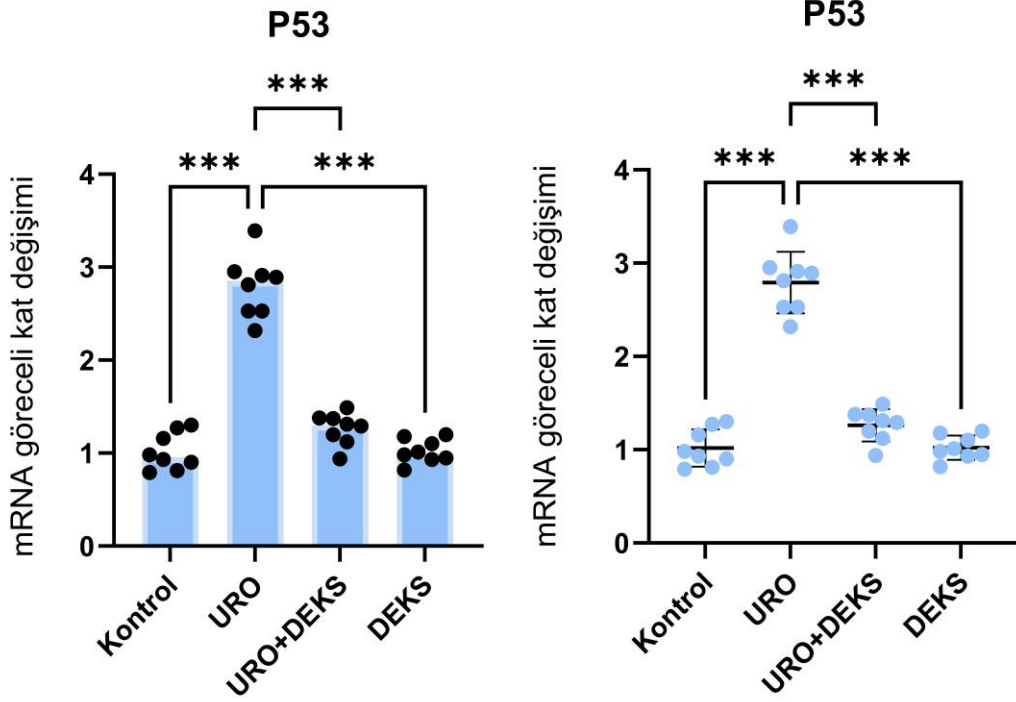
Apoptoz ve inflamasyonla ilişkili hücresel yolların moleküler incelemesinde, SIRT1, p53, Bax, Bcl-2 mRNA ekspresyonları incelendi. ÜRO grubunun değerlendirilmesinde, kontrol ve DEKS grubuna kıyasla Bax ve P53 değerleri istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken hem SIRT1 hem de Bcl2 ekspresyonlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir (hepsi için $p < 0.001$).

SIRT1 ve Bcl2 ekspresyonlarının tedavi grubu olan URO+DEKS grubunda hasar grubu olan URO gruplarına göre tedavi ile anlamlı bir artış gösterdiği ya da azalmanın engellendiği gözlemlendi (her ikisi de $p < 0.001$). SIRT1 ekspresyonlarının yine sadece ilaç uygulanan DEKS grubunda, URO+DEKS grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$). Aynı tedavi grubunda P53 ve Bax ekspresyonları hasar grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmıştır (her ikisi de $p < 0.001$). (Şekil 4.14, 4.15 ,4.16 ,4.17).



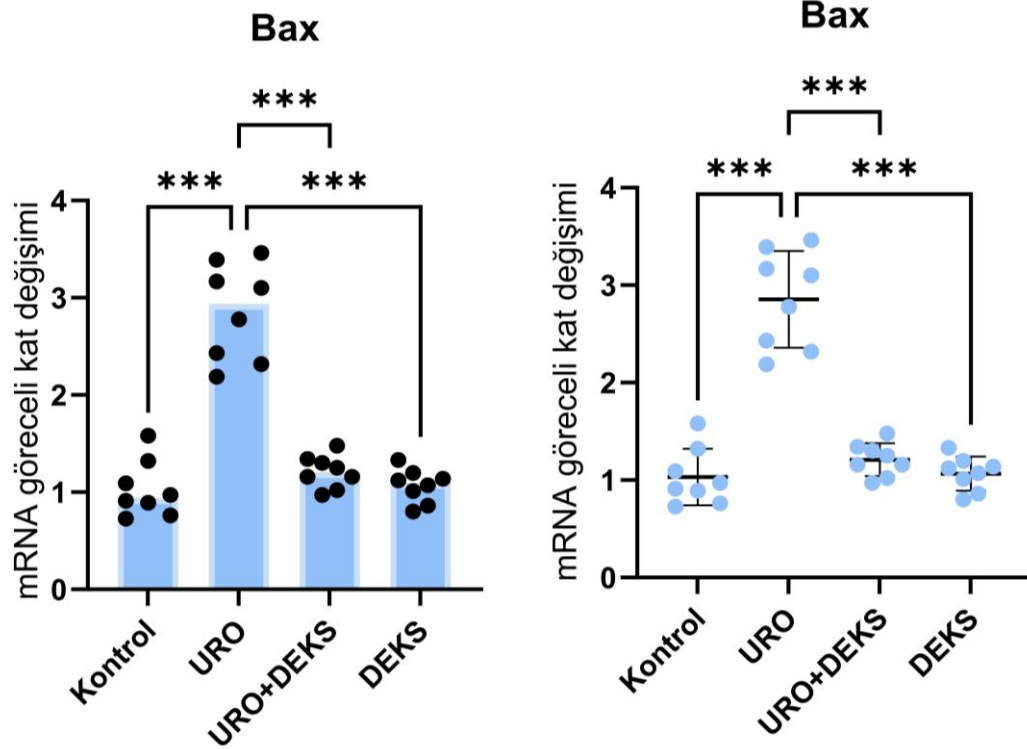
Şekil 4.14. SIRT1 mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. URO:Ürografin DEKS: Dekspantenol, *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$



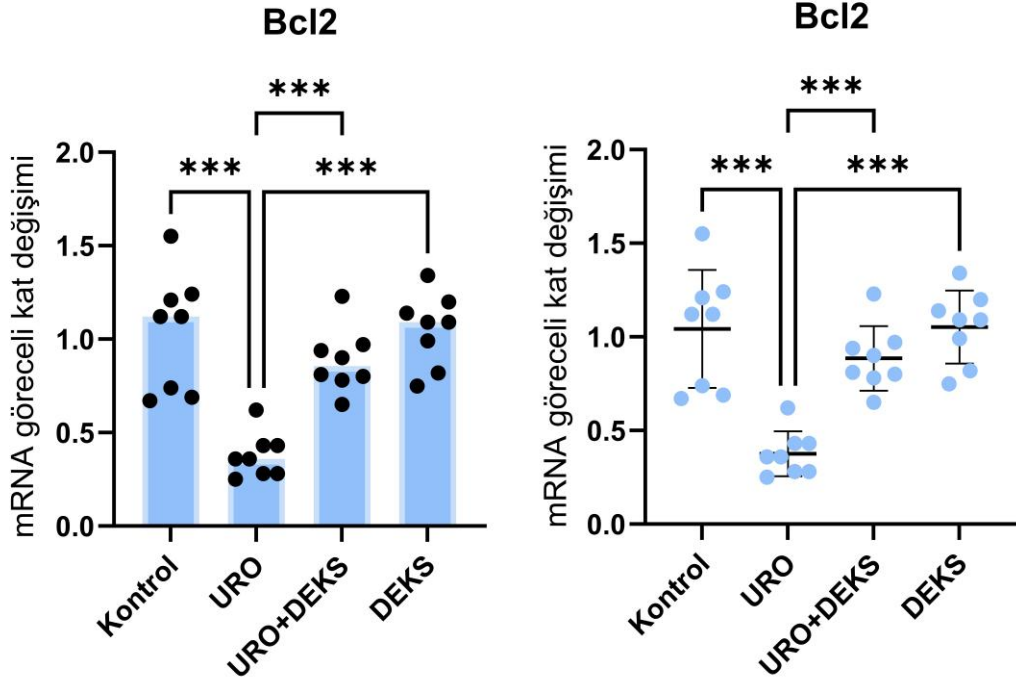
Şekil 4.15. p53 mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA ve Tukey testi yapıldı. URO: Ürografin DEKS: Dekspantenol, *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$



Şekil 4.16. Bax mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. URO:Ürografin DEKS: Dekspantenol, *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$



Şekil 4.17. Bcl2 mRNA Ekspresyonlarının Göreceli Kat Değişimleri

Değerler ortalama \pm SD olarak temsil edilir. One-Way ANOVA Tukey testi yapıldı. URO:Ürografin DEKS: Dekspantenol, *** $p \leq 0.001$, ** $p \leq 0.01$, * $p \leq 0.05$

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ürografinin neden olduğu böbrek hasarına karşı dekspantenolün koruyucu ve iyileştirici etkileri, histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve genetik düzeyde kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. Bulgular, ürografinin böbrek dokusunda belirgin yapısal ve fonksiyonel bozukluklara yol açtığını, ancak dekspantenol tedavisinin bu hasarı anlamlı ölçüde azalttığını göstermektedir. Radyokontrast ajanların nefrotoksik etkileri, oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoz gibi mekanizmalar üzerinden gerçekleşmektedir (48). Bu bağlamda, dekspantenol gibi antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip ajanların böbrek dokusunu koruma potansiyeli klinik açıdan büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda elde edilen bulgular, literatürdeki benzer araştırmalarla tutarlılık göstermektedir ve dekspantenolün böbrek hasarını önlemede etkin bir ajan olabileceğini desteklemektedir.

Histopatolojik değerlendirmeler, ürografin uygulanan grupta ciddi yapısal bozuklukların ortaya çıktığını göstermiştir. Böbrek dokusunda kolajenöz madde birikimi, tübül dilatasyonu, atrofi ve glomerüler yapı bozuklukları gibi bulgular gözlenmiştir. Bu durum, ürografinin özellikle tübül hücrelerinde neden olduğu doğrudan toksik etkilerle ilişkilendirilebilir. Literatürde, radyokontrast ajanların tübüler nekroz ve glomerüler hasar oluşturduğu yaygın olarak rapor edilmiştir (49). Örneğin, Zager ve arkadaşları (2005), radyokontrast ajanların tübül hücrelerinde apoptoza neden olduğunu ve bunun böbrek fonksiyonlarını ciddi şekilde bozduğunu bildirmiştir(50). Dekspantenol tedavisi uygulanan grupta ise tübüler hasar ve kolajenöz madde birikimi gibi bulguların belirgin ölçüde azaldığı görülmüştür. Bu durum, dekspantenolün antioksidan özellikleriyle oksidatif stresi baskıladığı ve dokusal iyileşmeyi desteklediği görüşünü güçlendirmektedir. Ayrıca, dekspantenolün fibroblast aktivitesini artırarak doku rejenerasyonuna katkıda bulunduğu daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir (51). Bu histopatolojik bulguların immünohistokimyasal düzeydeki yansımalarını anlamak için inflamasyon ve apoptoz belirteçleri detaylı olarak incelenmiştir.

İmmünohistokimyasal analizler, ürografinin böbrek dokusunda apoptozu tetiklediğini ve inflamatuvar süreçleri artırdığını açıkça göstermektedir. Kaspaz-3 ekspresyonundaki artış, ürografinin pro-apoptotik etkisini doğrularken, TNF- α düzeylerindeki yükseliş inflamatuvar süreçlerin aktivasyonuna işaret etmektedir. Literatür, radyokontrast ajanların TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin salınımını artırarak renal hücre hasarına neden olduğunu desteklemektedir (52). Bu süreçlerin, böbrek dokusunda hem akut hem de kronik hasara yol açabileceği daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Dekspantenol uygulaması ise bu etkileri anlamlı ölçüde azaltmış ve kaspaz-3 ile TNF- α ekspresyonlarının belirgin şekilde düştüğü gözlenmiştir. Dekspantenolün anti-inflamatuvar özellikleri, özellikle sitokin üretimini baskıladığı ve apoptoz yolaklarını düzenlediği bilinen mekanizmalarla ilişkilendirilebilir (53). İnflamasyonun kontrol altına alınması ve oksidatif stresin baskılanması, böbrek dokusunda hücrel fonksiyonların korunmasında kritik bir rol oynamaktadır ve bu durum biyokimyasal bulgularla desteklenmektedir.

Biyokimyasal analizler, ürografinin böbrek dokusunda oksidatif stresin artışına neden olduğunu göstermiştir. TOS ve OSI seviyelerinin ürografi uygulanan grupta anlamlı derecede yüksek, TAS seviyelerinin ise düşük olduğu tespit edilmiştir. Oksidatif stresin, hücrel hasar mekanizmalarını tetiklediği ve hücrelerin antioksidan savunma sistemlerini baskıladığı bilinmektedir(54). Ürografinin neden olduğu oksidatif stres, hücre zarında lipid peroksidasyona yol açarak böbrek hücrelerinin yapısal bütünlüğünü bozabilir. Dekspantenol tedavisi ise TOS ve OSI seviyelerinde anlamlı bir azalma sağlarken TAS değerlerini artırmıştır. Literatürde, dekspantenolün glutasyon düzeylerini artırarak ve lipid peroksidasyonu azaltarak oksidatif stresi önlediği belirtilmektedir (55). Bu bulgular, dekspantenolün nefrotoksik hasara karşı koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak oksidatif stresin genetik düzeydeki etkilerini anlamak, bu mekanizmaların daha ayrıntılı incelenmesi açısından önemlidir.

Genetik analizler, ürografinin apoptoz ve inflamasyonla ilişkili genlerin ekspresyonunu anlamlı ölçüde değiştirdiğini ortaya koymuştur. Pro-apoptotik Bax ve p53 genlerinin ekspresyonunun artması, ürografinin hücrel düzeyde apoptotik süreçleri aktif hale getirdiğini göstermektedir. Bununla birlikte, anti-apoptotik SIRT1 ve Bcl-2 genlerinin ekspresyonundaki azalma, ürografinin hücrel onarım ve yaşam

mekanizmalarını baskıladığını işaret etmektedir. Literatür, oksidatif stresin p53 aracılığıyla apoptozu artırabileceğini ve Bcl-2 ekspresyonunu baskılayabileceğini doğrulamaktadır(56). Dekspantenol tedavisi, bu genlerin ekspresyon düzeylerini kontrol altına almış ve SIRT1 ile Bcl-2 ekspresyonlarını artırarak hücrel onarımı desteklemiştir. Özellikle SIRT1'in oksidatif stres ve inflamasyon üzerindeki düzenleyici etkisi, dekspantenolün terapötik potansiyelini artırmaktadır. Dekspantenolün, apoptoz ve inflamasyon yolları üzerindeki etkileri, bu çalışmanın genetik düzeydeki en çarpıcı bulgularını oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, dekspantenolün ürografın kaynaklı böbrek hasarını azaltma potansiyeli, histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve genetik düzeyde kanıtlanmıştır. Özellikle genetik bulgular, dekspantenolün hücrel düzeyde apoptoz ve inflamasyonu baskılama mekanizmalarını anlamak için önemli bir temel sunmaktadır. Bu bulguların literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırılması, dekspantenolün klinik uygulamalarda kullanım potansiyelini artırabilir ve gelecekteki araştırmalar için yol gösterici olabilir. Klinik uygulamalar ve ileri düzey deneysel çalışmalar, dekspantenolün farklı dozlarda ve uzun dönem etkilerinin daha iyi anlaşılmasına olanak sağlayabilir.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Günümüzde birçok tanıya ulaşabilmek için görüntüleme cihazları ve ürografın gibi kontrast maddeler kullanılmakta olup kullanılan ürografinin KKN'ye sebep olduğu bilinmekte ve günümüzde gelişen teknolojilere rağmen oluşan KKN'ye karşı veya KKN'den koruyucu herhangi bir madde literatürde bulunmamaktadır.Yapılan çalışmalarda ürografın'ın apopitozu indükleyici etkisi mevcuttur.Ayrıca yapılan çalışmalarda ve bizim çalışmamızda da ürografın verilen grup ile ürografın+dekspantenol verilen grup karşılaştırıldığında dekspantenol verilen grupta SIRT-1'de artış ,p53'te azalma ,Bax'ta azalma,bcl-2'de artma, TAS 'ta artışa,OSİ'de azalmaya sebep olmuş ve TOS,BUN ,Kreatinin değerlerinde ise anlamlı farklılığa sebebiyet vermemiştir.Buradan çıkacağı üzere hücresele düzeyde dekspantenol anti apopitotik özellik göstermekte olup kontrast madde nefropatisini azaltmak amacıyla protektif amaçlı kullanılabilir.

ÖZET

Dekspantenol'ün Diatrizoat Sonrası Oluşmuş Kontrast Nefropatisine Karşı Sirt 1, P53, Bcl2/Bax Yolakları Üzerinden Tedavi Edici Etki Mekanizmalarının Aydınlatılması

Kontrast maddeler günümüzde birçok tanıyı koymak ve tedaviye yol göstermek açısından tıbbi görüntülemelerde kullanılmakta ve normal doku ile patolojik olan arasında kontrast farkı sağlamaktadır. Bu sebeple gün geçtikçe daha da sık kullanılmaktadır. Ancak kontrast maddelerin insan vücudunda kullanım sırasında veya kullanımı sonrasında istenmeyen yan etkilere sebep olabilmektedir. Ancak bazı istenmeyen yan etkileri ciddi sonuçlar doğurabilmekte olup biz bunlar arasında en ciddi yan etkiler arasında olan kontrast nefropatisi hakkında çalıştık. Günümüzde birçok çalışma yapılmakla birlikte henüz kontrast nefropatisinin oluşmasını engellemek veya tedavi eden bir metot literatürde mevcut değildir. Bizde çalışmamızda deneysel olarak ratlarda kontrast nefropatisi modeli oluşturup kontrast nefropatisini önlemede veya tedavi edici etkisi hakkında dekspantenol ile çalıştık. Çalışmamızda 32 adet dişi Wistar Albino cinsi rat ile her grupta 8 adet hayvan olacak şekilde ilk grup kontrol grubu, ikinci grup radyokontrast grubu, üçüncü grup radyokontrast ve dekspantenol grubu ve dördüncü grup dekspantenol grubu olacak şekilde 4 gruba ayırdık. Gruplarımızdaki ratlardan böbrek dokularından histopatolojik, immünohistokimyasal incelemeler ve kan dokularından ise BUN-Kreatinin analizleri yapılmıştır.

Yaptığımız çalışma sonucunda bulgularımızda kreatinin ve üre değerlerinde üro grubu ile üro+deks grupları arasında anlamlı farklılık saptanmamış, üro grubu ile üro+deks grubu karşılaştırıldığında renal hasarın üro+deks grubunda histopatolojik düzeyde belirgin azaldığı, üro grubu ile üro+deks grubu karşılaştırıldığında üro+deks grubunda p53'te anlamlı azalma, bcl-2'de anlamlı artış, SIRT-1'de anlamlı artış, bax'ta anlamlı azalma, TNF-a'da anlamlı azalma, kaspaz 3'te anlamlı azalma mevcuttur.

Bulgulardan elde edilen verilere göre üro grubunda genetik, histopatolojik, immünohistokimyasal düzeylerde saptanan renal hasarın dekspantenol ile önlenileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelime: Apoptozis, Dekspantenol, Diatrizoat, Kontrast, Nefropatisi, Oksidatif Stres

SUMMARY

Elucidation of the Therapeutic Mechanisms of Dexpanthenol Against Diatrizoate-Induced Contrast Nephropathy via Sirt 1, P53, Bcl2/Bax Pathways

Contrast agents are now employed in medical imaging to facilitate numerous diagnoses, guide treatment, and provide contrast between normal and pathological tissue. Consequently, their utilization is increasing. However, contrast agents may induce undesirable side effects during or after application in the human body. Some of these adverse effects may have severe consequences, and our research focuses on contrast nephropathy, which is among the most serious side effects. Despite the numerous studies conducted, no method exists in the literature to prevent or treat contrast nephropathy. In our study, we developed a model of contrast nephropathy in rats and investigated the preventive or therapeutic effect of dexpanthenol on contrast nephropathy. The experimental model comprised 32 female Wistar Albino rats, which were divided into four groups of eight animals each. The first group served as the control group, the second group was exposed to radiocontrast, the third group was exposed to radiocontrast and dexpanthenol, and the fourth group was administered dexpanthenol. A comprehensive array of histopathological and immunohistochemical examinations was conducted on kidney tissues, complemented by BUN-Creatinine analysis of blood tissues.

The findings of our study revealed no statistically significant differences between the uro group and the uro+index groups with respect to creatinine and urea values. However, when the uro group was compared with the uro+index group, a significant reduction in renal damage was observed at the histopathologic level in the uro+index group. In contrast, when the uro group was compared with the uro+dex group, a significant decrease in p53, a significant increase in Bcl-2, a significant increase in SIRT-1, a significant decrease in Bax, a significant decrease in TNF- α , and a significant decrease in caspase 3 was observed in the uro+dex group.

The findings suggest that dexpanthenol can prevent renal damage detected at genetic, histopathologic, and immunohistochemical levels in the uro group.

Keywords: Apoptosis, Contrast Nephropathy, Dexpanthenol, Diatrizoate, Oxidative Stress

KAYNAKLAR

1. Lightfoot CB, Abraham RJ, Mammen T, Abdolell M, Kapur S, Abraham RJ. Survey of radiologists' knowledge regarding the management of severe contrast material-induced allergic reactions. *Radiology*. 2009;251(3):691-6.
2. Christopher J. Lote Principles of Renal Physiology 5 th Ed., New York :Springer,2012 ,p.21
3. Mescher Anthony Junqueira's Basic Histology Text & Atlas.14th Ed.,New York, Mcgraw-Hill Education 2016 p. 393.
4. El-Reshaid W, Abdul-Fattah H. Sonographic assessment of renal size in healthy adults. *Med Princ Pract*. 2014;23(5):432-6.
5. McMahon RS, Penfold D, Bashir K. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): May 1, 2024. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Kidney Collecting Ducts.
6. Scott RP, Quaggin SE. Review series: The cell biology of renal filtration. *J Cell Biol*. 2015 Apr 27;209(2):199-210.
7. Madrazo-Ibarra A, Vaitla P. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Feb 17, 2023. Histology, Nephron.
8. Falkson SR, Bordoni B. StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing; Treasure Island (FL): Aug 7, 2023. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Bowman Capsule.
9. Pollak MR, Quaggin SE, Hoenig MP, Dworkin LD. The glomerulus: the sphere of influence. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 Aug 07;9(8):1461-9.
10. Boron WF (2004). *Medical Physiology: A Cellular And Molecular Approach*. Elsevier/Saunders.
11. Prothero, John William, ed. (2015), *Urinary system, The Design of Mammals: A Scaling Approach*, Cambridge: Cambridge University Press, pp. 195–203
12. Martini FH, Tallitsch RB, Nath J. *Human Anatomy*,9th Ed Pearson; 2017.p 689
13. Pomara C, Pascale N, Maglietta F, Neri M, Riezzo I, Turillazzi E. Use of contrast media in diagnostic imaging: medico-legal considerations. *Radiol Med*. 2015;120(9):802-9.
14. Christiansen C. X-ray contrast media--an overview. *Toxicology*. 2005;209(2):185-7.
15. Dean JA, Lange NA. *Lange's Handbook of Chemistry*: McGraw-Hill; 1992.
16. Thomsen HS, Morcos SK. Radiographic contrast media. *BJU Int*. 2000;86 Suppl 1:1-10.
17. Katzberg RW. Urography into the 21st century: new contrast media, renal handling, imaging characteristics, and nephrotoxicity. *Radiology*. 1997;204(2):297-312.
18. Lightfoot CB, Abraham RJ, Mammen T, Abdolell M, Kapur S, Abraham RJ. Survey of radiologists' knowledge regarding the management of severe contrast material-induced allergic reactions. *Radiology*. 2009;251(3):691-6.
19. Singh J, Daftary A. Iodinated contrast media and their adverse reactions. *J Nucl Med Technol*. 2008;36(2):69-74; quiz 6-7.

20. McCullough PA, Wolyn R, Rocher LL, Levin RN, O'Neill WW. Acute renal failure after coronary intervention: incidence, risk factors, and relationship to mortality. *Am J Med.* 1997;103(5):368-75.
21. Dangas G, Iakovou I, Nikolsky E, Aymong ED, Mintz GS, Kipshidze NN, et al. Contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in relation to chronic kidney disease and hemodynamic variables. *Am J Cardiol.* 2005;95(1):13-9.
22. Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, et al. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation.* 2002;105(19):2259-64.
23. Moro AB, Strauch JGN, Groto AD, Toregeani JF. Creatinine level variation in patients subjected to contrast-enhanced tomography: a meta-analysis. *J Vasc Bras.* 2021;20:e20200161.
24. McCullough PA, Sandberg KR. Epidemiology of contrast-induced nephropathy. *Rev Cardiovasc Med.* 2003;4 Suppl 5:S3-9.
25. Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT. Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. *Am J Med.* 1983;74(2):243-8.
26. Katholi RE, Woods WT, Jr., Taylor GJ, Deitrick CL, Womack KA, Katholi CR, McCann WP. Oxygen free radicals and contrast nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 1998;32(1):64-71.
27. Deray G, Baumelou B, Martinez F, Brillet G, Jacobs C. Renal vasoconstriction after low and high osmolar contrast agents in ischemic and non ischemic canine kidney. *Clin Nephrol.* 1991;36(2):93-6.
28. Mehran R, Nikolsky E. Contrast-induced nephropathy: definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney Int Suppl.* 2006(100):S11-5.
29. McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F, Tumlin J. Risk prediction of contrast-induced nephropathy. *Am J Cardiol.* 2006;98(6a):27k-36k.
30. Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, Lasic Z, Iakovou I, Fahy M, et al. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(7):1393-9.
31. Romano G, Briguori C, Quintavalle C, Zanca C, Rivera NV, Colombo A, Condorelli G. Contrast agents and renal cell apoptosis. *European Heart Journal.* 2008;29(20):2569-76.
32. Pucelikova T, Dangas G, Mehran R. Contrast-induced nephropathy. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2008;71(1):62-72.
33. Heyman SN, Reichman J, Brezis M. Pathophysiology of radiocontrast nephropathy: a role for medullary hypoxia. *Invest Radiol.* 1999;34(11):685-91.
34. Katholi RE, Woods WT, Jr., Taylor GJ, Deitrick CL, Womack KA, Katholi CR, McCann WP. Oxygen free radicals and contrast nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 1998;32(1):64-71.
35. Deray G, Baumelou B, Martinez F, Brillet G, Jacobs C. Renal vasoconstriction after low and high osmolar contrast agents in ischemic and non ischemic canine kidney. *Clin Nephrol.* 1991;36(2):93-6.
36. Bakris GL, Gaber AO, Jones JD. Oxygen free radical involvement in urinary Tamm-Horsfall protein excretion after intrarenal injection of contrast medium. *Radiology.* 1990;175(1):57-60.

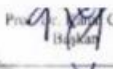
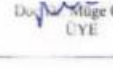

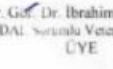


37. Romano G, Briguori C, Quintavalle C, Zanca C, Rivera NV, Colombo A, Condorelli G. Contrast agents and renal cell apoptosis. *European heart journal*. 2008;29(20):2569-76.
38. Hizoh I, Haller C. Radiocontrast-induced renal tubular cell apoptosis: hypertonic versus oxidative stress. *Investigative radiology*. 2002;37(8):428-34.
39. Yang Y, Wu Y-x, Hu Y-z. Rosuvastatin treatment for preventing contrast-induced acute kidney injury after cardiac catheterization: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine*. 2015;94(30):e1226.
40. Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer. *Ann Hematol*. 2005;84(10):627-39.
41. Proksch E, de Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *Journal of Dermatological Treatment*. 2017;28(8):766-73.
42. Biro K, ThaÇi D, Ochsendorf FR, Kaufmann R, Boehncke WH. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. *Contact dermatitis*. 2003;49(2):80-4.
43. Yesildağ A, Ozden A, Yilmaz HR, et al. Erdosteine modulates radiocontrast-induced hepatotoxicity in rat. *Cell Biochem Funct*. 2009;27(3):142-147.
44. Özden ES, Aşçı H, Büyükbayram Hİ, Sevük MA, İmeci OB, Doğan HK, Özmen Ö. Dexpanthenol protects against lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by restoring aquaporin-2 levels via regulation of the silent information regulator 1 signaling pathway. *Korean J Anesthesiol*. 2023 Oct;76(5):501-509.
45. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 38(12):1103–1111).
46. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem* 37(4):277–28
47. Selenium exerts protective effects on inflammatory cardiovascular damage: molecular aspects via SIRT1/p53 and Cyt-c/Cas-3 pathways. *Mol Biol Rep* 50, 1627–1637 (2023).
48. Li, W. et al. (2020) - Radiocontrast agents and oxidative stress-induced renal damage: Pathophysiology and potential therapies. *Journal of Nephrology*, 33(4), 567–578.
49. Shah, A. et al. (2021) - Histopathological effects of contrast media on renal tissues in experimental models. *Journal of Renal Pathology*, 10(3), 345–356.
50. Zager, R. A. et al. (2005) - Pathophysiological mechanisms of radiocontrast-induced nephropathy: Role of oxidative stress and tubular apoptosis. *Kidney International*, 67(2), 531–539.
51. Saeedi, P. et al. (2021) - The role of dexpanthenol in wound healing and tissue regeneration. *International Wound Journal*, 18(4), 456–466.
52. Zhao, Z. et al. (2018) - Inflammatory cytokines and radiocontrast media nephrotoxicity: A review of current understanding. *Clinical Nephrology*, 89(1), 12–20.
53. Arıkan, C. et al. (2019) - Anti-inflammatory effects of dexpanthenol on renal tissue in experimental models. *Experimental Biology and Medicine*, 244(8), 689–697.
54. Ahmed, A. et al. (2020) - Oxidative stress and antioxidant therapies in radiocontrast-induced nephropathy. *Free Radical Biology and Medicine*, 146, 98–110.

55. Naziroğlu, M. et al. (2022) - Dexpanthenol's role in cellular antioxidant defense and renal protection. *Antioxidants*, 11(3), 322.
56. Wang, Y. et al. (2021) - The impact of radiocontrast agents on apoptotic pathways: Role of p53 and Bcl-2 family proteins. *Molecular Medicine Reports*, 23(6), 123.



EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI KARAR		
Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
09.05.2024	06	298
SDÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 09.05.2024 tarihinde saat-10:00'da toplanarak aşağıdaki kararlar alınmıştır;		
Karar: 298 Proje Yürütücüsü: Dr Öğr Üyesi Demet GÜNDÜZ (Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Radyoloji ABD) Yürütüçülüğünde. Yardımcı Araştırmacılar: Arş. Gör. Dr.Cenk Mustafa HAVABULUT, Doç. Dr. Mehtap Savran, Doç. Dr. İltis İlhan, Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Yusuf Tepebaşı ve Abdurrahman Güral'ın yardımcı araştırmacı olarak yer " <u>Dekspantenol'ün Dintrizoat sonrası oluşmuş kontrast nefropatisine karşı SIRT 1, p53, Bcl2/Bax volakları üzerinden tedavi edici etki mekanizmalarının aydınlatılması</u> " başlıklı SDÜ bilimsel araştırma projesi etik kurulumuzca oybirliği ile <u>UYGUNLUĞUNA</u> karar verilmiştir.		
 Prof. Dr. Pinar ASLAN KOŞAR Başkan Yardımcısı	KATILMADI	KATILMADI
 Prof. Dr. Duygu KUMBUL ÜYE	Prof. Dr. Pinar ASLAN KOŞAR Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Duygu KUMBUL ÜYE
 Dr. Öğr. Üyesi Müge ÇINA ÜYE	Prof. Dr. Omer ÇELİK ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Somer ÖZCAN UYI
 Dr. Öğr. Üyesi Gülşah USTA SOFU ÜYE ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Yusuf TEPEBAŞI ÜYE	KATILMADI Dr. Öğr. Üyesi Mesut ERGAN ÜYE
 Öğr. Gör. Dr. İbrahim ONARAN (HÜDAİ) Sorumlu Veteriner Hekimi ÜYE	 VET Hekim Ayşegül AVŞAR SIVİL ÜYE	Nursan BECİREN SIVİL ÜYE