



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI

**RATLARDA GLİSEROL İLE OLUŞTURULAN
RABDOMİYOLİZİN SEBEP OLDUĞU AKUT BÖBREK
YETMEZLİĞİNDE DEKSPANTENOLÜN KORUYUCU
ETKİNLİĞİ**

Dr. Fadimana KOYUNCU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Filiz Alkaya SOLMAZ

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından TTU-2023-9100 nolu proje ile desteklenmektedir.**

ISPARTA-2024

BEYAN

“Ratlarda Gliserol ile Oluşturulan Rabdomiyolizin Sebep Olduğu Akut Böbrek Yetmezliğinde Dekspantenolün Koruyucu Etkinliği” adlı Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi SDÜ Tıp Fakóltesi Uzmanlık Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne 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

Dr. Fadimana KOYUNCU

Danışman

Doç. Dr. Filiz ALKAYA SOLMAZ

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmam ve uzmanlık eğitimim sürecinde bana ışık tutan, varlıklarını esirgemeyen saygıdeğer ve kıymetli hocalarıma, sevgili arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmam Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-9100 nolu proje numarası ile desteklenmiştir. Bilimsel Araştırma Proje Koordinasyon Birimine projedeki desteklerinden ötürü teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BEYAN.....	i
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Akut Böbrek Yetmezliği.....	4
2.1.1. Prerenal Böbrek Yetmezliği	5
2.1.2. Renal (İntrinsik) Böbrek Yetmezliği	6
2.1.2.1. Akut Tübüler Nekroz	6
2.1.2.2. Miyoglobininürik ABY	7
2.1.3. Postrenal Böbrek Yetmezliği	8
2.1.4. Akut Böbrek Yetmezliğinin Tanısı.....	8
2.1.4.1. Serum Sistatin C.....	9
2.1.5. RIFLE, AKI ve KDIGO Sınıflaması	10
2.2. Crush Sendromu ve Rabdomiyoliz	12
2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikalleri.....	13
2.4. Antioksidan Sistem.....	15
2.5. Antioksidan ve Oksidan Kapasite Analiz Yöntemleri.....	16
2.6. Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Edilen Reseptör Gama Koaktivatörü-1 Alfa: (PGC-1 α).....	17
2.7. Sirtuin 3	20
2.8. Dekspantenol	22
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	24
3.1. Deney Hayvanları	24
3.1.1. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Deneyin Yapılması	25
3.2. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri	28
3.2.1. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	28

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Ve Kitler	28
3.3. Histopatolojik Analiz Yöntemleri.....	31
3.3.1. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	31
3.3.2. Kullanılan Kimyasal ve Kitler	31
3.4. Genetik Analiz Yöntemleri.....	33
3.4.1. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar	33
3.4.2. Kullanılan Kimyasal ve Kitler	33
3.5. İstatistiksel Analiz	40
4. BULGULAR	42
4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları	42
4.2. Genetik İnceleme	49
4.3. Histopatolojik İnceleme Sonuçları	50
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	65
ÖZET.....	67
ABSTRACT	68
KAYNAKÇA	69
EKLER.....	77
Ek 1. Etik Kurul Kararı.....	77

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ADP	: Adenozin Difosfat
Ark	: Arkadaşları
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
ATP	: Adenozin-5' - Trifosfat
CAT	: Katalaz
cDNA	: Komplementer DNA
CK	: Kreatin Kinaz
Cq	: Eşik Döngüsü (cycle threshold).
cre	: Kreatinin
DEX	: Dekspantenol
dk	: Dakika
dl	: Desilitre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ELISA	: Enzyme-Linked İmmunosorbent Assays
g	: Gravite
GFH	: Glomerül Filtrasyon Hızı
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
gr	: Gram
H&E	: Hematoksilen-Eosin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
im	: İntramuskuler
ip	: İntraperitoneal
L	: Litre
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram

ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
mtDNA	: Mitokondrial DNA
NAD⁺	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
Nrf	: Nükleer Eritroid İle İlişkili Faktör
OSI	: Oksitadif Stres İndeksi
PENIA	: Particle-Enhanced Nephelometric Immunoassay
PETIA	: Particle-Enhanced Turbidimetric Immunoassay
PGC-1α	: Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Edilen Reseptör Gama Koaktivatörü-1 Alfa
qpcr	: Hızlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rcf	: Rölatif Santrifüj Kuvveti
RIFLE	: Risk, Injury, Failure, Loss of Function, and End-stage
RM	: Rabdomyoliz
RNA	: Ribonükleik Asit
SIRT-3	: Silent Information Regulator-3
SOD	: Süperoksid Dismutaz
SOR	: Serbest Oksijen Radikali
SPE	: Screen-Printed Electrode
TAS	: Total Antioksidan Seviye
TBA	: Tiyoarbitürik Asit
TCA	: Trikloroasetik Asit
TEP	: 1,1,3,3-tetraetoksipropan
TNF-α	: Tümör nekrozis faktör alfa
TOS	: Total Oksidan Seviye

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Oksidatif Denge	14
Şekil 2.2. PGC-1 α ailesi, yapısı ve fonksiyonları	18
Şekil 2.3. Mitokondriyal Hasarla İlişkili Böbrek Hasarı (103) Mitokondri (Mit).....	19
Şekil 2.4. Sirtuinlerin Hücrel Lokalizasyonları	20
Şekil 2.5. SIRT-3 ve Renal Hasar Mekanizmaları.....	21
Şekil 2.6. Dexpantenolün Kimyasal Yapısı	22
Şekil 2.7. Pantotenik Asit Kimyasal Yapısı.....	22
Şekil 4.1. PGC-1 α ve SIRT-3 Rölafif mRNA Ekspresyon Sonuçları ve Gruplar Arası İstatistiksel Karşılaştırma Grafiği.	49
Şekil 4.2. Kontrol Grubu Böbrek Kesiti.	53
Şekil 4.3. Kontrol Grubu Böbrek Medullası Kesiti	53
Şekil 4.4. DEX Grubu Böbrek Medullası Kesiti.	54
Şekil 4.5. DEX Grubu Böbrek Kesiti.	54
Şekil 4.6. RM Grubu Böbrek Tübüler Kesiti.....	55
Şekil 4.7. RM Grubu Böbrek Glomerüler Kesiti	55
Şekil 4.8. RM Grubu Böbrek Glomerülo-Tübüler Kesiti	56
Şekil 4.9. RM Grubu Böbrek Medullası Kesiti	56
Şekil 4.10. RM+DEX Grubu Böbrek Medullası Kesiti	57
Şekil 4.11. RM +DEX Grubu Böbrek Tübüler Kesiti	57
Şekil 4.12. RM +DEX Grubu Böbrek Glomerülo-Tübüller Kesiti.....	58

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1. Ratların Çalışma Gruplarına Ayrılması.....	24
Resim 3.2. Dekspantenol Uygulanması.....	26
Resim 3.3. A. Rat’a Anestezik Madde Uygulanması B. Vena Cava İnferiordan Kan Alınması	26
Resim 3.4. Rat Böbreği.....	27
Resim 3.5. Rat Böbreğinin Porsiyonlanması.....	27
Resim 3.6. Draper ve Hadley’in Çift Isıtma Yöntemi ile MDA Tayini	30
Resim 3.7. RNA Örneklerinin Nanodrop Cihazında Saflık ve Miktar Tayininin Yapılması	35
Resim 3.8. cDNA Sentezi için RNA Örnekleriyle Pipetaj İşlemi	36
Resim 3.9. RNA Örneklerinin cDNA Sentezi İçin Hazırlanması	36
Resim 3.10. Termal Döngü Cihazına Hazırlanan Karışım Örneklerinin Yüklenmesi	37
Resim 3.11. Biorad CFX96 (California/USA) Gerçek Zamanlı PCR Cihazı.....	40
Resim 3.12. Biorad CFX96 (California/USA) Gerçek Zamanlı PCR Cihazında Gen Ekspresyon	40

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. ABY'nin Etiyolojisi	5
Tablo 2.2. RIFLE Kriterleri.....	11
Tablo 2.3. AKIN Kriterlerine Göre ABY Dereceleme Sistemi.....	11
Tablo 2.4. KDIGO Sınıflaması.....	12
Tablo 3.1. 20 µl Revers Transkriptaz Reaksiyon Karışımı	35
Tablo 3.2. Revers Transkriptaz Termal Siklus Protokolü	37
Tablo 3.3. Genler ve Genlere ait Spesifik Primer Dizilimleri	38
Tablo 3.4. PCR Reaksiyonu Karışımı	39
Tablo 3.5. Gerçek Zamanlı PCR Döngüsü.....	39
Tablo 4.1. Biyokimya Parametrelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması	42
Tablo 4.2. TAS, TOS, OSI Parametrelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması	42
Tablo 4.3. MDA ve Katalaz Parametrelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması.....	43
Tablo 4.4. Kontrol ve RM Gruplarının Karşılaştırılması	43
Tablo 4.5. Kontrol ve DEX Gruplarının Karşılaştırılması	44
Tablo 4.6. Kontrol ve RM+DEX Gruplarının Karşılaştırılması.....	45
Tablo 4.7. RM ve DEX Gruplarının Karşılaştırılması	46
Tablo 4.10. PGC-1α ve SIRT-3'ün Gruplar Arasında Karşılaştırılması	49
Tablo 4.11. PGC-1α ve SIRT-3'ün Tüm Gruplar Arasında Karşılaştırılması.....	50
Tablo 4.12. Grupların Histolojik Karşılaştırılması.....	51

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut Böbrek Yetmezliği (ABY), öncesinde kronik böbrek yetmezliği olsun ya da olmasın böbrek fonksiyonlarının birkaç saat veya gün içinde bozulmasıdır. Kan dolaşımında üre ve kreatinin artışı, glomerüler filtrasyon hızının (GFH) azalması ile karakterize bir durumdur. Akut böbrek yetmezliği tanısında kan üre azotunun artması, serum kreatinin seviyesindeki artışlar renal vazokonstriksiyonunun göstergeleridir (1, 2). Glomerüler filtrasyon hızında düşme olmadan önce böbrekte meydana gelen hasarın gösterilmesi tanıda önemli noktalardan biridir. Sistatin C, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin plazmada bulunur ve bu belirteçler ABY'nin erken tanısında kullanılır (3). Mortalite oranının yüksek olması, hastanede uzun kalış süresi ve kronik böbrek hastalığına ilerlemenin hızlı olması ile ABY önemli bir klinik sorundur (4). Akut böbrek yetmezliği, yoğun bakım ünitesindeki hastaların %50'sini etkiler. Sürekli renal replasman tedavisi ihtiyacı olan ciddi ABY hastalarında mortalite oranı artar (5). Volüm ekspansiyonu, alkalinizasyon, mannitol, antioksidanlar, fiziksel tedaviler ABY'de uzun zamandır kullanılan tedavilerdir. Hem proteinleri ile indüklenen oksidan hasarın ve renal hasarın önlenmesi tedavinin önemli aşamalarındandır. Literatürde glutatyon, vitamin E gibi antioksidan ajanların tedaviye eklenmesiyle ilgili çalışmalar mevcuttur (6). Rabdomiyolize bağlı gelişen ABY'de birçok ilacın antioksidan etkisi ile koruyucu etkinliğin gösterilmesine rağmen rutin klinik kullanımda olan bir ilaç henüz yoktur.

Rabdomiyoliz; kas dokusunun parçalanması ve nekrozu sonucunda kas lifindeki elektrolitler, kreatin kinaz, miyogloblin gibi bileşenlerin kan dolaşımında serbest kalmasıdır (7). Travma, yoğun egzersiz, enfeksiyon, ilaçlar ve toksinler en sık belirtilen etiyolojik faktörlerdir (8). Kas yıkımı sonrasında hasarlı kas hücrelerinden miyogloblin salınımı ile hemoglobinüri ve miyogloblinüri ortaya çıkar. Miyogloblin renal vazokonstriksiyon ve tübüler obstrüksiyon, tübüler yaralanma ve lipid peroksidasyon mekanizmaları ile ABY oluşumunu tetikler (9).

Akut böbrek yetmezliğinin patofizyolojisinin araştırılması, farklı ilaç tedavilerinin anlaşılabilmesi için birçok hayvan modeli üzerinde çalışılmıştır. Gliserol ile oluşturulmuş ABY'nin patofizyolojisinde miyogloblinüri, akut tübüler nekroz ve renal vazokonstriksiyon vardır (10-12).

Serbest oksijen radikalleri (SOR) çiftlenmemiş elektronu olan, kısa ömürlü, kararsız kimyasal ürünlerdir (13). Serbest oksijen radikalleri oluşumunun aşırı artması ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması ile hücrel lipit, DNA ve protein yapılarında çeşitli düzeylerde hasar oluşur. Serbest oksijen radikalleri oluşumunun artışının biyolojik sistemde en önemli etkileri lipitler üzerine olan etkileridir. Lipit peroksidasyonu, zar fosfolipitlerinin yükseltgenerek peroksit türevlerine dönüşümüdür (14). Malondialdehit (MDA), SOR' un neden olduğu lipit oksidasyonunun yan ürünüdür. Malondialdehit lipit peroksidasyonun derecesi ile iyi korelasyon gösterir (15). Hücrede enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlarla SOR'un zararlı etkileri düzenlenebilir. Glutasyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT), hücreleri SOR'un olumsuz etkilerine karşı koruyan enzimatik antioksidanlardır (16).

Mitokondriyal disfonksiyon, ABY patogeneğinde yer alan anahtar bir mekanizmadır. Peroksizom proliferatörüyle aktive edilen reseptör gama koaktivatörü-1 alfa (PGC-1 α) ve silent information regulator-3, (sirtuin-3, SIRT-3) mitokondriyal biyogeneze ve fonksiyonda önemli rol oynayan iki proteindir. PGC-1 α , böbrek dahil olmak üzere çeşitli dokularda mitokondriyal biyogeneze ve işlevi düzenleyen bir transkripsiyonel koaktivatördür. PGC-1 α 'nın artmış ekspresyonu, proksimal tübüler hücrelerde mitokondriyal sayı, mitokondriyal aerobik solunum kapasitesi ve hücre içi ATP konsantrasyonunda güçlü artış sağlar ve oksidatif hasar sonrası onarım ve iyileşmeyi destekler (17).

Sirtuinler, hücrel işlevleri çok çeşitli olan ve nikotinamid adenin dinükleotit (NAD⁺) bağımlı deasetilaz aktivitesine sahip yapılardır. SIRT-3 mitokondriyal matrikste bulunur, elektron transport zincirindeki komplekslerin asetillenmesiyle ATP üretimine katkıda bulunur (18). SIRT-3'ün mitokondriyal dinamikleri, oksidatif stresi ve apoptozu düzenleyerek ABY patogeneğinde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir (19). SIRT-3, PGC-1 α tarafından aktive edilerek oksidatif strese karşı savunmayı ve mitokondriyal iyileşmeyi artırır (20). PGC-1 α ve SIRT3'ün ABY'de koruyucu etkileri, bu proteinlerin ABY'de yeni tedavilerin geliştirilmesi için potansiyel hedefler olabileceğini düşündürmektedir.

Dekspantenol (DEX), pro-vitamin B5 olarak da bilinen pantotenik asidin alkol analogudur (21). Pantotenik asit, birçok metabolik yolda yer alan koenzim A'nın temel bir bileşenidir. DEX lipit peroksidasyonunu bloke ederek antioksidan etkinlik gösterir (22, 23). Rabdomiyoliz hasarı olan insanlarda yapılan bir çalışmada, DEX tedavisinin, kontrol hastalarına kıyasla hastanede kalış süresinde ve diyaliz ihtiyacında önemli bir azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur (24). DEX'in rabdomiyoliz hasarında koruyucu etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Literatürde DEX'in, kas hasarını azaltmaya ve böbrek hasarına karşı korumaya yardımcı olabilecek antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olabileceği öne sürülmüştür (25).

Rabdomiyoliz deprem gibi doğal afetlerde epidemi olarak sağlık sisteminin yükünü artıran bir durumdur. Birçok organ üzerine etkisi olduğu bilinmektedir. Rabdomiyolizin böbrek üzerinde oluşturduğu pek çok hasar erken tedavi modalitelerinin gelişmesi, önlemlerin alınması ile önlenabilir. Literatürde rabdomiyolizin sebep olduğu ABY'de, DEX'in koruyucu etkinliğini ve genetik mekanizmasını araştıran yeterli çalışma yoktur. Literatürde mevcut olan çalışmalar koruyucu etkinliğin genetik biyobelirteçlerle anlaşılması açısından yetersizdir. Çalışmamızda rabdomiyoliz oluşturulan ratlarda gelişen ABY'de, DEX'in koruyucu etkinliğini biyokimyasal, histopatolojik ve genetik biyobelirteçler eşliğinde araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY), genel itibari ile glomerül filtrasyon hızında (GFH) azalma olması sonucunda kan dolaşımında kreatinin, üre ve diğer üremik toksinlerin artışı olarak tanımlanmaktadır. ABY günler veya haftalar içinde ortaya çıkabilir (1).

Böbrek hasarının biyopsi dışında direkt olarak değerlendirilmesi mevcut teknolojik imkânlarla mümkün değildir. Bu yüzden glomerüler veya tübüler hücre hasarının değerlendirilmesi için günümüzde birçok üriner biyobelirteç kullanılmaktadır. Sistatin C ve nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin plazmada bulunur ve bu biyobelirteçler ABY'nin erken tanısında kullanılır. Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, IL-18, alfa-1 mikroglobulin, fetuin-A, meprin ve gro-alfa idrarda analiz edilebilen ve erken tanıda yardımcı biyobelirteçlerdir (3).

Akut Böbrek Yetmezliği olan hastalarının üçte ikisinde böbrek fonksiyon bozukluğu geri dönüşümlüdür. Fonksiyon bozukluğu devam ettiğinde kronik böbrek yetmezliği ve çoklu organ yetmezliği gelişebilir (26). Multi organ yetmezliği, direkt böbrek kaynaklı olabileceği gibi böbrekteki fizyolojik karmaşıklığın nörohumoral feedback ile diğer organlarda fonksiyon bozukluğunun sonucunda gelişebilir (27).

Hastanede yatan hastalarda % 5-7.5, yoğun bakım hastalarında % 50-60 oranında ABY görülür. ABY yoğun bakım ünitesine kabul edilen hastalarda sık görülen komplikasyondur. Hastane kaynaklarının kullanımında artış ve yüksek ölüm riski nedeni ile ABY önemli bir klinik sorundur (28). Hastanede yatan hastalarda ABY gelişiminin önlenmesi için hastaların hemodinamik durumlarının stabilizasyonun sağlanması ve nefrotoksik ajanlardan kaçınılması gerekmektedir. Hastalığın etiyolojik, patofizyolojik ve klinik bulgular gibi multifaktöriyel durumların anlaşılması ile ABY gelişimi önlenabilir (29).

Etiyolojik olarak ABY 3 grupta incelenebilir (Tablo 2.1)

Prerenal ABY, renal perfüzyonun azalması ve sonuçta GFH' nin düşmesi ile ilişkilidir (30).

Renal ABY, sıklıkla glomerüler, tübüler, damar veya interstisyumda meydana gelen hasarla oluşur. Akut tübüler nekroz en sık karşılaşılan renal ABY sebebidir. Akut tübüler nekroz, miyoglobininüri nedeni ile tübüler miyoglobinin tıkaçlarının oluşması sonucunda gelişebilir (31). Tübüllerde iskemi veya nefrotoksisteden ötürü hasar mevcuttur (30).

Postrenal ABY, alt veya üst üriner yoldan kaynaklı bir nedenden dolayı idrar akışının bozulmasıdır. Postrenal ABY'nin en sık sebebi prostat hipertrofisidir (30).

Tablo 2.1. ABY'nin Etiyolojisi (30)

Prerenal ABY (Böbrek perfüzyonunun azalması)	Renal ABY (Böbreğin kendisinin hasarı)	Postrenal ABY (İdrar atılımında obstrüksiyon)
İntravasküler volüm kaybı • Sepsis • Kanama • Aşırı diürez • Kusma • Diyare Efektif kan hacminde azalma • Kalp yetmezliği • Karaciğer yetmezliği • Hepatorenal sendrom • Nefrotik sendrom İlaça bağlı böbrek kanlanması bozulması • ACE inhibitörleri • NSAİ ilaçlar	Akut Tübüler Nekroz • İskemi • Toksinler ve İlaçlar • Radyolojik kontrast madde Glomerüler Hastalıklar • RPGN • Pulmoner-renal sendrom Vasküler Hastalıklar • HSP ateroemboli • TTP • HELLP • Postpartum ABY İnterstisyel Hastalıklar	Bening Prostat Hipertrofisi Prostat kanseri Pelvik kitle Nörojenik mesane Üretral tıkanıklık Bilateral üreter taşı

2.1.1. Prerenal Böbrek Yetmezliği

Böbrek yetmezliği vakalarının %50'sinin sebebi prerenaldır. Genellikle hipoperfüzyonla ilişki azotemi olarak bilinir. Prerenal böbrek yetmezliğinin doğal seyrini, görülme sıklığını, morbiditesini belirlemek güçtür. Prerenal böbrek yetmezliği sıvı tedavisi ile geri döndürülebilir. Sıvı tedavisinin geç başlanması ile irreversibl durum gelişebilir (32).

2.1.2. Renal (İntrinsik) Böbrek Yetmezliği

Renal böbrek yetmezliği, böbreğin etkilenen kısmına göre tübüler, glomerüler, interstisyel, vasküler olarak kategorize edilir. Renal böbrek yetmezliği iskemi ve nefrotoksik ajanların sebep olduğu akut tübüler nekrozdur. Ciddi travmaya, kanamaya ve sepsise bağlı tübüler epitel hücrelerinde meydana gelen hipoperfüzyon sonucu renal böbrek yetmezliği oluşur. Bu iskemik hasarlanma renal ABY' ye sebep olur (33). Prerenal ABY'nin aksine renal böbrek yetmezliği sıvı tedavisiyle düzelmez. Renal replasman tedavisi gerekebilir.

2.1.2.1. Akut Tübüler Nekroz

Akut tübüler nekroz (ATN), ABY'nin en sık sebebi olup temel hasar tübüllerdedir. Hastanede yatan hastalarda ATN sık görülür ve de yüksek mortalite ve morbidite sebebidir. İlaç toksisitesinin direkt etkisi ile iskemi ya da nefrotoksik olaylardan kaynaklanır. Prerenal azotemi de (ishal, kusma, kanama, dehidrasyon, yanık, diüretikler, üçüncü boşluklara olan sıvı kayıpları hipovolemi yaparak) ATN ile sonuçlanır (34).

Böbreklerden metabolize olan bazı ilaçlar ekzojen toksinler gibi davranarak ATN'ye yol açabilir. Aminoglikozidler, amfoterisin B, radyokontrast madde, asiklovir, sisplatin, takrolimus, foskarnet ve süktroz içeren intravenöz (iv) immünglobulin ATN'ye sebep olabilir (35).

Glomerüler filtrasyon hızının azalması ATN ile ilişkilidir. Temel fizyopatolojisinde tübüler obstrüksiyon, afferent arteriolar vazokonstriksiyon ve glomerüler filtratın geri sızıntısı vardır. Bu fizyopatolojik olaylar hastanın kan laboratuvar değerlerine GFH'nin akut düşüşü, serum kreatinin ve BUN konsantrasyonunun ani artışı olarak yansır (34, 36).

Rabdomiyoliz, iskelet kası yıkımının sonucunda kas lifinden elektrolitler, miyogloblin, kreatin kinaz ve diğer sarkoplazmik proteinler gibi bileşenlerin hücre dışı sıvıda ve kan dolaşımında serbest kalmasıdır (7). Kas yıkımı sonrasında hasarlı kas hücrelerinden miyogloblin salınımı ile hemoglobinüri ve miyogloblinüri ortaya çıkar (7, 9). Distal ve toplayıcı tübüllerde kırmızı-kahverengi renkli hemoglobin ve miyogloblinin birikmesi ile ATN oluşur (34). Miyogloblin renal vazokonstriksiyon ve

tübüler obstrüksiyon, tübüler yaralanma ve lipid peroksidasyon mekanizmaları ile miyoglobinürik ABY oluşumunu tetikler (9, 15).

2.1.2.2. Miyoglobinürik ABY

Rabdomiyoliz çeşitli etiyolojik sebeplerle akut iskelet kas hasarının oluşmasıdır. Deprem veya patlama sonrasında oluşan ezilme (Crush) sendromu, yoğun atletik aktivite sonrasındaki efor, tromboembolizm, turnike kullanımından dolayı oluşan vasküler oklüzyon veya çeşitli ilaçlar rabdomiyolize yol açabilir (37). Rabdomiyolizin sebep olduğu klinik tablo asemptomatik kreatin kinaz (CK) yükselmesinden, elektrolit imbalansı ve CK'nın aşırı yükseldiği ABY gibi hayati tehdit oluşturan duruma yol açar. Travmatik (rabdomiyoliz) ve non-travmatik etkenlerden dolayı miyoglobinürik ABY gelişebilir (38).

Crush sendromu, deprem gibi yıkıcı afetler sonrasında ölümün en sık ikinci nedenidir. Crush sendromuna bağlı gelişen ABY'nin patogenezi çok yönlüdür. Travmaya bağlı gelişen ezilme sendromunda baromiyopati gelişir. Miyoglobin, potasyum, fosfat gibi kas içinde bulunan maddeler hücre dışına doğru yer değiştirirken, sodyum, klor, su, kalsiyum elektrokimyasal gradiyentlerine göre hücre içine doğru yer değiştirir. Sonuçta hücresel şişmeye (kompartman sendromuna) yol açar. Kas liflerinin parçalanmasıyla rabdomiyoliz oluşur. Kas yıkımı sonrasında oluşan miyoglobin glomerüller tarafından filtre edilir. Travma, hipotermi, ezilme sendromu, ağır egzersiz, enfeksiyon, ilaçlar, toksinler, hipoksik yaralanma miyoglonüriye neden olur. Miyoglobin 0.5-1.5 mg/dl seviyesine gelene kadar idrarda görülmezken 100 gr kasın yıkılması ile serum seviyesi 1.5 mg/dl'yi aşar ve miyoglobinüri gelişebilir. Miyoglobinin indüklediği nefropatinin patofizyolojisi şu şekilde özetlenebilir:

Hasarlı miyositlerin sıvı tutması sebebiyle hipovolemi gelişir. Renin-anjiyotensin sistemi aktive olarak renal vazokonstriksiyon oluşur. İskemik ATN, hipovolemi ve renal hipoperfüzyona bağlı gelişir. Heme proteininin, özellikle miyoglobinin, tübüllere toksik etkisi ortaya çıkar. Miyoglobin ve distal tübüllerdeki Tamm-Horsfall proteinin etkileşimi ile tübüler obstrüksiyon oluşur (39).

Miyoglobinin ile miyoglobin tıkaçlarının oluşumu tübüler toksisiteye yol açar. Crush sendromu sepsis, kanama, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği ve elektrolit dengesizliklerine neden olur. Bunlar ABY tablosunu şiddetlendirir. Crush sendromunun erken tanınması, elektrolit dengesizliklerinin yönetimi, erken hidrasyona başlanması renal hasarı azaltmaya yardımcı olur (31).

Akut böbrek yetmezliğinin patofizyolojisinin ve farklı ilaç tedavilerinin aydınlatılabilmesi için birçok hayvan modeli üzerinde çalışma yapılmıştır. Gliserol ile oluşturulmuş miyoglobininrik ABY, ATN ve renal vazokonstriksiyonun artması ile karakterizedir (40-42). Gliserol, hücrede DNA'ya zarar vererek SOR üretimini artırarak hücrede oksidatif strese sebep olur (43). Miyoglobininrik ABY patofizyolojisinde; mitokondride meydana gelen SOR sorumludur (44). Mitokondri ve oksidatif stres faktörlerinin ABY'deki rolü mitokondri hedefli antioksidanlar (plastokinon, polifenolik asit) kullanılarak gösterilmiştir (45).

2.1.3. Postrenal Böbrek Yetmezliği

Postrenal böbrek yetmezliği sıklıkla obstrüksiyon sebebiyle olur (30). Tedavisi obstrüksiyon sebebinin ortadan kaldırılmasıdır.

2.1.4. Akut Böbrek Yetmezliğinin Tanısı

Kanda nitrojen yıkım ürünlerinin artması, serum kreatinin düzeyinin artışı, GFH'ın azalması ABY ile karakterizedir. Kan üre azotunun artması, serum kreatinin seviyesindeki artışlar ABY'de renal vazokonstriksiyonun göstergeleridir (6, 29, 30, 33). Böbrek hasarı çok önceden başlamasına rağmen, GFH belirli bir düzeye düşmedikçe ABY'de serum kreatinin düzeyi artmaz. Bu yüzden serum kreatinin ve üre artışı ABY tanısı koymak için yetersiz biyobelirteçlerdir. Tanıdaki önemli noktalardan biri GFH'da düşme olmadan böbrekte meydana gelen hasarın gösterilmesidir. Sistatin C, α glutatyon s-transferaz, alanin aminopeptidaz, LDH, hepatosit büyüme faktörü, trombosit aktive edici faktör, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin plazmada bulunur ve ABY'nin erken tanısında kullanılır (46). Sistatin C, serum kreatinine göre kronik hastalıklar, beslenme değişiklikleri, kas kütlesindeki değişikliklerden daha az etkilenir. Bu sebeple ABY'nin erken tanısında serum kreatinininden daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (47). Hipokalsemi, hipofosfatemi,

hipermagnezemi, hiperkalemi gibi elektrolit değişikliklerinin olduğunu gösteren laboratuvar sonuçları ve bulantı, iştahsızlık, perikardit gibi klinik durumların varlığı ABY' nin tanısında önemli bir yere sahiptir (30).

2.1.4.1. Serum Sistatin C

Ağırlığı 13 kilodalton olan düşük molekül ağırlıklı serum Sistatin C, bir proteaz inhibitörüdür. Çekirdekli her hücrede aynı hızda üretilir ve sistein proteaz ailesine ait bir proteindir (48). Serum kreatinininden farklı olarak yaş, ırk ve cinsiyet gibi faktörlerden etkilenmez. Serum Sistatin C üretimi günün saatleri içerisinde değişiklik göstermez ve üretimi diüurnal ritimden bağımsızdır (48).

Serum Sistatin C üretim hızı kas kütlesinden bağımsız olduğu için klinik kullanımda avantaj sağlar. Çünkü GFH ölçümü kreatin bazlıdır. Kimyasal ve fiziksel özellikleri dikkate alındığında kan konsantrasyonu GFH bağımlı ideal bir endojen gösterge gibi durmaktadır (2, 49, 50). Serum kreatinin ve serum Sistatin C'nin GFH düşüşü sonrası değişimleri karşılaştırıldığında serum Sistatin C'nin daha hızlı yükseldiğı tespit edilmiştir .

Sistatin C serum örnekleri - 20 °C bir dondurucuda bir hafta, - 80 °C'de ise en az 6 ay kadar sabit kalabilir (51). Sistatin C böbreklerden elimine edilir. Molekül ağırlığının düşük olması glomerüllerden serbestçe süzülmesini sağlar. Proksimal tübül hücrelerinden büyük kısmı geri emilip katalize olur (52). Yaşlılarda ve genel popülasyonda Sistatin C mortalite ve kardiyovasküler olaylar açısından serum kreatinininden daha belirleyicidir (53).

Serum Sistatin C için yaşa göre referans aralıkları (54);

1-16 yaş : 0, 63- 1, 33 mg/L

16- 65 yaş : 0,48- 0,98 mg/L

65 yaş üzeri : 0, 93- 3, 35 mg/L

Glomeruler filtrasyon hızının belirlenmesinde sıklıkla kullanılan endojen ajanlar kreatinin ve Sistatin C'dir. Kreatin konsantrasyonu kas kitlesi ile koreledir. Bazı fizyolojik, patolojik, farmakolojik durumlarla serum konsantrasyonu değişebilir. Renal hasarı olan hastalarda GFH, kreatinin tübüler sekresyonundan dolayı yüksek bulunabilir. Sistatin C'nin idrarla çok az atılması, kas kitlesinden

etkilenmemesi, sadece serum örneği ile sonuç alınması GFH ölçümünde endojen ajan olarak Sistatin C'yi avantajlı göstermektedir. Fakat serum Sistatin C düzeyi obezite, malignite, astım, sigara kullanımı, tiroit fonksiyon bozukluklarından etkilenebilmektedir (55).

Sistatin C ölçümü için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bunlardan en popüler olanları; PETIA (Particle-Enhanced Turbidimetric Immunoassay), PENIA (Particle-Enhanced Nephelometric Immunoassay) ve ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assays)'dır. Bunlar otomatize edilmiş, lateks ve politiren kaplı Sistatin C spesifik antikorları içeren homojen immünassaylerdir (54, 56). Otomatize edilmiş PETIA, PENIA ve ELISA yöntemlerinin maliyetli olmasından dolayı klinik rutinde kullanımları sınırlıdır. Bu immünolojik yöntemlere ek olarak piyasada otomatik, yarı-otomatik protein analizörleri de mevcuttur. Fotoelektrokimyasal, florosan, kızılötesi spektrometri gibi yöntemler son zamanlarda alternatif Sistatin C belirleyici olarak rapor edilmiştir (57, 58) Yine bu yöntemler de teknik olarak karmaşık ve oldukça pahalıdır. SPE (screen-printed electrode) özellikli antijen antikor etkileşimlerine dayanan elektrokimyasal immüsensör yöntemidir. Elektrokimyasal sensör yönteminin avantajları arasında kesin sonuçlar alınması, protein analizi için kısa süre gerekmesi sayılabilir (59, 60).

2.1.5. RIFLE, AKI ve KDIGO Sınıflaması

Son yıllarda akut böbrek hasarı olarak da tanımlanan ABY'nin etiyolojisi gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde farklılık göstermektedir (61). Pek çok tanının yapılması hastalığın tanısında ve yoğun bakım insidansının belirlenmesinde güçlük oluşturmaktadır. Mayıs 2004'te Critical Care'de yayınlanan RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, and End-stage kidney disease) sınıflandırması nefrologlar ve yoğun bakım uzmanları tarafından oluşturulmuştur (62). RIFLE, serum kreatinin ve GFH ölçümü ile hasarlanma seviyesi ve hasarlanma sonrası böbreklerin son halini tanımlar (Tablo 2.2). RIFLE sınıflandırması risk, hasarlanma, kayıptan oluşan 3 hasarlanma seviyesi ve 2 tane de hasarlanma sonrası böbreğin son durumunu gösteren sonuç kısaltmalarından oluşur.

Tablo 2.2. RIFLE Kriterleri (63)

Sınıf (kısaltma)	Serum kreatinin ve GFH kriteri	İdrar çıkışı kriteri
Risk (R)	Serum cre 1,5 kat artış ya da GFH'da azalma > %25	<0,5 ml/kg/saat x 6 saat
Injury (I)	Serum cre 2 kat artma ya da GFH'de azalma > %50	<0,5 ml/kg/saat x 12 saat
Failure (F)	Serum cre 3 kat artış ya da GFH'de %75 azalma ya da serum cre >4 mg/dl	<0,3 ml/kg/saat x 24 saat ya da anüri x 12 saat
Loss (L)	Böbrek fonksiyonlarının total kaybı >4 hafta	
End stage (E)	Son dönem böbrek yetmezliği >3 ay	

AKIN (Akut Kidney Injury Network) ABY'yi üç evreye ayırmıştır. RIFLE sınıflamasından farklı olarak kayıp ve son dönem böbrek hastalığı bu sınıflamada yoktur. AKIN kriterlerine göre yapılan sınıflamada ABY serum kreatinin artışına göre idrar miktarındaki azalmayla tanımlanmıştır (Tablo 2.3) (64).

Tablo 2.3. AKIN Kriterlerine Göre ABY Dereceleme Sistemi (64)

AKI Evresi	Serum Kreatinin Değeri	İdrar Miktar
Evre I	Serum cre ≥ 0.3 mg/dl artış veya Serum cre'de bazale göre 1.5-2.0 katı artış	6 saat içinde < 0.5 ml/kg/saat
Evre II	Serum cre'de bazale göre 2.0-3.0 katı artması	12 saat içinde < 0.5 ml/kg/saat
Evre III	Serum cre'de bazale göre 3.0 katı üzerinde veya Serum cre 4.0 mg/dl üzerinde iken akut 0.5 mg/dl artış olması	24 saat içinde < 0.3 ml/kg/saat veya 12 saat süre ile anüri

2012 yılında KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes), iki sınıflamayı modifiye ederek klinik kullanım açısından standardize edilmiş yeni bir sınıflandırma ortaya koymuştur (65, 66). KDIGO' da RIFLE' den farklı olarak ABY tanısı koymak için sadece 7 gün içindeki bazal kreatinin >%50 artışı değil, AKIN sınıflamasının 1. Evresindeki 48 saat içinde serum kreatinin değerinde 0.3 mg/dl artışı da kullanılır (Tablo 2.4) (67).

Tablo 2.4. KDIGO Sınıflaması (66)

KDIGO	Serum Kreatinin Kriteri	İdrar Çıkış Kriteri
Evre I	Serum cre ≥ 0.3 mg/dL artış (48 saat) Bazal cre' de 1.5 - < 2.0 kat artış (7 gün)	$< 0,5$ ml/kg/sa (6 saat)
Evre II	Bazal cre' de 2.0 - < 3.0 kat artış	$< 0,5$ ml/kg/sa (12 saat)
Evre III	Bazal cre' de ≥ 3 kat artış veya ≥ 4 mg/dL üzerinde artış 0,5 mg/dL akut artış) Renal Replasman Tedavi ihtiyacı (Serum cre bağımsız) < 18 yaş hastalarda, GFH'de azalma < 35 ml/dk	$< 0,3$ ml/kg/sa 24 saat) veya anüri (12 saat)

Yapılan bir çalışmada KDIGO'nun kendisinden önce kullanılan RIFLE ve AKI evreleme sistemlerinin eksikliklerinden doğduğu için daha geçerli olduğu gösterilmiştir (65).

2.2. Crush Sendromu ve Rabdomiyoliz

Crush'ın kelime anlamı sıkışma, ezilme ve travmaya maruziyeti ifade etmektedir. Crush sendromu travmaya bağlı rabdomiyolizin sebep olduğu pek çok sistemi etkileyen olaylar bütünüdür (68, 69). Büyük depremler, afetler veya yoğun egzersiz sonrasında Crush sendromu görülebilir (68-70). Crush sendromunda normalde kasta bulunan miyogloblin kana geçer ve böbrek tübüllerini tıkayarak ATN ve sonrasında ABY'ye yol açar. Hiperkalemi gibi elektrolit bozuklukları, kalp yetersizliği, hipovolemik şok, solunum yetersizliği, kompartman sendromu Crush sendromu sonrası gelişen komplikasyonlardır (68, 69).

Rabdomiyoliz; iskelet kası yıkımı sonrasında kas lifinde bulunan miyogloblin ve sarkoplazmik retikulumdaki birçok bileşenin hücre dışı sıvıda ve kan dolaşımında serbest kalmasıdır (7-9). Rabdomiyoliz için pek çok etiyolojik faktör tanımlanmıştır. Travma, yoğun egzersiz, enfeksiyon, ilaçlar ve toksinler en sık belirtilen etiyolojik faktörlerdendir. (7, 9, 37, 38, 44). Depremlerden sonra meydana gelen yaralanmaların %10'unda ezilmeye bağlı yaralanma ve %10'unda orta şiddette travma görüldüğü rapor edilmiştir (69). Ezilmeye bağlı yaralanması olanların %40-70'inde Crush sendromu gelişir (71, 72). Türkiye ve Suriye'deki Şubat 2023 depremi 47,000 bin üzerinde insanın ölümü ile sonuçlanmıştır (69). 6 Şubat – 20 Şubat 2023 tarihleri arasında üçüncü basamak üniversite hastanesine başvuran travma geçirmiş

1.110 kişinin verilerinin retrospektif incelenmesinde %18.8 ezilmeye bağlı yaralanma ve bunlarında %3'ünde ABY gelişmiştir. Hastaların %1,6'sına diyaliz tedavisi uygulandığı rapor edilmiştir (73). Türkiye'de 6 Şubat 2023'te on bir ilin etkilendiği depremde 57,000'den fazla ölüm, 120,000'den fazla yaralanma olmuştur (74). Türkiye deprem açısından riskli ülkeler arasındadır. Crush sendromuna bağlı rabdomiyoliz, ABY ve çoklu organ yetersizliği Türkiye' de her an karşılaşılabilecek bir sağlık sorunudur. Bu yüzden rabdomiyolize bağlı gelişen ABY'nin erken tanınması ve tedaviye başlanması oldukça önemlidir.

Rabdomiyolizin temel fizyopatolojisi kas hücresinde iskemi gelişmesidir. Kas iskemisi sonucunda miyositler parçalanır. $Na^+ K^+$ ATPaz pompasının bozulması ve kalsiyum transportunun bozulması sonucunda hücre içerisinde kalsiyum artar. Kalsiyumun fosfolipaz A_2 'yi, fosfatazları ve vazoaktif molekülleri aktive etmesi ile iskemik dokuda lipid peroksidasyonuyla SOR oluşur (7). Miyoglobinin içeriğinde bulunan hem grubu; redoks döngüsüne girerek lipid peroksidasyonu yapar ve tübül hücrelerine zarar verir (39). Lipid peroksidasyonu sonucu araşidonik asitten oluşan izoprostanlar böbrekte vazokonstriksiyon yapar bunun sonucunda da oksijenizasyon bozularak toksik etki artar (15, 39). İskelet kas dokusunda 100 gramdan fazla hasar durumunda dolaşımdaki hücre içi maddeler artar. Özellikle potasyum, kreatin kinaz, myoglobin artışı renal tübüler obstrüksiyona sebep olur ve ABY oluşur (7, 10, 38-40).

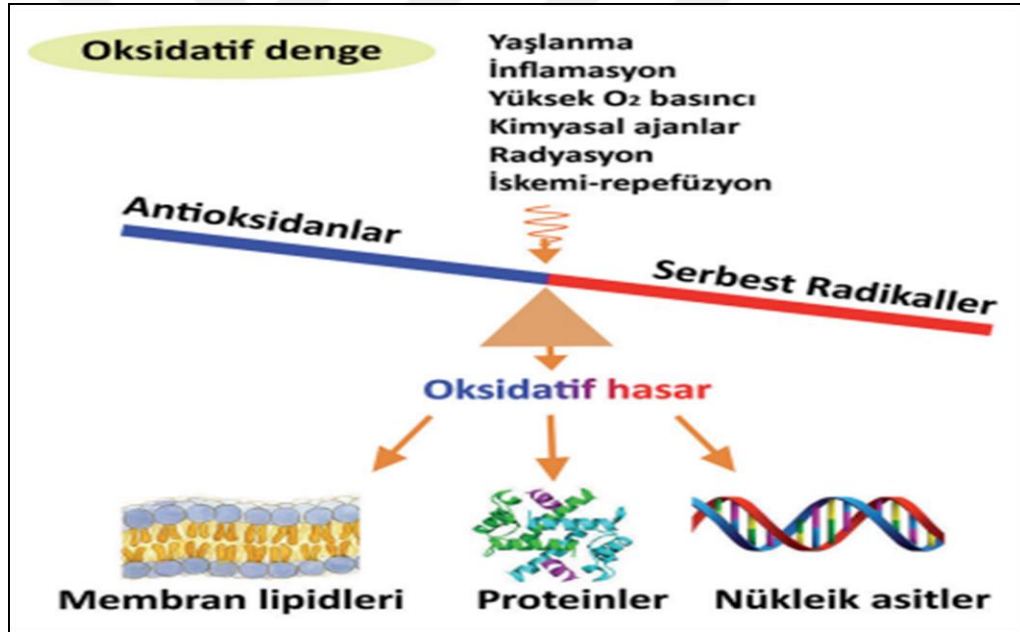
2.3. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikalleri

Yaşamın devamlılığının sağlanması için oksijene olan ihtiyacın en önemli ve başta gelen sebebi enerji üretme gerekliliğidir. Normal fizyolojik şartlarda solunum yolu ile alınan oksijen % 90 oranında oksidatif fosforilasyona uğrar. Atom numarası 8 olan oksijen iki adet eşlenmemiş elektrona sahiptir. Oksijen molekülü iki oksijen atomunun birleşmesi ile oluşurken, birer elektron da kovalent bağda kullanılır. Eşlenmemiş iki elektron ise birer orbitada yer alır (75).

Oksidatif stres, SOR üretimi ve antioksidan savunma arasında dengenin bozulmasıdır. Bu dengenin bozulması ile ortaya çıkan oksidatif stres, lipidler, nükleik asitler, proteinler gibi birçok molekülün zarara uğramasına neden olur. Travma, enfeksiyon, toksikasyon nedeniyle dokularda oksidatif stres oluşabilir. Hasarlı

dokularda oluşan oksidatif fosforilasyon elektron taşıma zincirinde de bozulmalara sebep olarak SOR oluşumunu tetikler (76, 77).

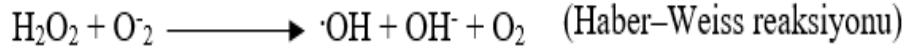
Serbest radikal, Pauli prensibine göre dış orbitallerinde birbiriyle eşlenmemiş tek sayıda elektron taşıyan atom, molekül veya gruplardır (78). SOR'un bu bağlamda eşlenmemiş elektronu olan, kararsız yapıda, kısa ömürlü, doku ve hücre homeostazisinde önemli rolü vardır (13). SOR normal metabolik yolların işleyişi sonucunda oluşur. Mitokondriyal solunum, peroksizom oksidazlar, endotelial nitrik oksit sentaz, sitokrom P-450 oksidaz, ksantin oksidaz, dopaminerjik nöronların yıkımı, doymamış yağ asitleri, demir ve inflamatuvar yanıtlar SOR'un sıklıkla görülen kaynaklarıdır (79). Aşırı SOR oluşumu ve antioksidan sistemle arasındaki dengenin bozulması sonucunda hücrel lipit, DNA ve protein yapılarında hasara neden olur (77) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Oksidatif Denge (77)

Zar fosfolipitlerinin yükseltgenerek peroksit türevlerini oluşturduğu olaylar zinciri lipit peroksidasyonudur. Süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), peroksil radikali ve alkoksil radikali lipit peroksidasyonu başlatan biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest oksijen radikalleridir (80, 81). Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-) ile reaksiyona girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini ($OH^\cdot$) oluşturur. Bu Haber–Weiss reaksiyonu olarak tanımlanmıştır (82). Süperoksit radikalleri hücrede membran lipit

peroksidasyonu ile membran geçirgenliğinin artmasına, amino asit kalıntılarının oksitlenmesi ile nükleer ve mitokondriyal DNA'nın oksidasyonuna yol açarlar.



Malondialdehit; serbest oksijen radikallerinin neden olduğu lipid oksidasyonu sonucunda oluşan yan üründür. MDA non-enzimatik ve enzimatik metabolik olaylar sonrasında oluşabilir. Doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile non-enzimatik oluşur. Enzimatik olarak prostaglandin biyosentezi, trombositlerdeki araşidonik asit katabolizmasının sonucunda ve eikazonoidlerin metabolizması ile oluşur (83). Normal fizyolojik pH'da MDA amino gruplarına karşı düşük reaktivite gösterir. Fakat düşük pH değerlerinde proteinleri olumsuz etkileyecek derecede reaktiviteye sahiptir. Başta lizin kalıntıları olmak üzere, arjinin, metionin ve tirozin kalıntılarında modifikasyonlara sebep olur. Molekül içinde ve moleküller arasında çapraz bağ oluşumunda rol alır. Lipit oksidasyonunun spesifik veya kantitatif belirleyicisi değildir. Fakat uzun ömürlü olması ve yüksek reaktivitesinden dolayı lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi korelasyon gösterir (84). Non-enzimatik lipid peroksidasyonu ile plazmada artış gösteren MDA; fosfolipitler, nükleik asitler, proteinlerin amino gruplarına bağlanarak toksisiteye sebep olur. Lipit peroksidasyonu ile oluşan bu ikincil ürün başta kronik hastalıklar olmak üzere akciğer, böbrek, karaciğer hastalıklarının patogeneğinde rol alır (85-87).

2.4. Antioksidan Sistem

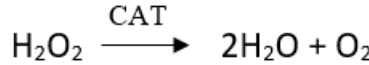
Biyolojik sistemlerin devamlılığı hücresel düzeyde homeostazis ile sağlanır. Aerobik hücreler için toksik özellik taşıyan SOR'un etkilerini ortadan kaldırmaya çalışan maddeler antioksidanlardır. Antioksidanlar hücresel düzeydeki hasarı serbest radikallere elektron aktararak engellemektedirler. Antioksidanların farklı etki mekanizmaları vardır;

1. Oksidanları daha az potent moleküle çevirir veya SOR'u ortamdan uzaklaştırırlar. Mikro moleküller ve antioksidan enzimler bu etki mekanizmasına sahiptir.
2. Oksidanlara hidrojen iyonu transfer ederek oksidanların reaksiyon hızlarını veya etkilerini azaltır.

3. Lipit, DNA ve protein yapılarında serbest radikallerin oluşturduğu hasarı onarır.
4. Antioksidanlar SOR'u bağlayarak zincirleme reaksiyonların başlamasını engellerler.

Antioksidanlar enzim şeklinde olup olmamaları, kimyasal yapıları, ekzojen ve endojen olmaları, doğal ve yapay olmaları, direkt veya indirekt olmaları ve etki mekanizmalarına göre birçok faktör dikkate alınarak gruplandırılır (88). Biyolojik sistemde serbest radikallere karşı üretilen enzimatik antioksidanlar; SOD, CAT, GPx ve sitokrom oksidazdır. Sağlık açısından önemi olan non-enzimatik antioksidanlara ise resveratrol, kuersetin, askorbik asit, beta-karoten, E vitamini, albümin, transferrin, serulaplazmin örnek verilebilir (77, 88). Çalışmamızda CAT enziminin kandaki değerini kullandığımızdan daha ayrıntılı bahsedeceğiz.

Temel olarak sitoplazmada ve daha fazla olarak peroksizomlarda bulunan CAT enzimi; hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren, içinde demir ihtiva eden antioksidan enzimdir.



Katalaz (CAT) düzeyi hidrojen peroksit artışında artmaktadır. Memeli hücrelerin mitokondrilerinde CAT enzimi yoktur (89). Serbest radikaller tarafından oluşturulan hidrojen peroksitin önemli bir kısmı mitokondriden sitozole geçer. Peroksizomlar tarafından sentezlenen CAT enzimi sitozole geçmiş olan hidrojen peroksiti detoksifikasyona uğratar. Milyonlarca hidrojen peroksit molekülü CAT tarafından bir saniyede parçalanabilir. Hidrojen peroksitin düşük konsantrasyonları hücreye zarar vermez, mitokondriyal fonksiyon, trombosit aktivasyonu, hücre proliferasyonu sırasında sinyal iletiminin sağlanmasında rol alır. Fakat yüksek miktarlarda hücre için zararlıdır. Bu yüzden CAT hücrelerin adaptif tepkisini korumanın yanında oksidatif strese karşı tolerans kazanmada önemli rol oynar (90).

2.5. Antioksidan ve Oksidan Kapasite Analiz Yöntemleri

Antioksidanların etkinlik dereceleri literatürde “antioksidatif savunma”, “antioksidan potens”, “antioksidan güç”, “antioksidan kapasite” gibi farklı terimlerle

ifade edilmiştir. “Antioksidan kapasite” ve “antioksidan aktivite” terimlerini birbirinden ayırmak gerekir. “Antioksidan aktivite” tek bir analiz yöntemi ile ölçüldüğünden, o yöntemde uygulanan kimyasal reaktiviteyi yansıtır. Total antioksidan aktivitenin belirleyicisi olarak kullanmak yanlış olabilir, bu yüzden “aktivite” terimi yerine farklı deneylerdeki sonuçları “kapasite/seviye” olarak sunmak gerekir (54, 91).

Total Antioksidan Seviye (TAS potent serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan seviyesini ölçen tam otomatik bir kolorimetrik metottur. Erel tarafından geliştirilmiştir (92). Hidrojen peroksit ve Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksi Fenton reaksiyonu gerçekleştirerek $\cdot OH$ radikalini meydana getirir. Bu potent reaktan indirgen düşük pH’da renksiz o-dianisidine ile girdiği reaksiyon sonucunda sarı-kahverengi renkte olan dianisidyl radikalini oluşturur. İleri oksidasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesi sonucunda dianisidyl radikalleri renkli forma dönüşmektedir. Antioksidanlar gerçekleşen bu oksidasyon reaksiyonlarını baskılar ve renk oluşumunu durdurur. Bütün bu reaksiyonlar tam otomatik analizörde spektrofotometrik olarak TAS düzeyi olarak analiz edilir (92).

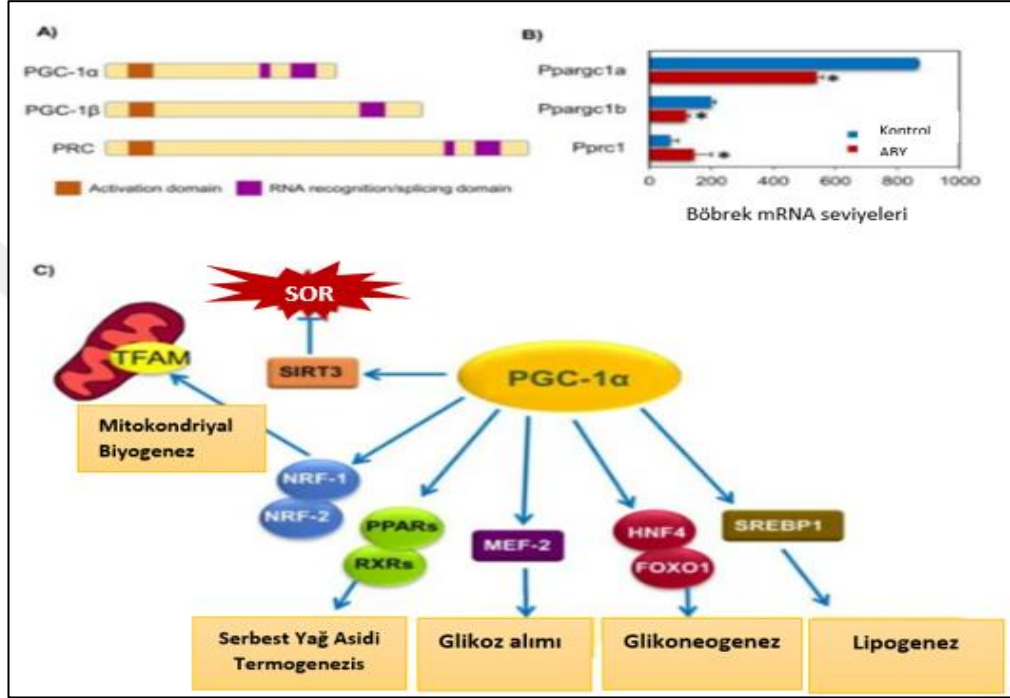
Total Oksidan Seviye (TOS), tam otomatik kolorimetrik yöntemle analiz edilir. Bu yöntem de Erel tarafından geliştirilmiştir. TOS ölçümünde, oksidanlar oksitleme reaksiyonu ile ferröz iyon-o-dianisidine kompleksinden ferrik iyonu oluşturur. Ferrik iyonlar, xilenol orange sayesinde renkli bir kompleks oluşumunu sağlarlar. Rengin şiddeti ile oksidanların miktarı spektrofotometrik olarak analiz edilir (93).

Oksidatif stres indeksi (OSI), Total Oksidan Seviyenin Total Antioksidan Seviyeye bölünmesi ($TOS/TAS=OSI$ (Trolox equivalent/L)) ile hesaplanır (93).

2.6. Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Edilen Reseptör Gama Koaktivatörü-1 Alfa: (PGC-1 α)

Peroksizom Proliferatör ile Aktifleştirilen Reseptör Gama Koaktivatör 1 α ya da PGC-1 α olarak da isimlendirilen enerji metabolizmasındaki bazı genlerin regülatörü olarak işlev gören transkripsiyonel bir koaktivatördür. Temel olarak PGC-1 α , 4. kromozomun kısa kolu üzerindedir. Kahverengi yağ dokusunda sıklıkla

eksprese edilen PPAR- γ 'nin indüklenebilir koaktivatörüdür (94). PGC-1 α direkt protein-protein etkileşimi ile transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini artıran proteindir. Kahverengi yağ dokusu, kalp, böbrek gibi mitokondriyal sistemlere sahip dokularda PGC-1 α fazlasıyla üretilir (95). Mitokondriyal biyogenezin ana regülatörüdür (96). Mitokondriyal biyogenez mevcut mitokondriden yeni mitokondri üretilmesidir (97, 98) (Şekil 2).

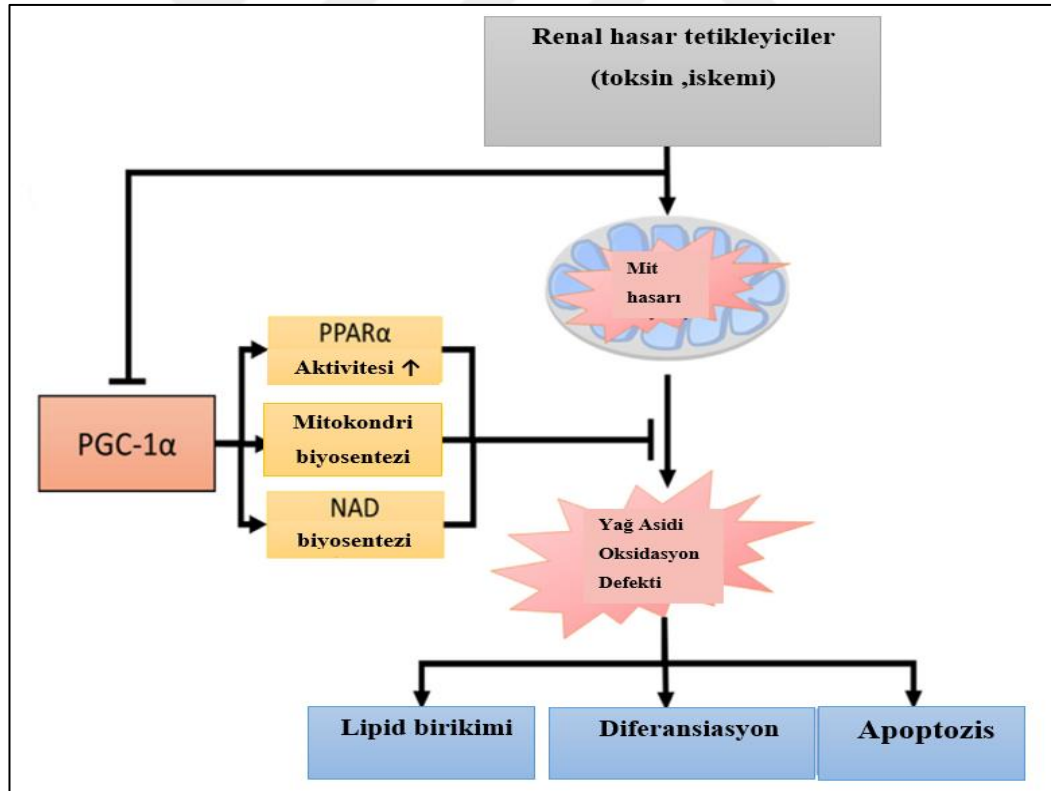


Şekil 2.2. PGC-1 α ailesi, yapısı ve fonksiyonları (98) **A.** Transkripsiyonel düzenleyici PGC-1 α ailesinin yapısı **B.** Deneysel Folik asit kaynaklı ABY'de transkripsiyonel düzenleyici PGC-1 α ailesinin gen ekspresyonu (99). **C.** PGC-1 α fonksiyonları

Kısaltmalar: **FOXO 1:** Fork Head Box O1, **HNF-4:** Hepatic Nuclear Factor-4, **MEF-2:** Myocyte Enhancer Factor-2, **NRF-1/2:** Nuclear Respiratory Factor 1/2, **PPARs:** Peroxisome Proliferator-Activated Receptors, **PRC:** PGC-1-Related Coactivator, **SOR:** Serbest Oksijen Radikalleri, **RXR:** Retinoid Receptors, **Sirt3:** Sirtuin 3, **STREBP1:** Sterol Regulatory Element-Binding Protein 1, **TFAM:** Mitochondrial Transcription Factor A

Böbrek tübülleri solütlerin reabsorbsiyonu için yüksek enerji ihtiyacı sebebiyle mitokondri açısından oldukça zengindir. Böbrekteki ana enerjinin kaynağı, yağ asidi β -oksidasyonundan üretilen ATP'dir. Böbrek hasarında mitokondri hasarlanabilir veya işlevsiz hale gelebilir. Bu hasarlanma ile hücrelerde apoptoza giden süreç başlar (98, 100). Böbrek hasarı, kalsiyum homeostazisini, membran bütünlüğünü, SOR üretimini, mitokondriyal taşınmayı, biyogenezdeki ve

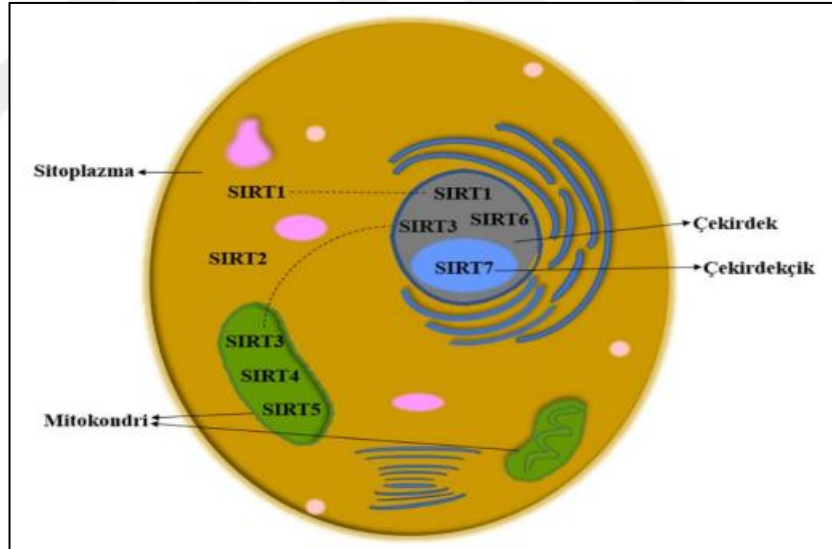
mitofajideki değişiklikler dahil olmak üzere mitokondriyal yapıyı ve işlevi farklı şekillerde değiştirebilir. Değişen mitokondriyal homeostaz, zararlı bir geri bildirim döngüsünü tetikleyerek böbrek hasarını daha da arttırabilir (101). Böbrekte kortikomedüller hücreler hipoksiye duyarlıdır. Sınırlı kan damarı olmasına rağmen yüksek oksijen tüketimine sahiptir. O yüzden burada lokal olarak düşük oksijen konsantrasyonu mevcuttur. Oksijen oksidatif fosforilasyonda terminal elektron alıcısıdır. Hipoksi durumunda $NAD^+/NADH$ oranı (adenin dinükleotidin oksitlenmiş /indirgenmiş formu) ve yağ asidi oksidasyonu azalır. Tran ve ark.'ı endotoksin ile indüklenen sepsis ilişkili ABY modelinde endotoksinin doku oksijen seviyelerini değiştirmeden böbreğe oksijen sunumunu azalttığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada tübüler mitokondrinin işlevinin azaldığı da görülmüştür. Yine PGC-1 α seviyesinin ABY'nin derecesi ile korele olarak azaldığını göstermişlerdir (102). Bu veriler PGC-1 α ekspresyonunun düşük olması ve yağ asidi oksidasyonunda defekt olmasının ABY patogenezi ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir (102, 103) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Mitokondriyal Hasarla İlişkili Böbrek Hasarı (103) Mitokondri (Mit)

2.7. Sirtuin 3

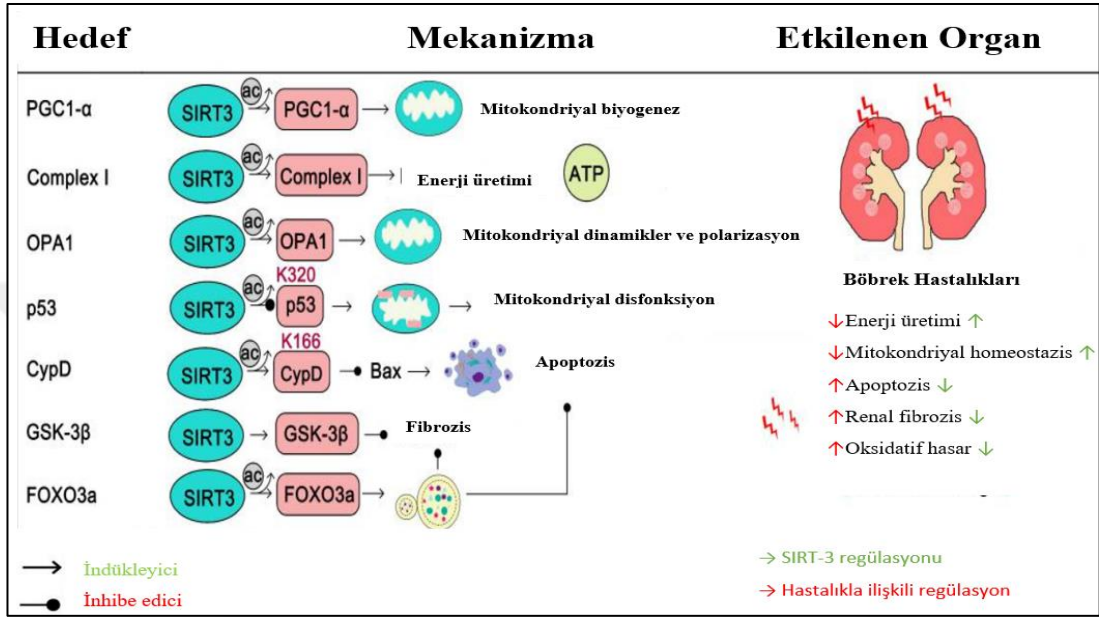
Sirtuinler, adenozin difosfat (ADP) - ribosiltransferaz ve nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+) bağımlı deasetilaz ailesinin üyeleridir. Sirtuinler, pekçok canlı sınıfında (bakteriler, insanlar) korunur ve bulunurlar (104). Sirtuin ailesi histonların deasetilasyonu, kromatinlerin yoğunlaşması, gen ifadesinin düzenlenmesi gibi önemli hücresel mekanizmaların gerçekleşmesinde etkin rol alır (105). Memeli hücrelerde çekirdek, mitokondri ve sitoplazmada olmak üzere 7 adet sirtuin proteini bulunur (104). Nükleusta bulunanlar SIRT -1, SIRT-6, SIRT-7'dir. Mitokondride bulunanlar SIRT-3, SIRT-4, SIRT-5'tir. SIRT-2 sitozolik sirtuindir (106). Sitoplazma, mitokondri ve çekirdek arasında geçiş yapabilen tek sirtuin SIRT-3 'tür. Mitokondriyal sirtuinlerde bulunan N-terminal sinyal dizisi, mitokondri sentez ve yıkımını, metabolizma homeostazı gibi faaliyetleri düzenler (107) (Şekil 2.4) . Beyin, böbrek, kalp, karaciğer gibi metabolik döngüsü yoğun olan organlarda ekspresyonu en yüksek düzeyde gerçekleşir (108).



Şekil 2.4. Sirtuinlerin Hücresel Lokalizasyonları (107)

Metabolik hastalıklarda enerji, yağ asidi, glikoz ve aminoasit metabolizması genellikle bozulmaktadır. Sonuçta bunlar obezite, karaciğer hastalığı, diyabet ve renal hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olur. Böbreğin metabolitleri vücuttan uzaklaştırmanın yanında sıvı elektrolit dengesini korumak, eritropoetin sentezlemek, aktif D3 vitamini salgılamak ve vücudun büyüme gelişmesinin sürdürmek gibi birçok görevi vardır. Bu işlevler için enerjiye ihtiyaç duyar. Bütün bunlar böbreğin

mitokondri açısından zengin olmasını açıklar. SIRT-3 mitokondriyal dinamiğin temel düzenleyicisidir. Aşırı SIRT-3'ün ekspresyonu böbrek fonksiyonlarını iyileştirebilir, inflamatuvar hasarı azaltabilir ve oksidatif hasarı baskılayabilir. Azalmış SIRT-3 ekspresyonu ise renal epitel hücrelerin apoptozu ile sonuçlanabilir. Yine bunun sonucunda ABY'de hasar ağırlaşabilir (109) (Şekil 2.5)

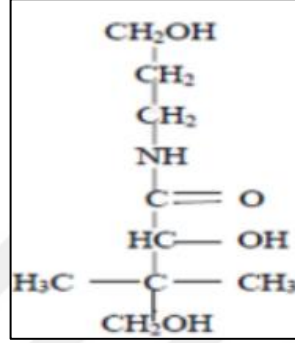


Şekil 2.5. SIRT-3 ve Renal Hasar Mekanizmaları (114)

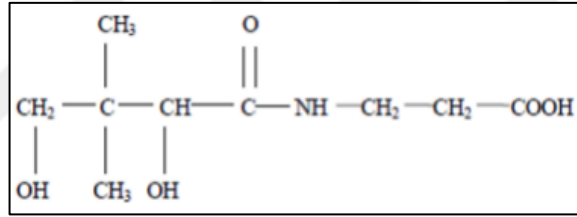
Tübüler epitel hücreler iskemik veya toksik bir olaydan sonra ABY gelişiminde önemli rol oynar. Tübüler hasarın merkezinde mitokondri disregülasyonu vardır. Mitokondriyal yapısal bütünlüğün bozulması SOR'un açığa çıkmasına ve ATP üretiminin bozulmasına sebep olur. Bütün bu olaylarla hücre iskeletinde değişiklikler meydana gelir, hücrenin matriks ve diğer hücrelerle olan etkileşimi bozulur, tübüler epitelyal hücrelerde apoptoz gelişir (110, 111). Morigi ve ark.'ı sisplatinin indüklediği ABY'de oksidatif stresin ve mitokondriyal hasarın azalmış SIRT-3 seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (112). Ortega-Dominguez ve ark.'ı SIRT-3'ün renoprotektif etkisine ilişkin yaptıkları çalışmada ABY'li farelerde SIRT-3 seviyelerini modüle eden doğal bir bileşik olan kurkumin ile mitokondriyal enerji üretimi, redoks dengesinin değiştiğini göstermişlerdir (113).

2.8. Dekspantenol

Dekspantenol (DEX), pro-vitamin B5 olarak da bilinen suda çözünen bir vitamindir. DEX, pantotenik asidin alkol analogudur (Şekil 2.6). Dex'in kimyasal yapısı: R-(2,4-dihidroksiN-3-hidroksipropil)-3,3-dimetilbutanamid. Oral veya parenteral uygulanımı sonrasında vücutta hızlı emilir. Dokuda pantotenik aside çevrilir (Şekil 2.7).



Şekil 2.6. Dexpantenolün Kimyasal Yapısı (75)



Şekil 2.7. Pantotenik Asit Kimyasal Yapısı (75)

Pantotenik asit, birçok metabolik yolda yer alan koenzim A' nın biyosentezini artırır (114). Koenzim A peroksizomlarda yağ asidi oksidasyonu için gereklidir. Kolesterol ve yağ asidi biyosentezinin sitozeldaki ilk aşaması için koenzim A gereklidir (115). Koenzim A, asetil-CoA üretiminde, kolesterol metabolizmasında, karbonhidrat sentez ve yıkımında, karaciğerde primer asetilasyonda, oksidatif reaksiyonda sitrik asit siklusunda süksinil-CoA'nın sentezi ve yıkımında görev alır (125). Pantotenik asit vücutta depo edilmez. Baklagiller, kırmızı et, süt ürünleri, yumurta gibi besinler pantotenik asit açısından zengindir (116). Günlük Pantotenik asit gereksinimi yetişkinler için 4-7 mg alınan yeterlidir. Ciddi malnütrisyonu olanlarda eksikliği görülür. Eksikliğinde baş ağrısı, üst solunum yolu enfeksiyonları, kas koordinasyonunda bozulma görülebilir (117). Oral ve paranteral kullanım preparatları olan DEX, yetişkinlerde sistemik olarak 250-500 mg dozlarda

kullanılmaktadır. DEX sıçanlar ve memeli dokularında pantotenik aside dönüştürülür ve ATP sentezinin artmasını sağlar (118). Dekspantenol karaciğerde fosforilasyona uğradıktan sonra D-pantotenik aside dönüştürülür (119).

Çağın ve ark.'ı bağırsak iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulmuş hayvan modelinde Dex'in; GPx, SOD, CAT artışı ile antioksidan etkinliğini göstermişlerdir (22). Altınbaş ve ark.'ı rat böbreğinde DEX'in nefroprotektif etkisini araştırmıştır. Çalışmada iskemi reperfüzyon grubunda MDA'nın arttığını ve DEX verilen grupta ise GPx, SOD, CAT'ın arttığını göstermişlerdir. Yine histolojik olarak Dex verilen grupta tübüler nekrozun, glomerüler hasarın ve apoptozisin azaldığını göstermişlerdir (118). Doğan ve ark. ratlarda amikasinin neden olduğu nefrotoksisitede 500 mg/kg Dex' in koruyucu olduğunu rapor etmişlerdir (120).

Slyshenkov ve ark. pantotenik asit ve türevlerinin hücre içindeki indirgenmiş glutatyon, koenzim A ve ATP sentezini artırdığını göstermiştir. Bu antioksidan bileşikler hücresel savunma, oksidatif stres ve inflamatuvar cevaba karşı onarım sisteminde önemli bir rol üstlenir ATP ve koenzim A kolesterol ve fosfolipitlerin sentezi için gereklidir. Bu sentez sonucunda hücre zarı onarımına katılmış olurlar. Hücre hasarında pantotenik asit tarafından ek koruma mekanizması oluşturulur (121).

Pantotenik asit yara iyileşmesini ve epitelizasyonu hızlandırmasının yanında antienflamatuvar ve antioksidan özelliğe de sahiptir. Pantotenik asidin oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunda koruyucu etkinliği pek çok çalışmada gösterilmesine rağmen rabdomiyolizdeki koruyucu etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Yine literatürde DEX'in farklı dokular üzerinde oksidatif ve antioksidatif sistem üzerindeki etkinliğini inceleyen çalışmalar mevcuttur (21, 22, 41, 122-124). Bununla birlikte, pantotenik asidin kas hasarını azaltmaya ve böbrek hasarını korumaya yardımcı olabilecek antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklere sahip olabileceği öne sürülmüştür (25).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma; Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınan Etik Kurul izni (2/131-2023) (Ek-1) ile Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışması Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Yönetim Birimi tarafından TTU -2023-9100 proje numarası ile desteklenmiştir.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından yaklaşık 250-300 gr ağırlığında 32 dişi rat alındı. Ratlara deney süresi boyunca standart ışık (12 saat aydınlık/12 saat karanlık), nem ve ısı koşulları (22-24 °C) sağlandı. Ratların beslenme rejimi rabdomiyoliz oluşturulan gruplarda gliserol uygulamasının 12 saat öncesinde kısıtlandı. Bu uygulama haricinde beslenme kısıtlanmadı. Ratlar için Euro Tip 4 kafesler kullanıldı.

DEX'in ABY'de koruyucu etkinliğinin araştırmak amacıyla yaptığımız bu çalışmada rastgele örnekleme yöntemi ile 32 rat 8'er adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı (Resim 3.1).



Resim 3.1. Ratların Çalışma Gruplarına Ayrılması

3.1.1. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Deneyin Yapılması

Çalışmada ratlar her grupta 8 rat olacak biçimde rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup K: Kontrol (Kontrol) grubu (n: 8)

Grup RM: Rabdomiyoliz (RM) grubu n: 8)

Grup RM+DEX: Dekspantenol + Rabdomiyoliz (RM +DEX) grubu (n: 8)

Grup DEX: Dekspantenol (DEX) grubu (n: 8)

Kontrol Grubu (Grup Kontrol, n: 8)

Ratlar standart su ve yem ile beslenmeye devam ederken aynı stresi oluşturmak için 1 ml salin intraperitoneal (ip) 5 gün boyunca enjekte edildi.

Rabdomiyoliz Grubu (Grup RM, n: 6)

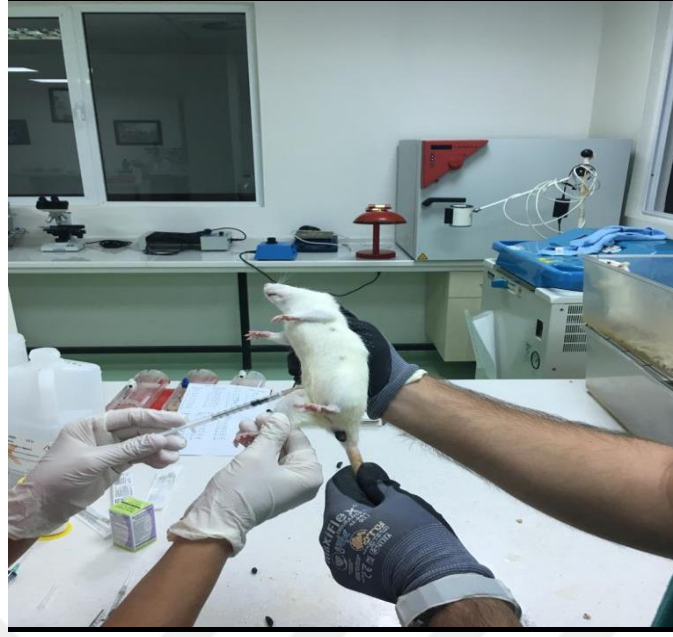
Ratların sıvı alımı deneyden 12 saat önce kısıtlandı. Rabdomiyoliz oluşturmak için ratların iki arka bacak kas dokusuna 8 ml/kg % 50'lik gliserol her bacağı 1 ml olacak şekilde uygulandı (10, 40, 42, 44). Fakat deneyin ilk gün 1 tanesi, deneyin 3. gününde 1 tanesi exitus oldu.

Rabdomiyoliz +Dekspantenol Grubu (Grup RM+DEX n: 6)

Ratların sıvı alımı deneyden 12 saat önce kısıtlandı. Deneyin 1.günü ratların her iki arka bacak kasına 8 ml/kg % 50'lik gliserol her bacağı 1 ml olacak şekilde uygulandıktan sonra tek doz 500 mg/kg DEX 5 gün boyunca ratlara ip uygulandı (Resim 3.2). Deneyin ikinci günü 1 rat ve dördüncü günü 1 rat exitus oldu.

Dekspantenol Grubu (Grup DEX n:8)

Ratlar standart rat yemi ve su ile beslenmeye devam ederken 500 mg/kg DEX ip 5 gün boyunca uygulandı (Resim 3.2).



Resim 3.2. Dekspantenol Uygulanması

Deneyin 6. gününde deney hayvanlarına Ketamin (90 mg/kg) / Xylazin (8-10 mg/kg) ip olarak anestezi uygulandı. Deney hayvanları anestezi altında sakrifiye edildi. Abdominal insizyon ile vena cava inferiordan cerrahi egzanguinasyon yapmak amacıyla kanları alındı (Resim 3.3)



Resim 3.3. A. Rat'a Anestezik Madde Uygulanması **B.** Vena Cava İnferiordan Kan Alınması

Sakrifikasyondan sonra rat kan örnekleri ve böbrek örnekleri alındı (Resim 3.3). Ratlardan alınan kan örnekleri 3000 devir/dk 10 dakika (dk) santrifüj edildikten sonra analiz için biyokimya laboratuvarına götürüldü. Sağ böbrek histopatolojik inceleme için formaldehit çözeltisinde saklandı. Sol böbreğin bir kısmı biyokimyasal analizler için, bir kısmı da genetik analizler için eppendorflara alınarak -80°C’de muhafaza edildi (Resim 3.4, Resim 3.5). Enjektör uçları ve keskin materyaller atık kaplarında, kalan dokular ise tıbbi atık poşetlerinde toplanarak imha edildi.



Resim 3.4. Rat Böbreği



Resim 3.5. Rat Böbreğinin Porsiyonlanması

3.2. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri

3.2.1. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1. Dekspantenol (Bepanthen ampul, Bayer, Türkiye)
2. Gliserol (Gliserin % 99,5 Extra pure, Pharma quality)
3. Jelli, serum ayrıştırıcılı kan alma tüpleri (BD Vacutainer, SST™ Tubes, 5 mL, 13 x 100 mm, ABD)
4. Santrifüj cihazı (Nüve NF 1200 MR, Türkiye)
5. Santrifüj cihazı (Eppendorf 5415 MR eppendorf, Almanya)
6. Otomatik pipetler (20-20 µl, 100-1000 µl; Eppendorf, ABD)
7. Sonikatör (UW-2070 Bandelin Electronic Almanya)
8. Biyokimya otoanalizörü (Beckman Coulter AU5800 Beckman Coulter, ABD)
9. Doku parçalayıcı (Janke & Kunkel Ultraturrax T-25 Almanya)
10. Spektrofotometre (UV-1601 Shimadzu Spektrofotometre, Kyoto, Japonya)
11. Vorteks cihazı (Nüve NM 110, Türkiye)
12. Derin dondurucu (-80°C) (Kirsch, Bosch, Almanya)

3.2.2. Kullanılan Kimyasal Ve Kitler

1. 1,1,3,3-Tetraetoksi-propan (125) (Fluka, Birleşik Krallık)
2. Trikloroasetik asit (TCA) (Sigma Aldrich, Almanya)
3. 2-Tiyobarbitürik asit (TBA)
4. Fosfat tamponu (pH 7.4) (Phosphate buffered saline tablet, Sigma Aldrich, ABD)
5. Total ve native tiyol kiti (Rel Assay Diagnostics Total-Native Assay kit, Türkiye)
6. Serum Sistatin C kiti BT LAB, (Zhejiang, China)

Numunelerin Alınışı ve Hazırlanması

Ratlardan alınmış venöz kan örnekleri Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda santrifüj edildikten sonra serum numuneleri eppendorf tüplerine alınarak -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı. Ratlardan alınan böbrek dokuları ise pH 7.4 olan fosfat tamponu ile dolu olan cam tüplere konularak ayrıldı. Her bir böbrek dokusu tartılarak fosfat tamponu ile 10 kat dilue edildi. Janke & Kunkel Ultraturrax T-25 (Almanya) marka doku parçalayıcı ve daha sonra UW-2070 Bandelin Electronic (Almanya) marka sonikatör ile homojenize edildi. Böbrek doku örnekleri, Eppendorf 5415-R (Almanya) soğutmalı santrifüj ile 10000 devir/dk 10 dk. santrifüj edilerek ve süpernatantı alınarak eppendorf tüplerinde çalışma zamanına kadar saklandı.

Serum Parametrelerinin Çalışma Prensibi

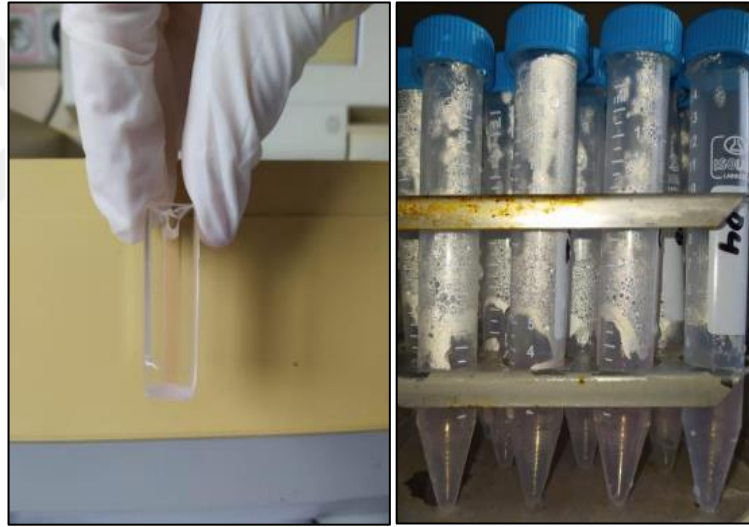
Serum Sistatin C düzeyinin kantitatif ölçümü ELISA yöntemiyle BT LAB, (Zhejiang, China) kiti kullanılarak yapılmıştır. Kit 6 nokta içeren kalibratöre sahipti (4 ng/ml, 8 ng/ml, 16 ng/ml, 32 ng/ml, 64 ng/ml, 128 ng/ml) ve bütün standartlar duplike çalışılmış olup bu konsantrasyonların karşılığı olan optik dansite verileri alındı. Prosedürün bitiminde standartların optik dansite-konsantrasyon grafiği çizilerek bütün numunelerin konsantrasyonları bu grafikten yararlanılarak ng/ml cinsinden hesaplandı. Duyarlılığı 0,25 ng/ml' dir. İntra-assay CV< %8, inter-assay CV< %10.

Serum Üre, CK, LDH ve kreatinin seviyeleri Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, ABD) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçüldü.

Böbrek Katalaz Aktivitesi Çalışma Prensibi

Katalaz aktivitesi böbrek dokusu homojenatlarından Aebi yöntemine göre çalışıldı. Katalaz, H₂O₂'nin moleküler oksijen ve su bozulmasını katalizler. Çalışmada katalaz aktivitesi, 0.sn ve 30.sn'de H₂O₂ konsantrasyonunda birim zamandaki azalma 240 nm'de UV-1601 Shimadzu Spektrofotometre cihazında ölçülerek yapıldı. Böbrek dokusu için katalaz aktivitesi kU/gr protein olarak verildi (126).

Draper ve Hadley'in çift ısıtma yöntemi kullanılarak MDA düzeyi tayin edildi (Resim 3.6). Standartlar %40 etanol ve 50 µl TEP kullanılarak 8360 µmol/L stok solüsyonu hazırlandı. Stok solüsyonundan 0,1 ml alınıp %40'lık etanol ile 20 ml' ye tamamlanarak standart 1 oluşturuldu. Daha sonra seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı. Doku homojenatlarının süpernatant kısımlarından 0,5 ml alınarak 2,5 ml %10'luk TCA eklendi. Aynı işlem standart ve köre de uygulandı. Numuneler vortexlendikten sonra 15 dakika kaynar suda bekletildi, süre dolunca çıkarılıp hemen soğutuldu. Numuneler 5000 devir/dk 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatanttan 2 ml alındı ve üzerlerine 1 ml %0,67'lik TBA eklendi. Vortexlenip 15 dk kaynar suda bekletildi. Süre dolunca hemen soğutulup 532 nm'de UV-1601 Shimadzu spektrofotometre cihazında köre karşı okundu (127). Böbrek dokusu için MDA düzeyi µmol/gr protein olarak verildi.



Resim 3.6. Draper ve Hadley'in Çift Isıtma Yöntemi ile MDA Tayini

Böbrek TAS ve TOS Düzeylerinin Ölçümü

Böbrek dokusu süpernatantlarının TOS ve TAS düzeyleri ticari kitler (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, ABD) otoanalizöründe ölçüldü (128). Ölçülen TAS ve TOS sonuçları ile OSI aşağıdaki denkleme göre hesaplandı: OSI (arbitrary unit) = TOS / TAS (mmol Trolox Eq/L) x 100.

3.3. Histopatolojik Analiz Yöntemleri

3.3.1. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1. Leica RM2155 döner mikrotom (Leica Microsystems, Wetzlar, Almanya)
2. Doku işleme cihazı (Leica ASP300S, Wetzlar, Almanya),
3. Işık mikroskobu Olympus CX21
4. UltraVision detection system large volume anti-polyvalent, HRP (RTU), 125 ml (Epredia)
5. Poly-L lysine kaplı lam (Patolab, Türkiye)
6. Derin dondurucu (-80°C) (Kirsch, Bosch, Almanya)
7. Buzdolabı (-20°C) (Bosch, Almanya)

3.3.2. Kullanılan Kimyasal ve Kitler

1. Formaldehit Solüsyonu
2. Alkol
3. Parafin
4. Ksilol
5. Hemotoksilen-eozin
6. Primer PGC-1 alfa (Rat) (anti rabbit Ig G)
7. Primer Antikor SIRT 3(120) (anti rabbit Ig G)
8. Martius Scarlet Blue Stain Kit (MSB) RRSK2-200 (Atom Scientific, İngiltere)

Histopatolojik Analiz

Hayvanlardan alınan sağ böbrekler %10' luk nötral formaldehit solüsyonunda fiksasyon işlemi yapıldı. Rutin histolojik takip işlemi sonrasında 4-6 µm kalınlığında kesitler alınıp histopatolojik değerlendirme için Hematoksilen-Eozin (HE) ile boyama yapıldı. PGC-1α ve SIRT-3 biyobelirteçlerinin ifadeleri histolojik kesitlerde immünohistokimyasal olarak boyandıktan sonra h-score ile değerlendirildi. İki gün boyunca formaldehitli solüsyonda bekletilen dokular uzunlamasına trimlenerek takip kasetlerine alındı. Herbir kasetin üzerine ait olduğu hayvan numarası ve grup

yazılarak tekrar formaldehit içine konuldu, ertesi gün akşam kasetler rutin histolojik doku takibi için tam otomatik ototeknikon cihazına (Leica ASP300S; Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) yerleştirildi.

Vakumlu takip programına ayarlanarak solüsyonların dokular içine daha iyi bir şekilde geçmesi sağlandı. Doku takibi amacıyla kasetler gece boyunca düşük dereceli alkolden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek sularının alınması, iki adet ksilolden geçirilerek organlardaki yağın alınması ve sıcak parafinden geçirilerek doku boşluklarına parafin dolması sağlandı. Bir sonraki gün dokular parafine gömülerek blokajları yapıldı. Bloklarda 4-5 saat soğutulmanın ardından Leica 2155 rotary mikrotomda (Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerin kuruması amacıyla bir gece oda ısısında bekletildi. Kesitler HE boyama için köprülere dizilerek boyama prosedürüne geçildi. Kesitlerdeki parafinin uzaklaştırılması amacıyla 30'ar dk süre ile 3 ayrı ksilol serisinden geçirildi. Sonra sırasıyla %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkollerden geçirilerek dokulara su verildi. Önce hematoksislenle 15 dakika sonra eozinle 3 dakika boyandı. Boyama işleminden sonra sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkollerden geçirilen dokuların suyu alındı. Ksilolde parlatılan dokuların üzerine entellan damlatıldıktan sonra lamel yapıştırıldı.

Boyama işleminin ardından bir gün kurutulan kesitler mikroskop altında incelemeye hazır hale getirildi ve Olympus CX21 model ışık mikroskopunda incelendi. İncelenmiş preparatlar Olympus DP26 model kamera ile mikroskopik dijital fotoğraflar çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı. İmmünohistokimyasal skorların semikantitatif analizi için şu derecelendirme skalası uygulandı:

- SKOR 0 : Negatif boyanma
- SKOR 1 : Fokal ve zayıf boyanma
- SKOR 2 : Yaygın ve zayıf boyanma
- SKOR 3 : Yaygın ve belirgin boyanma

Her kesitte 10 ayrı alan 40X objektif büyütme altında incelendi. Mikrofotografi işlemi Database Manual Cell Sens Life Science Imaging Software System (Olympus Co., Tokyo, Japan) kullanılarak yapıldı.

3.4. Genetik Analiz Yöntemleri

3.4.1. Kullanılan Malzeme ve Cihazlar

1. Santrifüj cihazı (Eppendorf 5415 MR eppendorf, Almanya)
2. Sonikatör (UW-2070 Bandelin Electronic Almanya)
3. Nanodrop cihazı (Thermo Scientific NanoDrop™, ABD)
4. Vorteks cihazı (Nüve NM 110, Türkiye)
5. Termal döngü cihazı (Thermo Scientific, ABD))
6. Gerçek zamanlı PCR cihazı (Biorad CFX96, Kaliforniya, ABD)
7. Buzdolabı (-20°C) (Bosch, Almanya)
8. Derin dondurucu (-80°C) (Kirsch, Bosch, Almanya)

3.4.2. Kullanılan Kimyasal ve Kitler

1. GeneAll RiboEx (129) RNA İzolasyon Kiti (Kat. No: 301-001) (GeneAll Biyoteknoloji, Seul, Kore)
2. A.B.T.™ cDNA Sentez Kit (Atlas Biyoteknoloji, Kat. No: C03-01-05 Türkiye)
3. A.B.T.™ SYBR Green Master Mix (Atlas Biotechnology, Türkiye) (Kat No: Q04-01-05)
4. Kloroform

Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA İzolasyonu

Elde edilen dokular DNaz/ RNaz ve pirojen içermeyen önceden etiketlenmiş eppendorf tüplerine konuldu, prosedür uygulanıncaya kadar -80 derecede derin dondurucuda saklandı. Çalışma gününde oda ısısına getirilen doku örneklerine 1000 µL Geneall RiboEx™ solüsyonu konuldu ve sonikatörde düşük hızda homojenize edildi. GeneAll Ribospin RNA izolasyon kiti kullanılarak aşağıdaki protokole uygun olarak RNA izolasyonu yapıldı.

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

2. Süpernatanın üzerine %70'lik etanolden 1-1 hacimde olacak şekilde eklendi ve santrifüj edilmeden pipetajla karıştırıldı.
3. Karışım mini spin kolona aktarıldı.
4. 11.000 g'de oda ısısında 1 dk santrifüj edildi. Spin kolondan koleksiyon tüpüne geçen sıvı atılıp spin kolonun altına tekrar yerleştirildi.
5. 700 µl RSW buffer ilave edildi, 11.000 g'de 30 saniye süresince santrifüj edildi. Koleksiyon tüpü boşaltıldı ve spin kolon tekrar yerleştirildi.
6. 500 µl RSW buffer ilave edildi, 11.000 g'de 30 saniye santrifüj edildi. Spin kolondan geçen sıvı atılarak koleksiyon tüpü tekrar yerleştirildi.
7. ≥ 13.000 g'de 1 dk santrifüj edilerek wash buffer kalıntıları uzaklaştırıldı. Spin kolon 1,5 µl'lik ependorflara yerleştirildi
8. 50 µl nükleaz free water spin kolona eklenerek 1 dk oda ısısında inkübe edildi.
9. 12.000 g'de 1 dk oda ısısında santrifüj edildi.

Elde edilen RNA numunelerine cDNA sentezinde kullanılmak amacıyla nanodrop cihazı kullanılarak miktar ve saflık tayini yapıldı. 260 ve 280 nm dalga boylarındaki ölçümlerin birbirine oranı (260 nm/280 nm) RNA saflığını göstermektedir. Saflığı 1,7 - 2,0 arasında olan RNA örneklerinin miktar tayinleri cDNA sentezinde kullanılmak üzere not edildi. Saflığı bu oranlar dışında olan numunelerin RNA'ları tekrar izole edildi (Resim 3.7). İzole edilmiş her bir RNA numunesinin konsantrasyonu 1000 ng/µl de standardize edildi ve cDNA sentez aşamasında kullanılmak üzere -80 dereceye kaldırıldı.



Resim 3.7. RNA Örneklerinin Nanodrop Cihazında Saflık ve Miktar Tayininin Yapılması

cDNA'nın Sentezi

cDNA sentezi, A.B.T. TM cDNA Sentez Kit (Atlas Biyoteknoloji, Türkiye) protokolüne uygun şekilde termal siklus cihazında gerçekleştirildi. Numuneler için toplam reaksiyon hacim miktarı 20 µl olacak şekilde 0.2 ml'lik PCR tüplerine buz üzerinde aşağıdaki konsantrasyonlarda karışım hazırlandı (Tablo 3.1, Resim 3.8, Resim 3.9).

Tablo 3.1. 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 inhinitör	0.5 µl
RNaz İçermeyen Su	3.5 µl
RNA Örneği	10 µl



Resim 3.8. cDNA Sentezi için RNA Örnekleriyle Pipetaj İşlemi



Resim 3.9. RNA Örneklerinin cDNA Sentezi İçin Hazırlanması

Hazırlanmış olan karışım termal siklus cihazına yerleştirildi ve aşağıdaki kit protokolü kullanıldı (Tablo 3.2 ve Resim 3.10). Elde edilen cDNA'lar -20 °C'de saklandı.

Tablo 3.2. Revers Transkriptaz Termal Siklus Protokolü

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



Resim 3.10. Termal Döngü Cihazına Hazırlanan Karışım Örneklerinin Yüklenmesi

Primer Tasarımı ve Hazırlanması

Spesifik mRNA dizilimlerinin tespiti ve olası primer dizilimlerinin denenmesi National Center for Biotechnology Information internet sitesi kullanılarak yapıldı. Ekspresyon aşamasında kullanılan genler ve spesifik primer dizilimler Tablo 3.3'de yer almaktadır.

Tasarımı yapılmış olan primerler ticari olarak sentezlettirildi, liyofilize olarak temin edildi ve DNaz/RNaz ve pirojen içermeyen, ticari olarak satılan hazır steril su ile stok 100 µM biçiminde sulandırıldı. Ardından stok primer solüsyonu kantitatif gerçek zamanlı PCR prosedüründe, kit üreticisi firmanın talimatlarına göre son volümde 500 nM olacak şekilde tekrar sulandırıldı.

Tablo 3.3. Genler ve Genlere ait Spesifik Primer Dizilimleri

Gen	Spesifik Primer Dizilimi Forward (F) -Revers (R)
PGC1α	F: CGCACAACCTCAGCAAGTCCTC
	R: CCTTGCTGGCCTCCAAAGTCTC
SIRT3	F: TCAGCAGTATGACATCCCGTACCC
	R: CGTGAAGCAGCCGAAGGAAGTAG
GAPDH (House Keeping)	F: AGGTTGTCTCCTGTGACTTC
	R: CTGTTGCTGTAGCCATATTC

Ekspresyon Seviyelerinin Analizi

Ekspresyon seviyeleri A.B.T.TM cDNA Synthesis Kit with RNase (Atlas Biyoteknoloji/ Türkiye) kitleri kullanılarak Biorad CFX96 (California/USA) gerçek zamanlı PCR cihazında analiz edildi. cDNA sentezi yapılan numuneler çalışmadan 10 dk önce +4°C’de ki bloğun üzerine konularak bir süre bekletildi. Çalışmada GAPDH geni housekeeping gen olarak kullanılmış ve normalizasyonda bu genin Cq değerleri baz alındı. Cihazda kullanılan tüpler 0.1 ml’lik PCR tüpleridir. Reaksiyon sonunda volüm 20 µL ayarlandı. Reaksiyon karışımı üretici firmanın protokolü kullanılarak aşağıdaki gibi hazırlandı (Tablo 3.4). Reaksiyonun cihaza yüklemeyi başlatmasını önlemek amacıyla prosedür buz üzerinde sürdürüldü.

Tablo 3.4. PCR Reaksiyonu 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	1 µl	1 µl
DNaz/RNaz İçermeyen Su	7 µl	7 µl

İşlemin ardından elde edilen reaksiyon karışımı kit üreticisinin protokolü uygulanarak belirlenen termal döngü (Tablo 3.5) ile gerçek zamanlı qPCR cihazına yerleştirildi ve örneklerin her biri 3 tekrarlı olarak çalışıldı (Resim 3.11 ve Resim 3.12).

Tablo 3.5. Gerçek Zamanlı PCR Döngüsü

PCR aşamaları	Sıcaklık (°C)	Süre	Siklus
Başlangıç denaturasyonu	95	300 sn	1
Denaturasyon	95	15 sn	35
Primer bağlanması/Uzama	60-65	30 sn	
Melt-Curve Analizi	65-95	2-5 sn/basamak	1

Elde edilmiş C_q değerleri ekspresyon seviyesinin değerlendirilmesi için her bir örnek ve grup için ayrı ayrı not edildi. Normalize edilen numunelerin verilerine $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü uygulandı ve sonrasında elde edilen ham veriler kullanılacak olan istatistik çalışmasına uygun hale getirildi.



Resim 3.11. Biorad CFX96 (California/USA) Gerçek Zamanlı PCR Cihazı



Resim 3.12. Biorad CFX96 (California/USA) Gerçek Zamanlı PCR Cihazında Gen Ekspresyon

3.5. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bütün verilerin analizleri, IBM SPSS.23 (IBM İnç., Chicago, IL, ABD) programında yapıldı. Gruplardaki dağılımının homojen olduğu ve normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov Smirnov testi ve Levene testi kullanılarak belirlendi. Değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma olarak verildi. Normal dağılıma uyan grupların karşılaştırması için ANOVA testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen grupların karşılaştırmasında Kruskal-Wallis testi

kullanıldı. Gruplar arası anlamlılık saptandığında, gruplar arası karşılaştırmalar için LSD (Least Significant Difference) düzeltme testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlendi.



4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Tablo 4.1. Biyokimya Parametrelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol (n=8)	RM (n=6)	RM+DEX (n=6)	DEX (n=8)	P değeri
Üre (mg/dl)	32,77±7,83	681,88±36,66	531,38±240,22	40,75±6,59	<0,001*
CK (U/L)	540,91±133,91	1579,68±519,73	1458,48±573,65	754,02±231,01	<0,001*
LDH (U/L)	888,54±257,38	2467,72±1738,37	1447,88±929,0	1437,75±371,17	0,032*
Kreatinin (mg/dl)	0,28±0,06	7,18±0,43	5,32±3,11	0,28±0,05	<0,001*
Sistatin C (ng/ml)	21,46±1,96	25,90±2,23	23,47±3,33	21,49±1,81	0,005*

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat Dehidrogenaz
Değerler Ortalama ± Standart Sapma verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05)

Ratların Üre, CK, LDH, Kreatinin, Sistatin C değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p<0,05) (Tablo 4.1).

Tablo 4.2. TAS, TOS, OSI Parametrelerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol (n=8)	RM (n=6)	RM+DEX (n=6)	DEX (n=8)	P değeri
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2/\text{g protein}$)	2,07±0,72	5,35±2,10	3,14±1,06	2,22±0,40	0,001*
TAS (mmolTroloxEl/g protein)	0,16±0,02	0,14±0,02	0,15±0,01	0,16±0,01	0,053
OSI (Arbitrary Unit)	1,27±0,40	3,82±1,37	2,07±0,59	1,40±0,22	<0,001*

TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi
Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

TOS ve OSI değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p<0,001). TAS değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05) (Tablo 4.2).

Tablo 4.3. MDA ve Katalaz Parametlerinin Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol (n=8)	RM (n=6)	RM+DEX (n=6)	DEX (n=8)	P değeri
MDA ($\mu\text{mol/gr protein}$)	0,62 $\pm$ 0,15	0,84 $\pm$ 0,33	0,71 $\pm$ 0,22	0,63 $\pm$ 0,12	0,578
Katalaz (kU/gr protein)	7,96 $\pm$ 7,36	3,43 $\pm$ 1,14	5,34 $\pm$ 2,07	7,66 $\pm$ 1,95	0,009*

MDA: Malondialdehit

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

MDA değerleri karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05). Katalaz değerleri karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (p=0,009) (Tablo 4.3).

Tablo 4.4. Kontrol ve RM Gruplarının Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol (n=8)	RM (n=6)	P değeri
Üre (mg/dl)	32,77 $\pm$ 7,83	681,88 $\pm$ 36,66	<0,001*
CK (U/L)	540,91 $\pm$ 133,91	1579,68 $\pm$ 519,73	<0,001*
LDH (U/L)	888,54 $\pm$ 257,38	2467,72 $\pm$ 1738,37	0,004*
Kreatinin (mg/dl)	0,28 $\pm$ 0,06	7,18 $\pm$ 0,43	<0,001*
Sistatin C (ng/ml)	21,46 $\pm$ 1,96	25,90 $\pm$ 2,23	0,002*
TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{g protein}$)	2,07 $\pm$ 0,72	5,35 $\pm$ 2,10	<0,001*
TAS (mmolTroloxEq/g protein)	0,16 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,02	0,011*
OSI (Arbitrary Unit)	1,27 $\pm$ 0,40	3,82 $\pm$ 1,37	<0,001*
MDA ($\mu\text{mol/gr protein}$)	0,62 $\pm$ 0,15	0,84 $\pm$ 0,33	0,054
Katalaz (kU/gr protein)	7,96 $\pm$ 7,36	3,43 $\pm$ 1,14	0,052

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat Dehidrogenaz TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi MDA: Malondialdehit.

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

RM ve Kontrol grubu arasında Üre, CK, LDH, TOS, TAS, OSI ve Kreatinin değerleri arasında anlamlı farklılık vardı ($p<0,05$). RM ve Kontrol grubu arasında Sistatin C değeri arasında anlamlı farklılık vardı ($p=0,002$). RM grubu ve Kontrol grubu arasında MDA ve Katalaz değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo 4.4).

Tablo 4.5. Kontrol ve DEX Gruplarının Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol (n=8)	DEX (n=8)	P değeri
Üre (mg/dl)	32,77±7,83	40,75±6,59	0,887
CK (U/L)	540,91±133,91	754,02±231,01	0,275
LDH (U/L)	888,54±257,38	1437,75±371,17	0,250
Kreatinin (mg/dl)	0,28±0,06	0,28±0,05	0,999
Sistatin C (ng/ml)	21,46±1,96	21,49±1,81	0,983
TOS ($\mu\text{molH}_2\text{O}_2/\text{g protein}$)	2,07±0,72	2,22±0,40	0,800
TAS (mmolTroloxEq/g protein)	0,16±0,02	0,16±0,01	0,553
OSI (Arbitrary Unit)	1,27±0,40	1,40±0,22	0,719
MDA ($\mu\text{mol/gr protein}$)	0,62±0,15	0,63±0,12	0,921
Katalaz (kU/gr protein)	7,96±7,36	7,66±1,95	0,886

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Lakbtat Dehidrogenaz TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi MDA: Malondialdehit
Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir ($p < 0,05$).

Kontrol ve DEX grubu arasında Üre, CK, LDH, Kreatinin, Sistatin C, TOS, TAS, OSI, MDA, Katalaz, değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.6. Kontrol ve RM+DEX Gruplarının Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol (n=8)	RM+DEX (n=6)	P değeri
Üre (mg/dl)	32,77±7,83	531,38±240,22	<0,001*
CK (U/L)	540,91±133,91	1458,48±573,65	<0,001*
LDH (U/L)	888,54±257,38	1447,88±929,0	0,278
Kreatinin (mg/dl)	0,28±0,06	5,32±3,11	<0,001*
Sistatin C (ng/ml)	21,46±1,96	23,47±3,33	0,124
TOS (µmol H2O2/g protein)	2,07±0,72	3,14±1,06	0,078
TAS (mmolTroloxEq/g protein)	0,16±0,02	0,15±0,01	0,093
OSI (Arbitrary Unit)	1,27±0,40	2,07±0,59	0,033*
MDA (µmol/gr protein)	0,62±0,15	0,71±0,22	0,360
Katalaz (kU/gr protein)	7,96±7,36	5,34±2,07	0,215

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat Dehidrogenaz TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi MDA: Malondialdehit

Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

Kontrol ve RM+DEX grubu arasında LDH, Sistatin C, TOS, TAS, OSI, MDA, Katalaz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05). Kontrol ve RM+DEX grubu arasında Üre, CK, OSI ve Kreatinin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05) (Tablo 4.6).

Tablo 4.7. RM ve DEX Gruplarının Karşılaştırılması

Gruplar	RM (n=6)	DEX (n=8)	P değeri
Üre (mg/dl)	681,88±36,66	40,75±6,59	<0,001*
CK (U/L)	1579,68±519,73	754,02±231,01	0,001*
LDH (U/L)	2467,72±1738,37	1437,75±371,17	0,052
Kreatinin (mg/dl)	7,18±0,43	0,28±0,05	<0,001*
Sistatin C (ng/ml)	25,90±2,23	21,49±1,81	0,002*
TOS (µmol H2O2/g protein)	5,35±2,10	2,22±0,40	<0,001*
TAS (mmolTroloxEq/g protein)	0,14±0,02	0,16±0,01	0,039*
OSI (Arbitrary Unit)	3,82±1,37	1,40±0,22	<0,001*
MDA (µmol/gr protein)	0,84±0,33	0,63±0,12	0,066
Katalaz (kU/gr protein)	3,43±1,14	7,66±1,95	0,068

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat Dehidrogenaz TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi MDA: Malondialdehit.

Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

RM ve DEX grubu arasında Üre, CK, Sistatin C, Kreatinin TOS, TAS ve OSI arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05). RM ve DEX grubu arasında MDA ve Katalaz değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05) (Tablo 4.7).

Tablo 4.8. RM ve RM+DEX Gruplarının Karşılaştırılması

Gruplar	RM (n=6)	RM +DEX (n=6)	P değeri
Üre (mg/dl)	681,88±36,66	531,38±240,22	0,028*
CK (U/L)	1579,68±519,73	1458,48±573,65	0,587
LDH (U/L)	2467,72±1738,37	1447,88±929,0	0,070
Kreatinin (mg/dl)	7,18±0,43	5,32±3,11	0,034*
Sistatin C (ng/ml)	25,90±2,23	23,47±3,33	0,083
TOS (µmol H2O2/g protein)	5,35±2,10	3,14±1,06	0,001*
TAS (mmolTroloxEq/g protein)	0,14±0,02	0,15±0,01	0,276
OSI (Arbitrary Unit)	3,82±1,37	2,07±0,59	<0,001*
MDA (µmol/gr protein)	0,84±0,33	0,71±0,22	0,260
Katalaz (kU/gr protein)	3,43±1,14	5,34±2,07	0,397

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat Dehidrogenaz TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi MDA: Malondialdehit
Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

RM ve RM+DEX grubu arasında CK, LDH, Sistatin C, TAS, MDA, Katalaz arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu (p>0,05). RM ve RM+DEX grubu arasında Üre, Kreatinin, TOS ve OSI arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05) (Tablo 4.8).

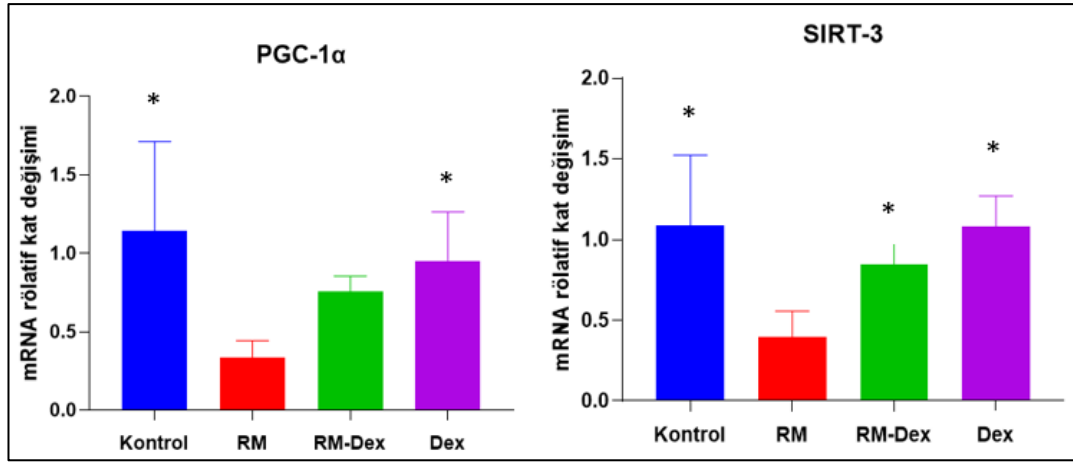
Tablo 4.9. DEX ve RM+DEX Gruplarının Karşılaştırılması

Gruplar	DEX (n=8)	RM + DEX (n=6)	P değeri
Üre (mg/dl)	40,75±6,59	531,38±240,22	<0,001*
CK (U/L)	754,02±231,01	1458,48±573,65	0,002*
LDH (U/L)	1437,75±371,17	1447,88±929,0	0,984
Kreatinin (mg/dl)	0,28±0,05	5,32±3,11	<0,001*
Sistatin C (ng/ml)	21,49±1,81	23,47±3,33	0,129
TOS (µmol H2O2/g protein)	2,22±0,40	3,14±1,06	0,126
TAS (mmolTroloxEq/g protein)	0,16±0,01	0,15±0,01	0,263
OSI (Arbitrary Unit)	1,40±0,22	2,07±0,59	0,071
MDA (µmol/gr protein)	0,63±0,12	0,71±0,22	0,414
Katalaz (kU/gr protein)	7,66±1,95	5,34±2,07	0,271

CK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat Dehidrogenaz. TOS: Total Oksidan Seviye TAS: Total Antioksidan Seviye OSI: Oksitadif Stres İndeksi MDA: Malondialdehit
Değerler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

DEX ve RM+DEX grubu arasında LDH, Sistatin C, TOS, TAS, OSI, MDA, Katalaz arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05). DEX ve RM+DEX grubu arasında Üre, CK ve Kreatinin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05) (Tablo 4.9).

4.2. Genetik İnceleme



Şekil 4.1. PGC-1 α ve SIRT-3 Rölatif mRNA Ekspresyon Sonuçları ve Gruplar Arası İstatistiksel Karşılaştırma Grafiği.

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verilmiştir. *RM grubuna göre istatistiksel anlamlılığı ifade etmektedir.

Tablo 4.10. PGC-1 α ve SIRT-3'ün Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Gruplar	PGC-1 α	SIRT-3
	P değeri	
Kontrol-RM	<0,001*	<0,001*
Kontrol-DEX	0,300	0,962
Kontrol-(DEX+RM)	0,056	0,124
RM-DEX	0,004*	<0,001*
RM-(RM+DEX)	0,054	0,009*
DEX-(RM+DEX)	0,315	0,134

PGC-1 α : Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Edilen Reseptör Gama Koaktivatörü-1 Alfa SIRT-3: Sirtuin-3

*İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

RM ve Kontrol grubu arasında PGC-1 α , SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (<0,001) (Tablo 4.10) (Şekil 4.1).

Kontrol ve DEX grubu arasında PGC-1 α , SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05) (Tablo 4.10).

Kontrol ve RM+DEX grubu arasında PGC-1 α , SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05) (Tablo 4.10) (Şekil 4.1).

RM ve DEX grubu arasında PGC-1 α arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,004). RM ve DEX grubu arasında SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,001) (Tablo 4.10) (Şekil 4.1).

RM ve RM+DEX grubu arasında PGC-1 α arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05). RM ve RM+DEX grubu arasında SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,009) (Tablo 4.10) (Şekil 4.1).

DEX ve RM+DEX grubu arasında PGC-1 α ve SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05) (Tablo 4.10).

Tablo 4.11. PGC-1 α ve SIRT-3' ün Tüm Gruplar Arasında Karşılaştırılması

Gruplar	Kontrol	RM	RM+DEX	DEX	P değeri
PGC-1 α	1,15 $\pm$ 0,57	0,33 $\pm$ 0,11	0,75 $\pm$ 0,10	0,95 $\pm$ 0,31	0,003*
SIRT-3	1,09 $\pm$ 0,44	0,39 $\pm$ 0,16	0,85 $\pm$ 0,15	1,08 $\pm$ 0,19	<0,001*

PGC-1 α : Peroksizom Proliferatörü ile Aktive Edilen Reseptör Gama Koaktivatörü-1 Alfa SIRT-3:Sirtuin-3

Değerler Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak verilmiştir. *İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir (p <0,05).

PGC-1 α ve SIRT-3 arasında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı (sırasıyla; p=0,003, p<0,001) (Tablo 4.1).

4.3. Histopatolojik İnceleme Sonuçları

Çalışmamızda böbrek doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Abdel-Wahhab ve ark.'nın yaptığı skorlama ile (118, 119) değerlendirildi.

- (negatif skor): Histolojik (yapısal) değişikliğin olmamasını,
- + (1 pozitif skor): Hafif derecede histolojik (yapısal) değişikliği
- ++ (2 pozitif skor): Orta derecede histolojik (yapısal) değişikliği
- +++ (3 pozitif skor): Ciddi derecede histolojik (yapısal) değişikliği ifade etmektedir.

Gruplar arasında gözlenen histolojik değişikliklerin “p” değerleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12. Grupların Histolojik Karşılaştırılması

Gruplar	İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Vasküler Konjesyon	Tübüler Dilatasyon	Tübüler Epitelial Hücrelerde Dejenerasyon
Kontrol	-	-	-	-
RM	+++	+++	+++	+++
RM+DEX	+	+	+	+
DEX	-	-	-	-
Kontrol- RM	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05
Kontrol- (RM+DEX)	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05
Kontrol -DEX	p> 0,05	p> 0,05	p> 0,05	p> 0,05
RM- (RM+DEX)	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05
RM-DEX	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05
DEX- (RM+DEX)	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05	p< 0,05

p <0,05 İstatistiksel olarak anlamlılığı ifade etmektedir.

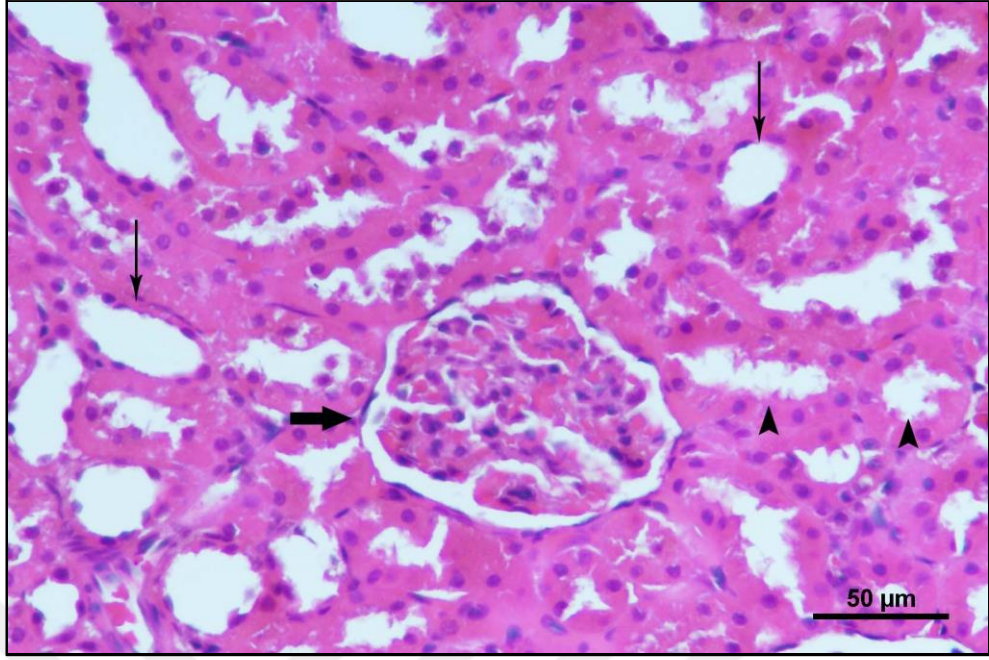
Kontrol ve RM grubundaki ratlarda böbrek doku kesitlerinin histolojik incelenmesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05). Kontrol grubu ve DEX grubundaki ratlarda böbrek doku kesitlerinin histolojik incelenmesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05). RM+DEX grubu ve RM grubundaki ratlarda böbrek doku kesitlerinin histolojik incelenmesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05) (Tablo 4.12). RM ve DEX grubundaki ratlarda böbrek doku kesitlerinin histolojik incelenmesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05) (Tablo 4.12). DEX ve RM+DEX grubundaki ratlarda böbrek doku kesitlerinin histolojik incelenmesi karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p<0,05) (Tablo 4.12).

Kontrol grubunda mikroskopik değerlendirmede normale yakın doku histolojisi görüldü (Şekil 4.2, Şekil 4.3). (Tablo 4.12).

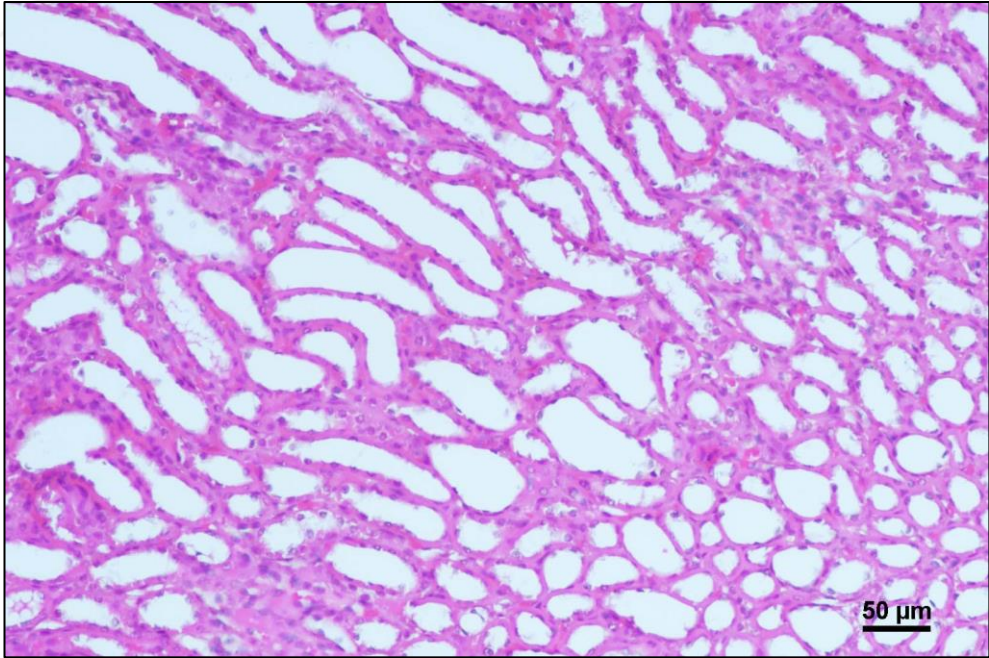
DEX grubunda mikroskopik değerlendirmede distal tübül ve glomerüler yumak kontrol grubuna yakın bir görünümde izlenirken proksimal tübül epitelinde yer yer dökülmeler gözlemlendi (Şekil 4.4, Şekil 4.5).

RM grubunda toplayıcı tübüllerin çoğunda lümende eozinofilik materyal birikimi görüldü (Şekil 4.6). İnterisyel aralıkta yoğun fibrozis görüldü. RM grubunda glomerüllerde fibrozis ve atrofi, yaygın tübüler hasar ve bazı tübüllerde yoğun protein birikimi ve nekrotik alanlar görüldü (Şekil 4.7, Şekil 4.8). Medullar intestriyel alanda nekrotik, eozinoiflik alanların yanında dilate toplayıcı tübül sayısında azalma görüldü (Şekil 4.9).

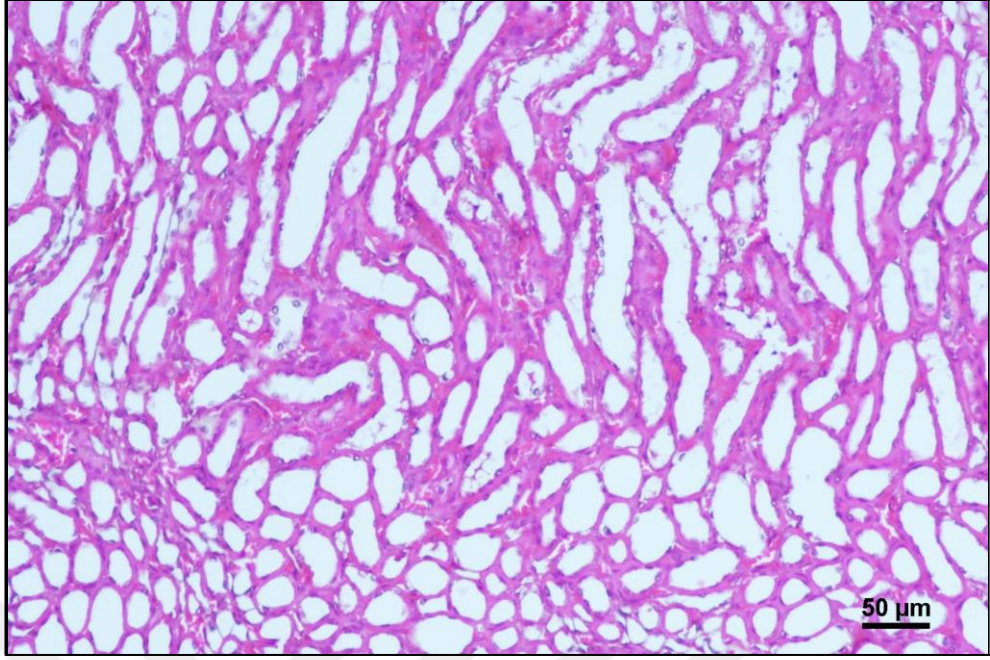
RM+DEX grubu histopatolojik görüntülerinde böbrek medullasında tübüllerde eozinofilik materyal birikimi RM Grubuna göre azalmış , tübüllerin sayısı kontrol grubuna yakın olarak izlendi (Şekil 4.10). Bazı tübüllerdeki yoğun protein birikimi azalmış olarak görüldü. Dilate toplayıcı tübüllerin sayısı, tübüllerin içindeki eozinofilik materyal birikimi ve interstisyel alandaki fibrozis hasar grubuna göre azalmış olarak görüldü (Şekil 4.11). Glomerüler yumak kontrol grubuna yakın bir histolojide görüldü. Tübüllerin içindeki yoğun protein birikimi hasar grubuna göre azalmış ve tübül epitellerinin korunmuş olduğu görüldü (Şekil 4.12).



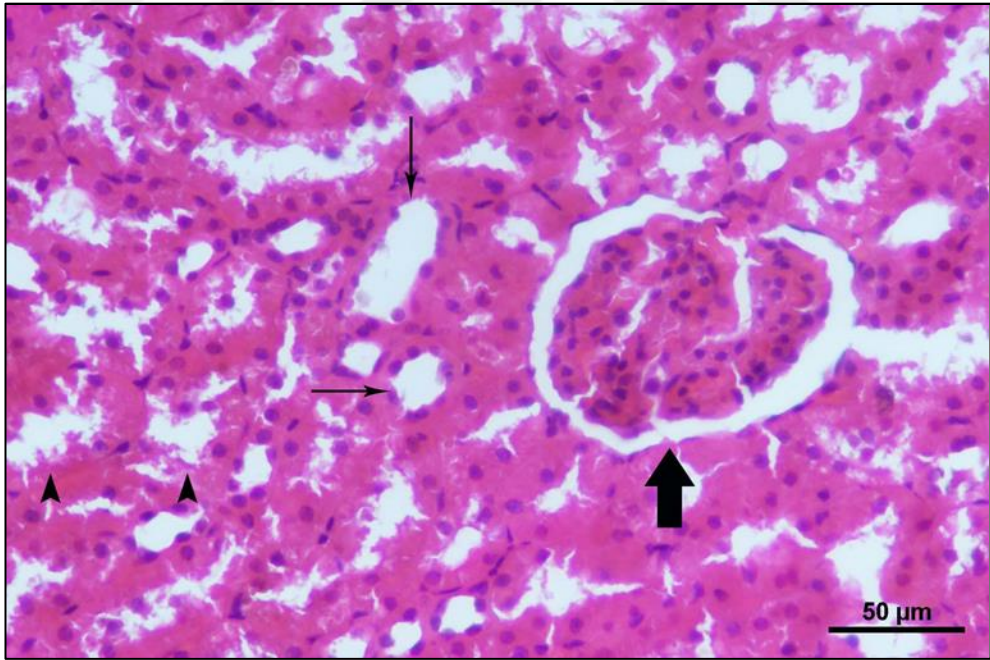
Şekil 4.2. Kontrol Grubu Böbrek Kesiti. Proksimal tübül (ok başı), distal tübül (ince ok) ve glomerüler yumak (kalın ok) normale yakın bir görünümde izlendi. H&E, scale bar=50µm.



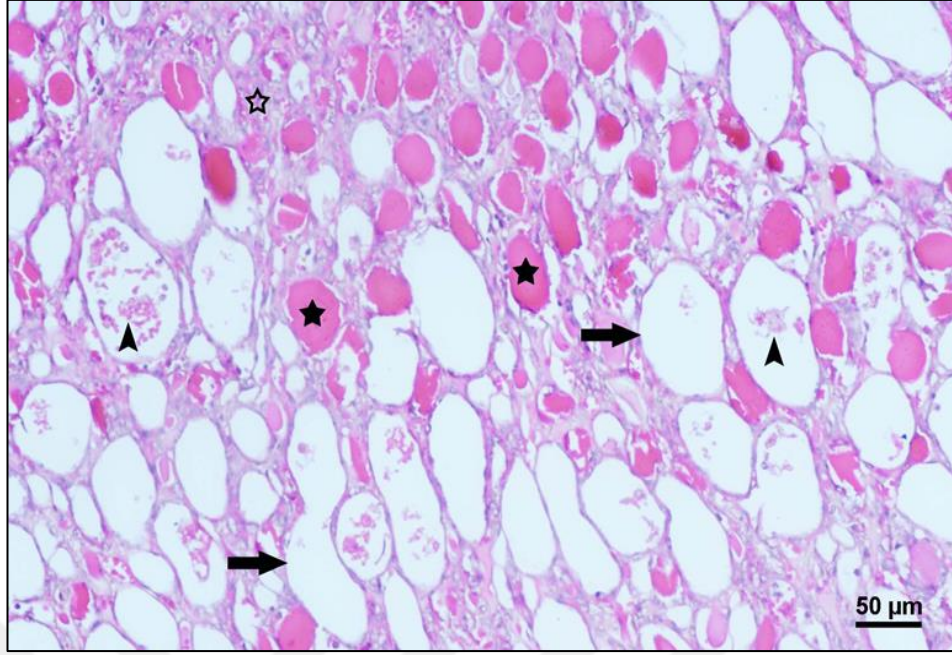
Şekil 4.3. Kontrol Grubu Böbrek Medullası Kesiti. Toplayıcı tübüller normale yakın görünümde. H&E, scale bar=50µm.



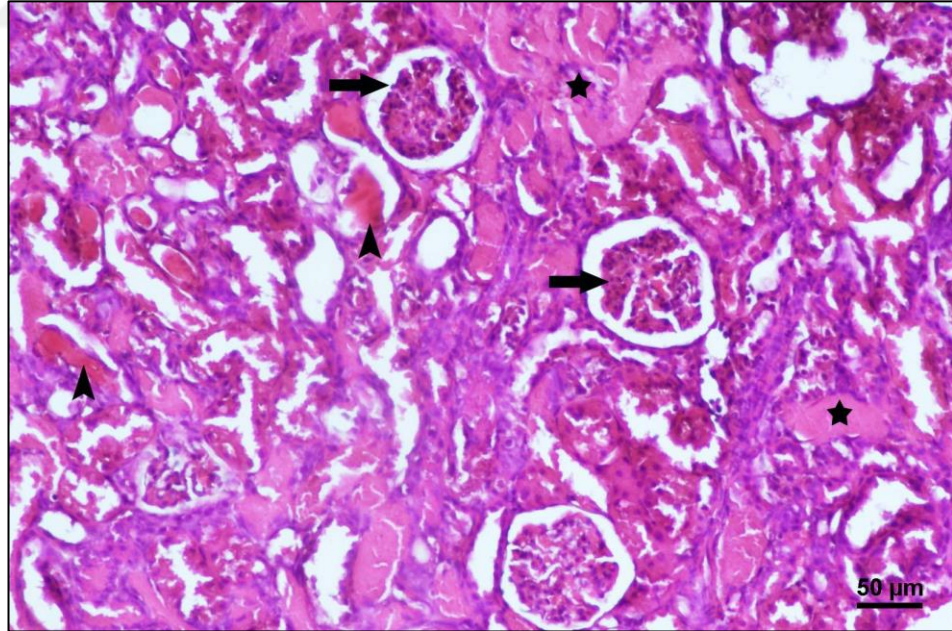
Şekil 4.4. DEX Grubu Böbrek Medullası Kesiti. Toplayıcı tübüller kontrol grubuna yakın bir görünümde. H&E, scale bar=50μm.



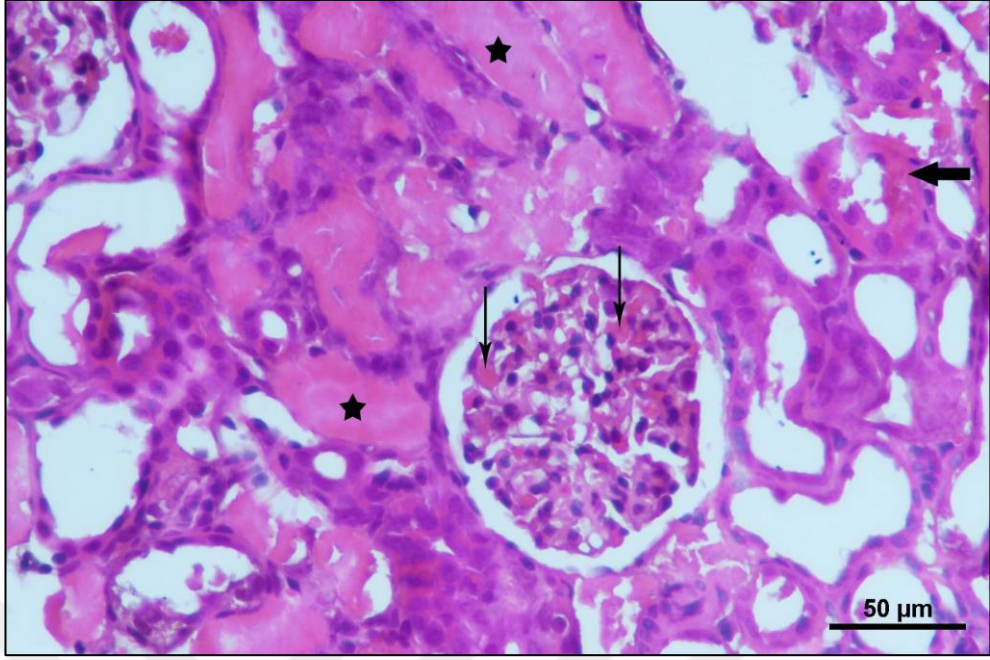
Şekil 4.5. DEX Grubu Böbrek Kesiti. Distal tübül (ince ok) ve glomerüler yumak (kalın ok) kontrol grubuna yakın bir görünümde izlenirken proksimal tübül epitelinde yer yer dökülmeler gözlemlendi (ok başı). H&E, scale bar=50μm.



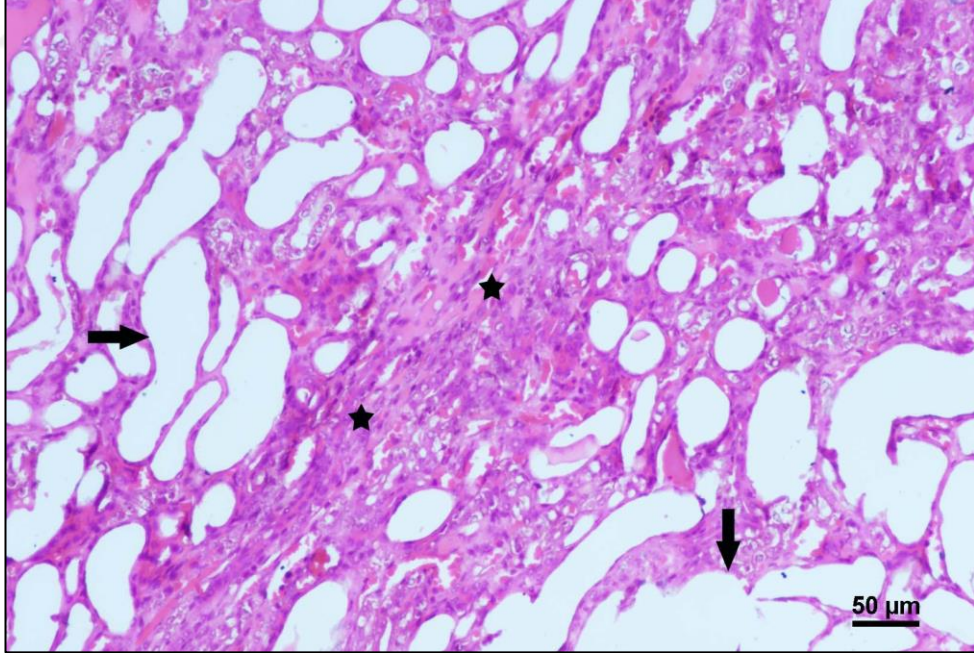
Şekil 4.6. RM Grubu Böbrek Tübüler Kesiti. Dilate toplayıcı tübüller (kalın ok), tübüllerin çoğunda lümende yoğun eozinofilik materyal birikimi (siyah yıldız), tübüllerin bazılarında tübül epitelinin lümene dökülmüş olduğu gözükmemekte (ok başı). İntertisyel aralıkta yoğun fibrozis (içi boş yıldız). H&E, scale bar=50µm



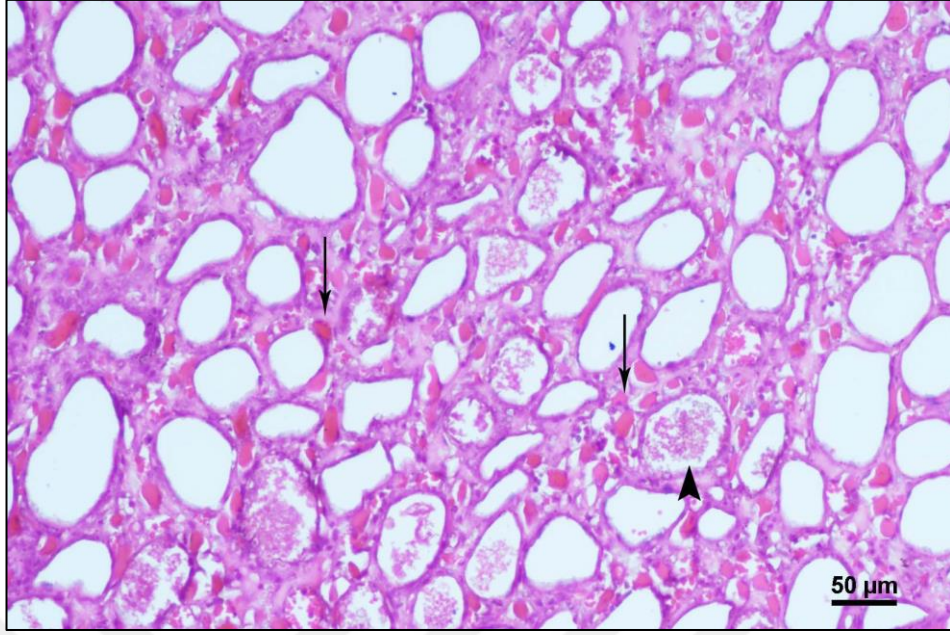
Şekil 4.7. RM Grubu Böbrek Glomerüller Kesiti. Glomerüllerde fibrozis ve atrofi (kalın ok), yaygın tübüller hasar ve bazı tübüllerde eozinofilik materyal (ok başı), bazı tübüllerde ise yoğun protein birikimi-cast (yıldız). Yaygın nekrotik alanlar. H&E, scale bar=50µm.



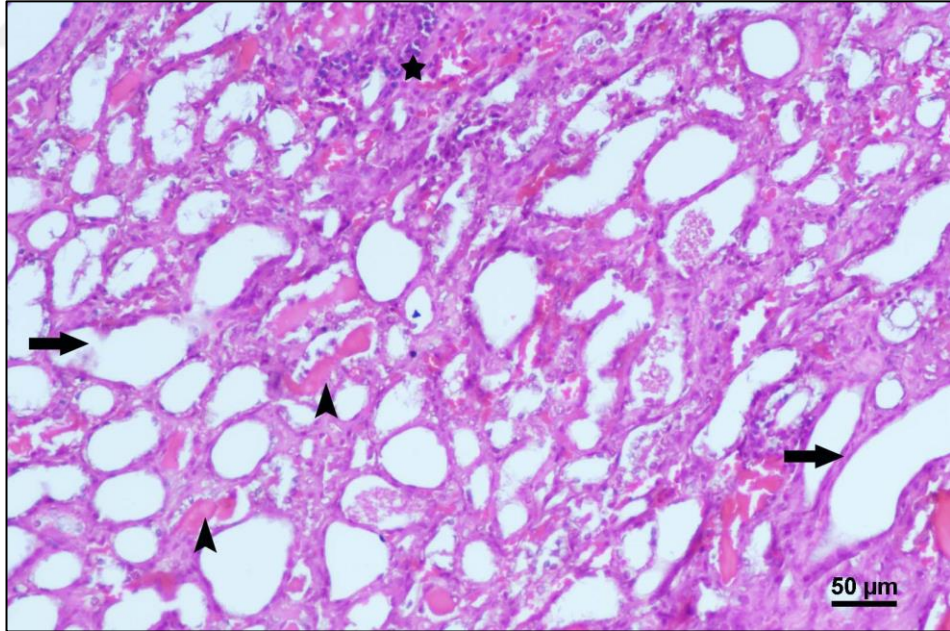
Şekil 4.8. RM Grubu Böbrek Glomerülo-Tübüler Kesiti. Glomerüler yumakta fokal birikim ve eozinofilik materyal infiltrasyonu (ince ok), yaygın tübüler hasar ve tübüllerde eozinofilik materyal birikimi (129), bozumuş tübül epiteli (kalın ok). H&E, scale bar=50µm



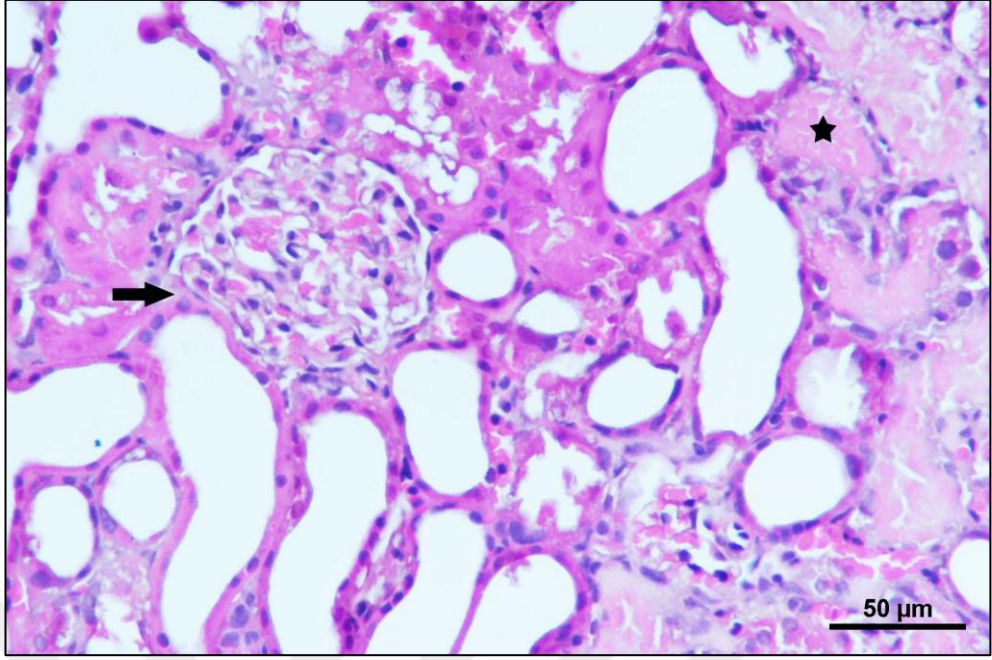
Şekil 4.9. RM Grubu Böbrek Medullası Kesiti. Medullar interstiyel alanda nekrotik, eozinoiflik alanlar (yıldız), azalmış sayıda ve dilate toplayıcı tübüller (ok). H&E, scale bar=50µm.



Şekil 4.10. RM+DEX Grubu Böbrek Medullası Kesiti. Böbrek medullasından geçen bir kesit. Tübüllerde eozinofilik materyal birikimi RM Grubuna göre azalmış (ok), tübüllerin sayısı kontrol grubuna yakın. Bazı tübüllerde bulunan yoğun protein birikimi-cast- azalmış. (ok başı) H&E, scale bar=50µm.



Şekil 4.11. RM +DEX Grubu Böbrek Tübüler Kesiti. Dilate toplayıcı tübüllerin sayısı (ok) ve tübüllerin içindeki eozinofilik materyal birikimi (ok başı) ve interstisyel alandaki fibrozis (yıldız) hasar grubuna göre azalmış görülmekte. H&E, scale bar=50µm.



Şekil 4.12. RM +DEX Grubu Böbrek Glomerülo-Tübüller Kesiti. Glomerüller yumak kontrol grubuna yakın bir histolojide görüldü. Tübüllerin içindeki yoğun protein birikimi hasar grubuna göre azalmış. Tübül epitellerinin korunmuş olduğu görüldü. H&E, scale bar=50µm.

5. TARTIŞMA

Böbreğin filtrasyon fonksiyonunun bozulması, kan üre azotu, kreatinin ve üremik toksinlerin artışı, GFH'nın azalması ile karakterize olan ABY önemli klinik sorundur (1, 29, 33). Tedavi alanında sağlanan pek çok gelişmelere rağmen ABY'nin morbidite ve mortalitesi artmaktadır. Yoğun bakım ünitesinde görülen mortalitenin en az %50'si ABY'den kaynaklanmaktadır. Ayrıca hastalarda ABY nedeniyle ortaya çıkan komplikasyonlar, hastaların yoğun bakım ünitesinde tedavi masraflarının artmasına ve kalış süresinin uzamasına sebep olmaktadır (29).

Akut tübüler nekroz, tübüllerde miyogloblin tıkaç oluşturarak tübüler iskemi ile renal ABY oluşturur. Myoglobin, tübül hücrelerine lipit peroksidasyonu ve yapısındaki hem grubunun redoks döngüsüne katılmasıyla hasar verir. Rabdomiyoliz kas iskemisi sonucu miyositlerin parçalanması ile miyoglobinin sebep olduğu ABY gelişimine neden olur. (7, 15, 38). İnsanlar üzerinde deneysel yöntemle rabdomiyoliz meydana getirmek etik yönünden mümkün değildir. Bu yüzden yapılan çalışmada ratlarda rabdomiyoliz oluşturarak buna bağlı ABY gelişen modeli kullanıldı. Deprem sonrasında enkaz altında kalan ve yaralı olarak kurtulanlarda deneyde uygulanan yöntemle benzer mekanizma ile ABY gelişebilmektedir. Crush sendromunun oluşturduğu rabdomiyolize bağlı ABY'nin erken tanınması ve tedaviye başlanması oldukça yüksek önem arz etmektedir. Gliserolle oluşturulan böbrek yetmezliği; rabdomiyolizin sebep olduğu ABY tablosu ile yakından ilişkilidir. Gliserol kaynaklı böbrek yetmezliğinde görülen iskemik hasar, miyoglobinin neden olduğu tübüler nefrotoksisite ve rabdomiyolizden sonra salınan sitokinlerin böbrekte oluşturduğu etkiler benzerdir (4, 10, 42, 44, 54, 125). Gliserol uygulaması ile rabdomiyoliz sonrasında ABY gelişen hayvan modeli üzerinde yapılan bir çalışmada mitokondride miyogloblinüri ile SOR oluşumunu ve lipit peroksidasyonunun neden olduğu renal tübüler hasarlanma gösterilmiştir (44). Çalışmada Crush sendromuna bağlı rabdomiyoliz oluşturmak için kas içi gliserol uygulanan hayvan modelini kullanıldı. Çalışmada, RM grubunun böbrek preparatlarının histolojik incelenmesinde inflamatuvar hücre görülmesi, vasküler konjesyon, tübüler dilatasyon olması ve tübül epitelinde hücrelerde dejenerasyon görülmesi renal hasar oluşumunu destekledi.

ABY'nin tanısında ilk laboratuvar değerlendirmesinde serum kreatinin düzeyi, idrar tahlili, tam kan sayımı, fraksiyonel sodyum atılımı, serum elektrolit düzeyleri, CK, LDH kullanılır. Renal fonksiyonun en iyi genel değerlendirilmesi GFH ile yapılır. Fakat direkt olarak GFH analizi yapmak zordur. GFH belli bir düzeye düşmezse serum kreatinin değeri değişmez. Bu yüzden böbrekteki hasarın erken gösterilmesinde kreatinin yetersiz kalabilir. Sistatin C ve LDH, GFH'da düşme olmadan renal hasarın gösterilmesinde kritik rol alırlar (3, 6, 47). Serum kreatinine nazaran sistatin C kas kütlesindeki değişikliklerden daha az etkilenmektedir. Sistatin C'nin, ABY tanısında serum kreatinininden daha üstün olduğu bulunmuştur (47). Bu yüzden çalışmada rabdomiyolize bağlı ABY hasarının derecesinin ve DEX'in böbrek fonksiyonları üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için kreatinin, üre yanında sistatin C kullanıldı. Rabdomiyoliz ile renal hasar oluşumunun değerlendirilmesinde Kreatinin ($p<0,001$) ve Sistatin C ($p=0,002$) birlikte değerlendirildiğinde kreatinindeki istatistiksel sonuç farklılığının kas kütlesindeki değişikliklerden etkilenmesinden kaynaklanabileceği düşünüldü. Sistatin C değerinin RM ve Kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olması ($p=0,002$) normal böbrek dokusunda ABY geliştiğini gösterdi. RM ve RM+DEX grubu arasında Sistatin C arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık ($p>0,05$) olmaması Üre ve kreatinine üstünlüğünü göstermedi. Fakat RM+DEX grubunda ortalama Sistatin C'nin RM grubuna göre daha düşük olması tanıdaki etkinliği açısından farklı ilaç uygulama süreleri veya dozu ile araştırılabilir.

Miyojenik yanıt ve tübüloglomerüler geri bildirim renal otonöregülasyondan sorumludur. Yapılan çalışmalarda vazoreaktivite ve miyojenik tepkinin SOR varlığından etkilendiğini göstermiştir. SOR üretiminin artmış olması ABY'de tübül hücrelerinin hasarlanmasında önemli rol oynamaktadır (130). Bununla ilişkili olarak lipopolisakkaritle indüklenen ABY'de mitokondriyal hasarı ve mitokondri hedefli antioksidan korumayı inceleyen bir çalışmada; elektron mikroskopik analizlerde lipopolisakkarit uygulanması ile renal epitelyal hücrelerde ve vasküler endotelde mitokondriyal membran bütünlüğünün bozulduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada mitokondriyal morfolojik bozukluk oksidatif stresin başlamasıyla ilişkilendirilmiştir. (131). Çalışmamızda TOS ve OSI parametrelerinin RM ve Kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olması böbrek dokusundaki

oksidatif stresin arttığını gösterdi. Moleküller arasındaki çapraz bağların oluşumuna sebep olan ve lipid peroksidasyonu arttığında plazmada artış gösteren MDA (85, 86) seviyeleri RM grubunda ($0,84 \pm 0,33$) Kontrol grubuna ($0,62 \pm 0,15$) kıyasla arttı. Bu artış rabdomyolizle böbreklerde oluşturulan hasarda lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirildi.

Dokuda pantotenik aside çevrilen DEX, birçok metabolik yolda görev alan Koenzim A'nın temel bileşenidir (129). Koenzim A sitozolde yağ asidi biyosentezi için gereklidir. DEX'in hücrelerdeki oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir. Karbon tetra klorürle indüklenmiş myokardiyal toksisitede (132), lipopolisakkaritle indüklenmiş kardiyovasküler toksisitede (133) septik farelerde karaciğer ve böbrek dokularında (134), streptozosinle indüklenen nöronal hasarda (21), nikotinle indüklenen akciğer hasarında (135) DEX'in antiinflamatuvar, antiapoptotik, antioksidan etkinliği gösterilmiştir. Çalışmada oksidan-antioksidan sistemin parçası olan MDA, CAT parametreleri ile DEX'in bu sistem üzerindeki etkinliğini araştırdık. Çalışmada RM+DEX grubundaki MDA ($0,71 \pm 0,22$) ve RM grubundaki MDA ($0,84 \pm 0,33$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$). Bununla birlikte oksidan parametrelerden MDA seviyesinde RM+DEX grubu RM grubu ile karşılaştırıldığında minimal düşme tespit edildi. MDA seviyesinde DEX uygulaması ile düşme eğilimi ek ilaç uygulama süresiyle veya oksidan sistemin farklı enzimleri çalışılarak araştırılabilir. Renal tübül hücrelerinde endojen antioksidan olan CAT, GPx, SOD gibi enzimlerin seviyesi ABY'de ciddi derecede azalır sonrasında oksidatif stres ve redoks dengesizlikleri oluşur (10). Çalışmamızda RM+DEX grubundaki ratların CAT ($5,34 \pm 2,07$) ve RM grubundaki ratların CAT ($3,43 \pm 1,14$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$). Fakat RM+DEX grubunda CAT seviyesinde RM grubuna kıyasla artış oldu. Antioksidan etkinliğinin değerlendirilmesinde CAT ile diğer antioksidan sistem enzimlerinin birlikte çalışılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Sistemik olarak 250-500 mg dozlarda kullanılan DEX'in oral ve parenteral kullanım preparatları mevcuttur (114). Literatürde bleomisin neden olduğu akciğer fibrozisinde DEX'in koruyucu etkinliğini araştıran bir çalışmada akciğer hasarı gelişen ratlara 14 gün boyunca 500 mg/kg/gün DEX uygulanmıştır. Deney sonunda DEX uygulanan akciğer hasarı olan grupta CAT, SOD gibi antioksidan enzimlerinin

sevelerinde artış, MDA gibi oksidatif stres belirtecinin seviyelerinde azalma görülmüştür (136). Ratlarda diyabetik nefropati ve renal oksidatif stres üzerinde DEX'in 500 mg/kg dozunda 6 hafta boyunca uygulamasını inceleyen başka bir çalışmada; streptozosin ile indüklenmiş diyabet gelişen ratlarda GPx enzim aktivitesini arttığını, TOS düzeylerinde önemli derecede azalma olduğu gösterilmiştir (137). Ratlarda metotreksatin sebep olduğu karaciğer oksidatif toksisitesinde DEX'in koruyucu etkinliğini araştıran bir çalışmada 500 mg/kg DEX 24 gün boyunca uygulanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında GPx, TAS kapasitesinin DEX uygulanan grupta arttığı, TOS'un düştüğü gözlemlenmiştir (129). Çekal ligasyon ile sepsis gelişen ve DEX tedavisi uygulanan ratlarda kalp dokusundaki antioksidan aktivite 2 gün boyunca günde 2 kez ip 500 mg/kg doz uygulaması ile incelenmiştir. Çalışma sonucunda DEX tedavisi ile MDA seviyelerinin azaldığı, CAT, SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (138). Bütün bu çalışmalar DEX'in antioksidan, antiapoptotik ve antiinflamatuvar etkinliğini ip 500 mg/kg doz uygulaması ile araştırmıştır. Çalışmamızda 5 gün boyunca ip 500 mg/kg uygulanan DEX'in etkinliğini MDA ve CAT parametreleri ile oksidan-antioksidan sistem üzerinden değerlendirdik. Çalışmamızda RM+DEX, RM grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmaması, aynı dozu farklı sürelerle değerlendiren başka çalışmalarla incelenebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmada, DEX'in etkinliğinde alttan yatan genetik mekanizmayı araştırdık. PGC-1 α ve SIRT-3, oksidatif sürecin, antioksidan savunmanın ve mitokondriyal biyogenezin temel düzenleyicisidir (139). Bu yüzden çalışmamızda mitokondrinin yoğun olduğu renal dokuda DEX'in etkinliğinin araştırılmasında PGC-1 α ve SIRT-3 gen ekspresyonları kullanıldı. Mitokondriyal biyogenezin azalmış olması, mitokondriyal içeriğin yenilenmesinin azalmasına sebep olur. Bunun sonucunda lipid, DNA ve proteinlerin oksidasyonu gerçekleşir (140). Çalışmamızda Kontrol ve RM grubu PGC-1 α ve SIRT-3 arasında istatistiksel olarak anlamlılık olması ($p<0,001$) ve bu iki genin RM grubunda ekspresyonunun azalmış olması hasarlı böbrek dokusunda mitokondriyal hasarlanma ile ilişkilendirildi. Literatürde sisplatin ile indüklenerek oluşturulmuş ABY tablosunda mitokondriyal fonksiyonları liquiritigenin koruyucu etkinliğini araştıran çalışmada sisplatin sonrası ABY gelişen 20 fare üzerinde iki gün ip liquiritigenin uygulanmış ve sonrasında renal tübülleri ve mitokondriyal

fonksiyonlar incelenmiştir. Deney sonucunda SIRT-3 protein seviyelerinin liquiritigenin tedavisi ile önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Bu çalışmada ABY tablosundaki iyileşme mekanizması PGC-1 α / Nrf/ SIRT-3 yolağının mitokondriyal biyogenezi aktive ederek yaptığı gösterilmiştir (141). Mitokondriyal dinamiklerin araştırıldığı başka bir çalışmada SIRT-3 geni çıkarılarak, SIRT-3^{-/-} fareler kullanılmıştır. Fareler SIRT-3^{-/-} olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada Sisplatin ile ABY oluşturulan ratlarda tedavi edici ajan olarak AICAR (AMPK agonisti) ve antioksidan ajan olan asetil-l-karnitin kullanılmıştır. Tedavi verilen SIRT-3^{-/-} farelerinde renal fonksiyonlarda ve tübüler hasarlanmada iyileşme tespit edilememiştir. Çalışmada ayrıca SIRT-3^{-/-} farelerinde ciddi ABY tablosu gelişmiş ve hayvanların öldüğü gözlemlenmiştir (112). Çalışmamızda RM ve RM+DEX grupları arasında SIRT-3 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,009). SIRT-3 genetik ekspresyonunun artmış olması (Şekil 4.1); DEX'in koruyucu etkinliğinin SIRT-3 aracılığı ile olduğunu düşündürmüştür. Çalışmamızda RM ve RM+DEX grubu arasında PGC-1 α arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p>0,05). RM+DEX grubunda PGC-1 α genetik ekspresyonunu RM grubuna kıyasla artmış olarak bulundu. Akut böbrek yetmezliğinde renal doku üzerinde DEX'in etkinliğinde PGC-1 α ve SIRT-3'den farklı genetik yolların çalışılmasıyla iyileşme mekanizması aydınlatılabilir.

Histolojik olarak ABY; nekrotik hücre ölümü ve inflamasyonla karakterizedir. Lipit peroksidasyonu tübüllerde hasar oluşturarak miyofibroblastların çoğalmasını önleyebilir. İnflamasyon, parankimal hücre kaybı ve tübüler epitelinde dejenerasyon olması ve tübül sayısının azalması ABY'nin sonunda tübülointerstisyel fibrozise yol açabilen özelliklerdir (142). Deneysel böbrek iskemi-reperfüzyon modeli oluşturulan bir çalışmada; DEX'in oksidatif stres, tübüler hasar, apoptoz ve renal inflamasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Böbrek dokusunun histopatolojik incelemesinde iimmunohistokimyasal yöntemle kaspaz-3 aktivitesi değerlendirilmiştir. İskemi reperfüzyon oluşturulmuş böbrek dokusunda DEX uygulaması ile antiapoptotik kaspaz-3 konsantrasyonunda anlamlı azalma görüldüğü tespit edilmiştir. Çalışmada proinflamatuvar sitokinler; TNF- α , IL-6 düzeylerinin DEX tedavisi alan ABY gruplarında azalmış olması; renovasküler obstrüksiyona bağlı renal hasarın iyileşmesinin nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (Nrf2)-

antioksidan yolağı ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür (143). Gliserol ile indüklenen rabdomiyolizin neden olduğu ABY’de DEX’in renoprotektif etkisini araştıran başka çalışmada ratlara DEX 200 mg/kg, 7 gün uygulanmış ve renal doku histopatolojik olarak incelenmiştir. Hematoksilen-eozin ile boyanmış renal doku kesitlerinde patomorfolojik değişiklikler gösterilmiştir. Rabdomiyoliz sonrası böbrek korteksinde yaygın ve fokal mononükleer infiltrasyon, tübüllerde genişleme, glomerüllerde küçülme, toplayıcı kanalda eozinofilik protein birikimi tespit edilmiştir. DEX uygulanan rabdomiyoliz oluşturulmuş rat böbreğinin histopatolojik değerlendirmesinde lökosit infiltrasyonunda azalma gözlenmiştir. Çalışmada DEX’in koruyucu etkisinin; inflamatuvar süreci baskılamasıyla olduğu düşünülmüştür (10). Çalışmamızda histopatolojik görüntülerde RM+DEX grubu böbrek medullasında ve tübüllerde; eozinofilik materyal birikiminin RM grubuna kıyasla azalmış, tübüllerin sayısı kontrol grubuna yakın olarak izlenmiş ve tübüllerdeki yoğun protein birikimi azalmış olarak görüldü (Şekil 4.10). Bu histolojik iyileşme rabdomiyoliz ile ABY oluşturulan ratlarda, rabdomiyoliz sonrasında 5 gün boyunca günde tek doz olarak 500 mg/kg uygulanan DEX’in hasarlı renal dokuda iyileştirici etkisi ile ilişkilendirildi. Aynı zamanda RM grubunda artmış inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve tübüler epitel dejenerasyon gibi histolojik değişikliklerin RM+DEX grubunda azalmış olarak görülmesi; DEX’in histopatolojik koruyucu etkinliğinin inflamatuvar hücreler üzerindeki baskılayıcı etkisinden kaynaklanabileceğini düşündürdü.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan analizlerden elde edilen bulgulara göre; ratlarda 8ml/kg dozunda i.m gliserolle oluşan rabdomiyoliz sonucu meydana gelen renal hasarın 5 gün ip 500 mg/kg DEX uygulanmasıyla histopatolojik olarak iyileştiğini ve PGC-1 α ve SIRT- 3 gen ekspresyonu yoluyla iyileştiği gösterildi.

Çalışmamızda rabdomiyoliz sonucu oluşan akut böbrek yetmezliğini değerlendirmek için biyokimyasal olarak Üre, CK, LDH, Kreatinin ve Sistatin C parametrelerini kullandık. RM grubundaki biyokimyasal parametrelerde Kontrol grubuna göre artış olması renal hasar oluşumunu destekledi. Çalışılan biyokimyasal değerler RM+DEX grubunda RM grubuna kıyasla düşüktü. RM grubundaki ratların böbrek dokusunda TOS, OSI, MDA parametrelerinin yüksek olması oksidatif stres oluşumunu destekledi. RM+DEX grubu TAS, Katalaz değerlerinin RM grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması ilaç uygulama süresinin değiştirilerek ve farklı antioksidan parametrelerin çalışılması ile araştırılabilir.

Literatür incelendiğinde gliserolle oluşturulan rabdomiyolizin sebep olduğu ABY’de renal hasarı azaltmak için birçok antioksidan kullanılmıştır. Aynı zamanda literatürde DEX’in farklı dokular üzerinde antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkinliği üzerine birçok çalışma mevcuttur. Yakın zamanda gliserolle oluşturulmuş rabdomiyolizin indüklediği renal hasarda DEX’in koruyucu etkisi üzerine çalışmaya rastlansa da, DEX’in koruyucu etki mekanizmasının PGC-1 α ve SIRT- 3 gen ekspresyonu yoluyla aydınlatılması açısından bu çalışma ile literatürdeki eksikliğin kapatılmasını amaçladık. Çalışmanın devamı olarak antioksidan parametrelerin ölçümü için SOD, nitrik oksit, GPx, glutatyon redüktaz analizleri yapılabilir, antiinflamatuvar ve antiapoptotik parametreler ile çalışma detaylandırılabilir.

Çalışmamızda DEX’in hasarlı böbrek dokusundaki etki mekanizmasının anlaşılabilmesi için mitokondriyal biyogeneze sorumlu olan PGC-1 α ve SIRT- 3 genlerini kullandık. RM grubunda PGC-1 α ve SIRT- 3 gen ekspresyonunun diğer gruplarla karşılaştırıldığında azalmış olması; mitokondriyal biyogenezin akut böbrek yetmezliğinde azalmış olduğunu gösterdi (Şekil 4.1). SIRT- 3’ün; RM+DEX

grubunda RM grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olması ve SIRT- 3 ekspresyonunun artmış olması DEX'in koruyucu etki mekanizmasının aydınlatılması açısından literatüre katkı sağlamaktadır. RM+DEX grubundaki PGC-1 α 'nın RM grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık olmaması fakat bu genin ekspresyonunun artmış olarak sonuç vermesi farklı yolların çalışılması gerektiğini düşündürmüştür. Dekspantenolün ABY'de renoprotektif etkilerinin ayrıntılı moleküler incelemesi için DEX'in farklı kullanım dozu ve süresi ile ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda histopatolojik olarak böbrek dokusundaki yapısal değişiklikleri inceledik. RM grubu böbrek dokusunda inflamasyon, fibrozis, atrofi, tübüler hasar ve nekrotik alanların eşlik ettiği ciddi derecede histopatolojik değişiklikler vardı. RM+DEX grubundaki yapısal değişikliklerin RM grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olması (Tablo 4.12). DEX'in renal hasarda koruyucu etkisini gösterdi. Böbrek dokusu üzerinde TNF- α , kaspaz-3 gibi parametrelerin immünohistokimyal değerlendirmesi ile histopatolojik iyileşme mekanizması detaylandırılabilir.

Son olarak, rabdomiyolizle oluşan renal hasarın azaltılmasına yönelik yapılan bu araştırmada renal hasarı oluşturmak için kullanılan gliserol ve koruyucu etkinliği araştırılan DEX'in dokular üzerinde uygulanarak diğer dokular üzerindeki etkinliği incelenebilir. Özellikle mitokondriyal biyogenezin temel düzenleyici genleri olan PGC-1 α ve SIRT-3 ekspresyon mekanizmasının aydınlatılmasının hem ABY de etkin olabilecek tedavi modalitelerinin geliştirilmesi hem de DEX'in etki mekanizmasının açığa kavuşmasında önemli bir adım olabileceğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Ratlarda Gliserol ile Oluşturulan Rabdomiyolizin Sebebi Olduğu Akut Böbrek Yetmezliğinde Dekspantenolün Koruyucu Etkinliği

Amaç: Rabdomiyoliz sonucu meydana gelen miyoglobürik akut böbrek yetmezliği hayatı tehdit eden klinik bir durumdur. Günümüzde ABY için bir çok tedavi modaliteleri kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemlerinin etkinliği yetersizdir. Koruyucu etkinliği olan tedavilere ihtiyaç vardır. Dekspantenol, antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik bir ajandır. Birçok doku üzerinde koruyucu etkinliği gösterilmiştir. Çalışmamızda dekspantenolün gliserol ile oluşturulmuş rabdomiyolizin neden olduğu ABY’de koruyucu etkinliği ve genetik etki mekanizmasını araştırmayı amaçladık.

Metod: Çalışmada; 250-300 gram ağırlığında, 4 grupta 8'er adet olmak üzere 32 adet Wistar Albino dişi rat kullanıldı. Çalışma sürecinde 4 rat exitus oldu. Kontrol grubuna (n:8) 5 gün salin ip uygulandı. Rabdomiyoliz grubuna (n:6) 8 ml/kg dozunda %50 gliserol çözeltisi im uygulandı. Dekspantenol + rabdomiyoliz grubuna (n:6) 8 ml/kg dozunda %50 gliserol çözeltisi im uygulandı, 1 saat sonra 500 mg/kg dekspantenol ip 5 gün boyunca uygulandı. Dekspantenol grubuna (n:8) 500 mg/kg dozunda 5 gün ip uygulandı. 6. günde sakrifiye edilen ratlar böbrek fonksiyon testleri; BUN, Kreatinin, Üre, CK, LDH, Sistatin C, TAS, TOS, MDA, CAT çalışıldı. Ayrıca böbrek dokusuna histopatolojik değerlendirmede yapıldı. Böbrek dokusunda PGC-1 α ve SIRT- 3 gen ekspresyonları değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma sonunda, RM ve RM+DEX gruplarında rabdomiyoliz ve nefropati oluştuğunu gözlemledik. Histopatolojik incelemede RM+DEX grubu RM grubu ile karşılaştırıldığında histopatolojik iyileşme oldu. RM+DEX grubunda PGC-1 α ve SIRT- 3 genlerinin ekspresyonu dekspantenol uygulaması ile arttı.

Sonuç: Gliserol ile oluşturulmuş rabdomiyolizin neden olduğu akut böbrek yetmezliğinde dekspantenol uygulamasının histopatolojik olarak koruyucu olduğunu ve genetik olarak PGC-1 α ve SIRT- 3 gen ekspresyonlarının arttığını gösterdik.

Anahtar kelimeler: Dekspantenol, Rabdomiyoliz, Akut Böbrek Yetmezliği, PGC-1 α , SIRT- 3

ABSTRACT

The Protective Effectiveness of Dexpanthenol in Acute Kidney Injury Caused by Glycerol-Induced Rhabdomyolysis in Rats

Objective: Myoglobinuric acute kidney injury (AKI) resulting from rhabdomyolysis is a life-threatening clinical condition. Currently, many treatment modalities are used for AKI, but their effectiveness is insufficient. There is a need for treatments with protective efficacy. Dexpanthenol is known as an antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic agent, demonstrating protective effects on various tissues. In our study, we aimed to investigate the protective efficacy of dexpanthenol in acute kidney injury induced by glycerol-caused by rhabdomyolysis and its underlying genetic mechanism of action.

Methods: In the study 32 female Wistar Albino rats weighing between 250-300 grams were divided into 4 equal groups. Four rats died during the study period. Intraperitoneal saline was administered to the control group (n:8) for 5 days. Glycerol solution 50% (8 ml/kg, im) was administered to the RM group (n:6). Glycerol solution 50% (8 ml/kg, im) was applied to the RM+DEX group (n:6) and 1 hour later, DEX (500 mg/kg, ip) was applied for 5 days. DEX (500 mg/kg, ip.) was applied to the DEX group (n:8) for 5 days. The rats were sacrificed on the 6th day, and kidney function tests including BUN, Creatinine, Urea, CK, LDH, Cystatin C, TAS, TOS, MDA, CAT were examined from the blood samples taken. In addition, histopathological evaluation of kidney tissue and gene analyzes including PGC-1 α and SIRT-3 gene expressions were evaluated.

Results: In this study, we observed that rhabdomyolysis and nephropathy occurred in the RM and RM+DEX groups. Histopathological improvement and increased expression of PGC-1 α and SIRT-3 genes were observed in the RM+DEX group compared to the other groups.

Conclusion: We demonstrated that Dexpanthenol treatment is histopathologically protective in acute kidney injury caused by glycerol-induced rhabdomyolysis and that the expression of PGC-1 α and SIRT-3 genes increased genetically.

Keywords: Acute Kidney Injury, Dexpanthenol, Rhabdomyolysis, PGC-1 α , SIRT-3

KAYNAKÇA

1. Kondabolu SK, Kakarlapudi Y, Malik H, Malik H, Khan S, Kumar Komminni P, et al- Beneficial Impacts of Fenoldopam on Patients With or at Risk for Acute Renal Failure and Undergoing Surgery: A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Cureus J Med Science*. 2023; 15(2): 34584-34586 doi: 10.7759/cureus.34584.
2. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, et al- Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int*. 2004; 66(3): 1115-11122.
3. Wen Y, Parikh CR. Current concepts and advances in biomarkers of acute kidney injury. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2021; 58(5): 354-368.
4. Wang Q, Qi G, Zhou H, Cheng F, Yang X, Liu X, et al- Protective effect of thymol on glycerol-induced acute kidney injury. *Renal Failure*. 2023; 45(1): 5-10. Doi: 10.1080/0886022X.2023.2227728
5. Wang H, Kang X, Shi Y, Bai Z-h, Lv J-h, Sun J-l, et al- SOFA score is superior to APACHE-II score in predicting the prognosis of critically ill patients with acute kidney injury undergoing continuous renal replacement therapy. *Renal Failure*. 2020;42(1): 638-645.
6. Kellum JA, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders H-J. Acute kidney injury. *Nature reviews Disease primers*. 2021; 7(1): 1-17.
7. Cabral BMI, Edding SN, Portocarrero JP, Lerma EV. Rhabdomyolysis. *Dis Mon*. 2020; 66(8): 4-21.
8. Młynarska E, Krzemińska J, Wronka M, Franczyk B, Rysz J. Rhabdomyolysis-induced AKI (RIAKI) including the role of COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(15): 8215-8217. doi: 10.3390/ijms23158215
9. Gupta A, Thorson P, Penmatsa KR, Gupta P. Rhabdomyolysis: revisited. *The Ulster Medical Journal*. 2021; 90(2): 61-63.
10. Semenovitch DS, Plotnikov EY, Lukiyyenko EP, Astrowski AA, Kanunnikova NP. Protective Effect of D-Panthenol in Rhabdomyolysis-Induced Acute Kidney Injury. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(20): 10-12. doi: 10.3390/ijms232012273
11. Okur L. Deneysel miyoglobinin akut böbrek hasarında nekroptozisin rolü. *Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Doç. Dr. Oktay Kaya*, 2022; 6-9.
12. Izuwa Y, Kusaba J-i, Horiuchi M, Aiba T, Kawasaki H, Kurosaki Y. Comparative study of increased plasma quinidine concentration in rats with glycerol-and cisplatin-induced acute renal failure. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 2009; 24(5): 451-457
13. Di Meo S, Venditti P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxid Med Cell Longev*. 2020; (2020): 17-19.
14. Su L-J, Zhang J-H, Gomez H, Murugan R, Hong X, Xu D, et al- Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019; (2019): 4-8. doi: 10.1155/2019/5080843
15. Zorova LD, Pevzner IB, Chupyrkina AA, Zorov SD, Silachev DN, Plotnikov EY, et al- The role of myoglobin degradation in nephrotoxicity after rhabdomyolysis. *Chem Biol Interact*. 2016; 256: 64-70.
16. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *J Clin Exp Invest*. 2015; 6(3): 331-336.
17. Rasbach KA, Schnellmann RG. Signaling of mitochondrial biogenesis following oxidant injury. *J Biol Chem*. 2007; 282(4): 2355-2362.

18. Rahman M, Nirala NK, Singh A, Zhu LJ, Taguchi K, Bamba T, et al- Drosophila Sirt2/mammalian SIRT3 deacetylates ATP synthase beta and regulates complex V activity. *J Cell Biol.* 2014; 206(2): 289-305.
19. Yang Y, Wang W, Xiong Z, Kong J, Qiu Y, Shen F, et al- Activation of SIRT3 attenuates triptolide-induced toxicity through closing mitochondrial permeability transition pore in cardiomyocytes. *Toxicol In Vitro.* 2016; 34: 128- 137.
20. Clark AJ, Parikh SM. Targeting energy pathways in kidney disease: the roles of sirtuins, AMPK, and PGC1alpha. *Kidney Int.* 2021; 99(4): 828-840.
21. Erdogan MA, Yigitturk G, Erbas O, Taskiran D. Neuroprotective effects of dexpanthenol on streptozotocin-induced neuronal damage in rats. *Drug and Chemical Toxicology.* 2022; 45(5): 2160-2168.
22. Cagin YF, Atayan Y, Sahin N, Parlakpınar H, Polat A, Vardi N, et al- Beneficial effects of dexpanthenol on mesenteric ischemia and reperfusion injury in experimental rat model. *Free Radic Res.* 2016; 50(3): 354-365.
23. Karadag A, Ozdemir R, Kurt A, Parlakpınar H, Polat A, Vardi N, et al- Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis. *Journal of pediatric surgery.* 2015; 50(7): 1119-1124.
24. Martin-Lorenzo M, Gonzalez-Calero L, Ramos-Barron A, Sanchez-Niño MD, Gomez-Alamillo C, García-Segura JM, et al- Urine metabolomics insight into acute kidney injury point to oxidative stress disruptions in energy generation and H₂S availability. *Journal of Molecular Medicine.* 2017; 95: 1399-1409.
25. Üremiş MM, Gürel E, Aslan M, Taşlıdere E. Dexpanthenol protects against nicotine-induced kidney injury by reducing oxidative stress and apoptosis through activation of the AKT/Nrf2/HO-1 pathway. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology.* 2023: 1-10.
26. Hoste E, Bihorac A, Al-Khafaji A, Ortega LM, Ostermann M, Haase M, et al- Identification and validation of biomarkers of persistent acute kidney injury: the RUBY study. *Intensive Care Med.* 2020; 46(5): 943-953.
27. Armutcu F. Organ crosstalk: the potent roles of inflammation and fibrotic changes in the course of organ interactions. *Inflamm Res.* 2019; 68(10): 825-839.
28. Investigators S-A, Canadian Critical Care Trials G, Australian, New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials G, United Kingdom Critical Care Research G, Canadian Nephrology Trials N, et al- Timing of Initiation of Renal-Replacement Therapy in Acute Kidney Injury. *N Engl J Med.* 2020; 383(3): 240- 251.
29. Pickkers P, Darmon M, Hoste E, Joannidis M, Legrand M, Ostermann M, et al- Acute kidney injury in the critically ill: an updated review on pathophysiology and management. *Intensive Care Med.* 2021; 47(8): 835-850.
30. Mercado MG, Smith DK, Guard EL. Acute Kidney Injury: Diagnosis and Management. *Am Fam Physician.* 2019; 100(11): 687-694.
31. Özgür O. The Kidney At Risk: Understanding Crush Syndromerelated Acute Kidney Injury. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine.* 2023; 86(3): 245-253.
32. Molitoris BA. Low-Flow Acute Kidney Injury: The Pathophysiology of Prerenal Azotemia, Abdominal Compartment Syndrome, and Obstructive Uropathy. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2022; 17(7): 1039-1049.
33. Rahman M, Shad F, Smith MC. Acute kidney injury: a guide to diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2012; 86(7): 631-639.
34. Hanif M, Bali A, Ramphul K. Acute renal tubular necrosis. *StatPearls.* 2023.
35. Perazella MA, Wilson FP. Acute kidney injury: Preventing acute kidney injury through nephrotoxin management. *Nat Rev Nephrol.* 2016; 12(9): 511-512.

36. George CR. Beginnings of Modern Nephrology: People and Facts. *G Ital Nefrol.* 2018; 35(70): 1724-5990.
37. Hebert JF, Burfeind KG, Malinoski D, Hutchens MP. Molecular Mechanisms of Rhabdomyolysis-Induced Kidney Injury: From Bench to Bedside. *Kidney Int Rep.* 2023; 8(1): 17-29.
38. Ahmad S, Anees M, Elahi I, Fazal EM. Rhabdomyolysis Leading to Acute Kidney Injury. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2021; 31(2): 235-237.
39. Anwar MY, Gupta V. Myoglobinuria. In: StatPearls. Muhammad YA; Vikas G. Treasure Island, Florida: StatPearls Publishing, 2023: p. 5-8.
40. Gaut JP, Liapis H. Acute kidney injury pathology and pathophysiology: a retrospective review. *Clin Kidney J.* 2021; 14(2): 526-536.
41. Pinar N, Ozcan O, Dogan E, Cakirca G. Protective effect of dexpanthenol on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Annals of Medical Research* 2019; 26(9): 1787-1791
42. Singh AP, Junemann A, Muthuraman A, Jaggi AS, Singh N, Grover K, et al- Animal models of acute renal failure. *Pharmacol Rep.* 2012; 64(1): 31-44.
43. Mahmoud RH. Mega doses of resveratrol enhance oxidative and nitrosative stress and accelerate inflammations in glycerol-rat model. *J Am Sci.* 2011; 7(9): 430-437.
44. Song SJ, Kim SM, Lee SH, Moon JY, Hwang HS, Kim JS, et al- Rhabdomyolysis-Induced AKI Was Ameliorated in NLRP3 KO Mice via Alleviation of Mitochondrial Lipid Peroxidation in Renal Tubular Cells. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(22): 8564-8570.
45. Andrianova NV, Zorov DB, Plotnikov EY. Targeting Inflammation and Oxidative Stress as a Therapy for Ischemic Kidney Injury. *Biochemistry (Mosc).* 2020; 85(12): 1591-1602.
46. Ersoy A. AKUT BÖBREK HASARI. *Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.* 700.
47. Kane-Gill SL, Meersch M, Bell M. Biomarker-guided management of acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care.* 2020; 26(6): 556-562.
48. Ebert N, Shlipak MG. Cystatin C is ready for clinical use. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2020; 29(6): 591-598.
49. Gomes H, Cabral ACV, Andrade SP, Leite HV, Teixeira PG, Campos PP, et al- Cystatin C as an indicator of renal damage in pre-eclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2020; 39(3): 308-313.
50. Khusainova MA. Cystatin C Is An Early Marker Of Decreased Kidney Function. *Oriental renaissance: Innovative, educational, natural and social sciences.* 2023; 3(1): 485-490.
51. Karger AB, Long T, Inker LA, Eckfeldt JH, College of American Pathologists Accuracy Based C, Chemistry Resource C. Improved Performance in Measurement of Serum Cystatin C by Laboratories Participating in the College of American Pathologists 2019 CYS Survey. *Arch Pathol Lab Med.* 2022; 146(10): 1218-1223.
52. Teaforde HR, Barreto JN, Vollmer KJ, Rule AD, Barreto EF. Cystatin C: A Primer for Pharmacists. *Pharmacy (Basel).* 2020; 8(1): 35-40.
53. Benoit SW, Ciccio EA, Devarajan P. Cystatin C as a biomarker of chronic kidney disease: latest developments. *Expert Review of Molecular Diagnostics.* 2020; 20(10): 1019-1026.
54. Karabacak P, Solmaz FA, Gultekin F, Oncu M, Yuksel O, Ozgoçmen M, et al- The effectiveness of kefir in acute renal failure due to glycerol-induced rhabdomyolysis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 2016; 9(9): 17919-17925.
55. Torun Bayram M, Yildiz G. Böbrek Hastalıklarının Tanısında Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics.* 2021; 30(1): 69-79 .
56. Natarajan S, DeRosa MC, Shah MI, Jayaraj J. Development and Evaluation of a Quantitative Fluorescent Lateral Flow Immunoassay for Cystatin-C, a Renal Dysfunction Biomarker. *Sensors (Basel).* 2021; 21(9): 3178-3185.

57. Mi L, Wang P, Yan J, Qian J, Lu J, Yu J, et al- A novel photoelectrochemical immunosensor by integration of nanobody and TiO(2) nanotubes for sensitive detection of serum cystatin C. *Anal Chim Acta*. 2016; 902: 107-114.
58. Tao J, Zhao P, Zeng Q. The determination of cystatin C in serum based on label-free and near-infrared light emitted PbS@BSA QDs. *J Mater Chem B*. 2016; 4(24): 4258-4262.
59. Lopes P, Costa-Rama E, Beirao I, Nouws HPA, Santos-Silva A, Delerue-Matos C. Disposable electrochemical immunosensor for analysis of cystatin C, a CKD biomarker. *Talanta*. 2019; 201: 211-216.
60. Couto RA, Lima JL, Quinaz MB. Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. *Talanta*. 2016; 146: 801-814.
61. Savaş Şen Z, Çakar N. Akut Böbrek Hasarı: Sınıflandırılması ve Prognoz. *Journal of Pediatric Disease/Cocuk Hastalıkları Dergisi*. 2018;12(3): 180-185.
62. Bellomo R. Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure-definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit care*. 2004; 8: 204-212.
63. Karagöz P, Kefi A, Dündar PE, Canan S, Çivi M. Yoğun Bakım Hastalarında RIFLE Sınıflaması ile Akut Böbrek Hasarı İnsidansı ve Risk Faktörleri. *Türk Yoğun Bakım Dergisi*. 2015; 13(1): 16-25
64. Yaqub S, Hashmi S, Kazmi MK, Aziz Ali A, Dawood T, Sharif H. A Comparison of AKIN, KDIGO, and RIFLE Definitions to Diagnose Acute Kidney Injury and Predict the Outcomes after Cardiac Surgery in a South Asian Cohort. *Cardiorenal Med*. 2022; 12(1): 29-38.
65. Bayrakçı N, Ersan S, Çelik A, Çavdar C, Çamsarı T, Bodur Ha, et al- The Role of RIFLE, AKIN and KDIGO Criteria in Determining the Relationship Between Acute Kidney Injury and Mortality in Intensive Care Patients. *Namik Kemal Tıp Dergisi*. 2022;10(1): 37-42.
66. Khwaja A. KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron Clin Pract*. 2012; 120(4): 179-184.
67. Aydın Ö. Anesteziyoloji yoğun bakım ünitesindeki hastalarda akut böbrek hasarının tanısında rifle ve kdigo kriterlerinin klinik değerinin karşılaştırılması. Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Anesteziyoloji Ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Konya, Prof. Dr. Alper YOSUNKAYA 2017; 7-23.
68. Yildirim E, Kaymaz B, Dörtler H, Üstündağ SE, Akdeniz A, Erbaş O. Crush sendromu. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi*. 2019; 4(4): 213-8.
69. Long B, Liang SY, Gottlieb M. Crush injury and syndrome: A review for emergency clinicians. *Am J Emerg Med*. 2023; 69: 180-187.
70. Kurultak İ. Deprem yaralanmalı erişkin hastada ezilme (crush) sendromu. *TOTBİD Dergisi* 2022; 21: 294-303
71. Gibney RT, Sever MS, Vanholder RC. Disaster nephrology: crush injury and beyond. *Kidney Int*. 2014; 85(5): 1049-1057.
72. Sever MS, Vanholder R. Management of crush victims in mass disasters: highlights from recently published recommendations. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013; 8(2): 328-335.
73. Buyurgan CS, Babus SB, Yarkaç A, Köse A, Usluer HO, Ayrik C, et al- Demographic and Clinical Characteristics of Earthquake Victims Presented to the Emergency Department with and without Crush Injury upon the 2023 Kahramanmaraş (Turkey) Earthquake. *Prehospital and Disaster Medicine*. 2023; 38 (6): 707-715. doi: 10.1017/S1049023X23006416
74. Hussain E, Kalaycioglu S, Milliner CWD, Cakir Z. Preconditioning the 2023 Kahramanmaraş (Turkiye) earthquake disaster. *Nat Rev Earth Environ*. 2023; 4(5): 287-289.

75. Demiralp T. Sıçanlarda karbon tetraklorürün (CCl₄) böbrekte oluşturduğu hasara karşı dekspanthenolün (provitamin B5) koruyucu etkisinin biyokimyasal açıdan araştırılması: İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Malatya, Prof. Dr. Elif Gürel 2021; 10-15.
76. İşeri Mc. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres Ve Egzersiz. İçinde: Spor Ve Egzersiz Metabolizmasına Güncel Bakış. Pancar Z. 1. Baskı, İstanbul: Efe Akademi Yayıncılık, 2023: 109-125.
77. Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2015; 6(3): 331-336.
78. Bailey DM. Oxygen, evolution and redox signalling in the human brain; quantum in the quotidian. J Physiol. 2019; 597(1): 15-28.
79. Özkan M. Parkinson hastalarında MDA, TOS, TAS, İMA belirteçlerinin tespiti ve oksidatif stres durumu: Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Prof. Dr. Ali Akbaş; 2023; 23-24.
80. Herb M, Schramm M. Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. Antioxidants (Basel). 2021; 10(2): 313-318.
81. Zhang S, He YD, Sen B, Wang GY. Reactive oxygen species and their applications toward enhanced lipid accumulation in oleaginous microorganisms. Bioresource Technology. 2020; 307: 2-4.
82. Koppenol WH. A resurrection of the Haber-Weiss reaction. Nat Commun. 2022; 13(1): 396-340.
83. Morales M, Munne-Bosch S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. Plant Physiol. 2019; 180(3): 1246-1250.
84. Tok M. Malondialdehit Tayinine Yönelik Biyosensör Tasarlanması ve Mevcut Analiz Yöntemleri ile Karşılaştırılması: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, Doç.Dr. Esmâ Menevşe, 2017; 4-30.
85. Yuan L, Lan Y, Han M, Bao J, Tu W, Dai Z. Label-free and facile electrochemical biosensing using carbon nanotubes for malondialdehyde detection. Analyst. 2013; 138(11): 3131-3134.
86. Khoubnasabjafari M, Ansarin K, Jouyban A. Critical Review of Malondialdehyde Analysis in Biological Samples. Current Pharmaceutical Analysis. 2016; 12(1): 4-17.
87. Demir Dç, Yörük İ. Thymus kotschyanus' ta Glutasyon ve Glutasyon S-transferaz Enzim Aktiviteleri ile Malondialdehit Düzeyi'nin Belirlenmesi. Bingöl Üniversitesi Sağlık Dergisi. 2022;3(2): 157-164.
88. Aslankoç R, Demirci D, Ümmahan İ, Yıldız M, Öztürk A, Çetin M, et al- Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü-Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPX). SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi. 2019; 26(3): 362-369.
89. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine. 2018; 54(4): 287-293.
90. Pisoschi AM, Pop A, Iordache F, Stanca L, Predoi G, Serban AI. Oxidative stress mitigation by antioxidants - An overview on their chemistry and influences on health status. European Journal of Medicinal Chemistry. 2021; 209: 4-11.
91. Apak R. Current Issues in Antioxidant Measurement. J Agric Food Chem. 2019; 67(33): 9187-9202.
92. Ozden ES, Asci H, Buyukbayram HI, Sevik MA, Imeci OB, Dogan HK, et al- 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; 76(5):501-509.

93. Olowe R, Sandouka S, Saadi A, Shekh-Ahmad T. Approaches for Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress Quantification in Epilepsy. *Antioxidants* (Basel). 2020; 9(10): 990-998.
94. Coppari R, Ramadori G, Elmquist JK. The role of transcriptional regulators in central control of appetite and body weight. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009; 5(3): 160-166.
95. Finck BN, Kelly DP. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease. *Circulation*. 2007;115(19): 2540-2548.
96. Klein MA, Denu JM. Biological and catalytic functions of sirtuin 6 as targets for small-molecule modulators. *Journal of Biological Chemistry*. 2020; 295(32): 11021-11041.
97. Li PA, Hou X, Hao S. Mitochondrial biogenesis in neurodegeneration. *J Neurosci Res*. 2017; 95(10): 2025-2029.
98. Fontecha-Barriuso M, Martin-Sanchez D, Martinez-Moreno JM, Monsalve M, Ramos AM, Sanchez-Nino MD, et al- The Role of PGC-1alpha and Mitochondrial Biogenesis in Kidney Diseases. *Biomolecules*. 2020; 10(2): 347-355.
99. Fontecha-Barriuso M, Martin-Sanchez D, Martinez-Moreno JM, Carrasco S, Ruiz-Andres O, Monsalve M, et al- PGC-1alpha deficiency causes spontaneous kidney inflammation and increases the severity of nephrotoxic AKI. *J Pathol*. 2019; 249(1): 65-78.
100. Montava-Garriga L, Ganley IG. Outstanding questions in mitophagy: what we do and do not know. *Journal of molecular biology*. 2020; 432(1): 206-230.
101. Zhan M, Usman IM, Sun L, Kanwar YS. Disruption of renal tubular mitochondrial quality control by Myo-inositol oxygenase in diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2015; 26(6): 1304-1321.
102. Tran M, Tam D, Bardia A, Bhasin M, Rowe GC, Kher A, et al- PGC-1alpha promotes recovery after acute kidney injury during systemic inflammation in mice. *J Clin Invest*. 2011; 121(10): 4003-4014.
103. Li S-Y, Susztak K, editors. The role of peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α (PGC-1 α) in kidney disease. *Seminars in nephrology*, Elsevier. 2018; 38(2): 121-126.
104. Tang X, Chen XF, Chen HZ, Liu DP. Mitochondrial Sirtuins in cardiometabolic diseases. *Clin Sci (Lond)*. 2017; 131(16): 2063-2078.
105. Ulu İ. Akciğer kanseri patogenezinde Sirtuinin rolü. Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans, Zonguldak, Doc. Dr. Sevim Karakaş Çelik, 2019; 8-30.
106. Miller Jr FJ. Hypertension and mitochondrial oxidative stress revisited: sirtuin 3, the improved “antioxidant”. *Am Heart Assoc*. 2020. p. 453-455.
107. Yıldırım S, Demirel R, Meryem İ, ÖZDEN Ö. Sirtuin1-3 Deasetilazlar: Biyolojik Fonksiyonları ve Kanserde Terapötik Potansiyelleri. *Journal of the Institute of Science and Technology*. 2022; 12(2): 1055-1069.
108. Tyagi A, Nguyen CU, Chong T, Michel CR, Fritz KS, Reisdorph N, et al- SIRT3 deficiency-induced mitochondrial dysfunction and inflammasome formation in the brain. *Sci Rep*. 2018; 8(1): 17547-17550.
109. Zhang J, Xiang H, Liu J, Chen Y, He RR, Liu B. Mitochondrial Sirtuin 3: New emerging biological function and therapeutic target. *Theranostics*. 2020; 10(18): 8315-8342.
110. Sheng J, Li X, Lei J, Gan W, Song J. Mitochondrial quality control in acute kidney disease. *J Nephrol*. 2023; 36(5): 1283-1291.
111. Zhan M, Brooks C, Liu F, Sun L, Dong Z. Mitochondrial dynamics: regulatory mechanisms and emerging role in renal pathophysiology. *Kidney Int*. 2013; 83(4): 568-581.
112. Morigi M, Perico L, Rota C, Longaretti L, Conti S, Rottoli D, et al- Sirtuin 3-dependent mitochondrial dynamic improvements protect against acute kidney injury. *J Clin Invest*. 2015; 125(2): 715-726.

113. Ortega-Dominguez B, Aparicio-Trejo OE, Garcia-Arroyo FE, Leon-Contreras JC, Tapia E, Molina-Jijon E, et al- Curcumin prevents cisplatin-induced renal alterations in mitochondrial bioenergetics and dynamic. *Food Chem Toxicol.* 2017; 107(1): 373-385.
114. El-Seddawy F, Abdel-Maboud M, Barakat N, Hassaan M. Dexpantenol: New Insights on Wound Healing, a Review. *Journal of Advanced Veterinary Research.* 2023; 13(7): 1474-1478.
115. Pizzimenti N, Ervin JD. Vitamin B5-Aides in Energy Production. *Reven,* 2020: 1-5.
116. Genç S, Gürdöl F. Vitaminler. *Tıbbi Biyokimya*, 5 th Ed, Nobel Tıp Kitapevi. 2019: 499-504.
117. Huisjes R, Card DJ. Methods for assessment of pantothenic acid (Vitamin B5). In: *Laboratory assessment of vitamin status: Elsevier*, 2019, p. 173-179.
118. Altintas R, Parlakpınar H, Beytur A, Vardi N, Polat A, Sagir M, et al- Protective effect of dexpantenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Kidney Blood Press Res.* 2012; 36(1): 220-230.
119. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical use of dexpantenol in skin disorders. *American journal of clinical dermatology.* 2002; 38(6): 427-433.
120. Dogan EE, Erkoç R, Ekinci I, Hamdard J, Doner B, Cıkrıkcıoğlu MA, et al- Protective effect of dexpantenol against nephrotoxic effect of amikacin: An experimental study. *Biomed Pharmacother.* 2017;89:1409-14.
121. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett.* 2004; 569(1-3): 169-172.
122. Erdogan MA, Yigittürk G, Erbas O, Taskiran D. Neuroprotective effects of dexpantenol on streptozotocin-induced neuronal damage in rats. *Drug Chem Toxicol.* 2022; 45(5): 2160-2168.
123. Pinar N, Topaloglu M, Secinti IE, Buyuk E, Kaplan M. Protective effect of dexpantenol on cisplatin induced nephrotoxicity in rats. *Biotech Histochem.* 2022; 97(1): 39-43.
124. Demirci B, Yılmaz M, Uysal HB. Protective effect of dexpantenol (vitamin B5) in a rat model of LPS-induced endotoxic shock. *Turkish Journal of Biochemistry-Türk Biyokimya Dergisi.* 2018; 43(6): 632-637.
125. Yılmaz N, Tepe M, Uludağ Ö. Examination of the effect of bupivacaine on brain tissue in rats with induced experimental renal failure. *Journal of Surgery & Medicine (JOSAM).* 2023; 7(9): 598-601.
126. Aebi H. Catalase in vitro. In: *Methods in enzymology.* 105: Elsevier, 1984: 121-126.
127. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry.* 2005; 38(12): 1103-1111.
128. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry.* 2004; 37(4): 277-285.
129. Gürlü M, Selcuk EB, Özerol BG, Tanbek K, Taşlıdere E, Yıldız A, et al- Protective effect of dexpantenol against methotrexate-induced liver oxidative toxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology.* 2023; 46(4): 708-716.130.
130. Tomsa AM, Alexa AL, Junie ML, Rachisan AL, Ciumarnean L. Oxidative stress as a potential target in acute kidney injury. *Peerj.* 2019; 7: 8046-8047.
131. Plotnikov EY, Pevzner IB, Zorova LD, Chernikov VP, Prusov AN, Kireev II, et al- Mitochondrial damage and mitochondria-targeted antioxidant protection in LPS-induced acute kidney injury. *Antioxidants.* 2019; 8(6): 176-177.
132. Yıldız A, Demiralp T, Vardi N, Otlı G, Taşlıdere E, Cırik H, et al- Protective effects of dexpantenol in carbon tetrachloride-induced myocardial toxicity in rats. *Tissue and Cell.* 2022; 77: 1018-1024.

133. Ozcan MS, Savran M, Kumbul Doguc D, Kubra Dogan H, Altintas M, Cosan S. Dexpanthenol ameliorates lipopolysaccharide-induced cardiovascular toxicity by regulating the IL-6/HIF1 α /VEGF pathway. *Heliyon*. 2024;10(1):e24007.
134. Zhao X, Zhang S, Shao H. Dexpanthenol attenuates inflammatory damage and apoptosis in kidney and liver tissues of septic mice. *Bioengineered*. 2022; 13(5): 11625-11635.
135. Aslan M, Gürel E, Üremiş N, Üremiş MM, Taşlıdere E. Anti-inflammatory and antioxidative effects of dexpanthenol on nicotine-induced lung injury in rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*. 2023; 15(3): 303-313.
136. Ermis H, Parlakpınar H, Gulbas G, Vardi N, Polat A, Cetin A, et al- Protective effect of dexpanthenol on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2013; 386: 1103-1110.
137. Tutun B, Elbe H, Vardi N, Parlakpınar H, Polat A, Gunaltılı M, et al- Dexpanthenol reduces diabetic nephropathy and renal oxidative stress in rats. *Biotechnic & Histochemistry*. 2019; 94(2): 84-91.
138. Kose A, Parlakpınar H, Ozhan O, Ermis N, Yildiz A, Vardi N, et al- Therapeutic effects of dexpanthenol on the cardiovascular and respiratory systems following cecal ligation and puncture-induced sepsis in rats. *Biotechnic & Histochemistry*. 2020; 95(6): 428-437.
139. Abu Shelbayeh O, Arroum T, Morris S, Busch KB. PGC-1 α Is a Master Regulator of Mitochondrial Lifecycle and ROS Stress Response. *Antioxidants*. 2023; 12(5): 1075.
140. Hosseini L, Vafae MS, Mahmoudi J, Badalzadeh R. Nicotinamide adenine dinucleotide emerges as a therapeutic target in aging and ischemic conditions. *Biogerontology*. 2019; 20: 381-395.
141. Zhou M, Dai Y, Ma Y, Yan Y, Hua M, Gao Q, et al- Protective effects of liquiritigenin against cisplatin-induced nephrotoxicity via nrf2/sirt3-mediated improvement of mitochondrial function. *Molecules*. 2022; 27(12): 3823-3824.
142. Martin-Sanchez D, Ruiz-Andres O, Poveda J, Carrasco S, Cannata-Ortiz P, Sanchez-Niño MD, et al- Ferroptosis, but not necroptosis, is important in nephrotoxic folic acid-induced AKI. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017; 28(1): 218-229.
143. Arslan E, Türk H, Çağlayan M, Gönel A, Tayman C, Türkmenoğlu TT. The Effect of Dexpanthenol Treatment on Renal Parenchymal Injury in Rats with Induced Renovascular Occlusion Dekspantenol Tedavisinin Renovasküler Oklüzyon Oluşturulan Ratlarda Renal Parankim Hasarına Etkisi. *Journal of Molecular Virology and Immunology* 2023; 4(1): 39-47.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
KARAR

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
03.03.2023	02	131

SDÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 03.03.2023 tarihinde saat-10:00'da toplanarak aşağıdaki kararlar alınmıştır;

Karar: 131

Proje Yürütücüsü: Doç. Dr. Filiz Alkaya SOLMAZ (Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı) Yürütücülüğünde,
Yardımcı Araştırmacılar: Doç. Dr. Kanat GÖLLE, Dr. Öğr. Üyesi İltiz İHAN, Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Yusuf TEPEBAŞI ve Araştırma Görevlisi Fadimana KOYUNCU'nun yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı "RATLARDA GLİSEROL İLE OLUSTURULAN RABDOMYOLİZİN SEBEP OLDUĞU AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİNDE DEKSPANTENOLÜN KORUYUCU ETKİNLİĞİ" başlıklı SDÜ bilimsel araştırma projesi etik kurulumuzca oybirliği ile UYGUNLUĞUNA karar verilmiştir.

Proje Doç. Dr. Kanat GÖLLE Başkan	Prof. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR Başkan Yardımcısı	KATILMADI Prof. Dr. Duygu KUMBUL DOĞUÇ ÜYE
Dr. Öğr. Üyesi Müge ÇİNA ÜYE	Doç. Dr. Ömer ÇELİK ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Soner ÖZCAN ÜYE
KATILMADI Dr. Öğr. Üyesi Yusuf Çağdaş KUMBUL ÜYE	Proje Dr. Öğr. Üyesi Muhammet Yusuf TEPEBAŞI ÜYE	Dr. Öğr. Üyesi Mesut ERGAN ÜYE
KATILMADI Öğ. Gör. İbrahim ONARAN (HÜDAL Sorumlu Veteriner Hekimi) ÜYE	Vet. Hekim Ayşegül AVŞAR SIVİL ÜYE	KATILMADI Nursan BECEREN SIVİL ÜYE