

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**KRONİK HEMODİYALİZ HASTALARINDA SERUM
MYOSTATİN DÜZEYİ VE KAS KİTLESİ ARASINDAKİ
İLİŞKİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Derya KOYUN

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Gökhan NERGİZOĞLU**

**ANKARA
2015**

KABUL VE ONAY

Düzeltilme tarihi: 04/12/2014
Düzeltilme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr.Derya Koyun	Sınav tarihi: 11 /06 / 2015
Anabilim/Bilim Dalı	: İç Hastalıkları A.B.D.	
Tez Danışmanı	: Prof.Dr.Gökhan NERGİZOĞLU	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Serum Myostatin Düzeyi ve Kas Kütlesi Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☒ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Prof.Dr.Kenan ATEŞ

Jüri Başkanı

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Prof.Dr.Gökhan NERGİZOĞLU

Jüri Üyesi

Tez Danışmanı

Nefroloji Bilim Dalı

Prof.Dr.Bülent ALTUN

Jüri Üyesi

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Nefroloji Bilim Dalı

TEŞEKKÜR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca emeği geçen başta İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kenan Ateş ve tez çalışmamın her aşamasında destek, yardım ve ilgisini gördüğüm değerli katkılarıyla beni yönlendiren kıymetli tez danışmanım Prof. Dr. Gökhan Nergizoğlu olmak üzere tüm öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Asistanlık dönemimde birlikte çalıştığım eğitimim süresince kendilerinden pek çok şey öğrendiğim tüm uzmanlarıma, araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve hemodiyaliz hemşire, personel ve çalışanlarına destekleri için teşekkür ederim.

Sevgili aileme sevgi ve desteklerini esirgemedikleri için teşekkür ederim.

Sevgi ve Saygılarımla,

Dr. Derya KOYUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Epidemiyoloji.....	3
2.2. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Kas Kitlesi	3
2.2.1. Üremik Sarkopeni Etyolojik Nedenleri	5
2.2.1.1. Myogenic progenitör ve satellite hücre hasarı.....	5
2.2.1.2. İnflamasyon.....	5
2.2.1.3. ATP bağımlı ubiquitin-proteasome sistem ve caspase-3.....	6
2.2.1.4. Metabolik asidoz	8
2.2.1.5. Vitamin-D değişikliği	9
2.2.1.6. Anjiyotensin II (AT-II) de değişiklik.....	9
2.2.1.7. İştah değişikliği.....	10
2.2.1.8. Cinsiyet ve seks hormon değişiklikleri.....	10
2.2.1.9. Büyüme hormonu değişiklikleri	10
2.2.1.10. İnsülin değişiklikleri	11
2.2.1.11. Protein-enerji tüketimi	11
2.2.1.12. Fiziksel inaktivite ve egzersiz.....	11
2.2.1.13. Myostatin düzeyi değişikliği.....	11
2.2.1.14. Beslenme	17
2.3. Vücut Kompozisyonu ve Ölçüm Yöntemleri	18

2.3.1. Vücut Kompozisyonunun Tanımı İçin Kullanılan Terimler	19
2.3.1.1. Vücut yoğunluğu	19
2.3.1.2. Vücut hacmi	19
2.3.1.3. Yağsız kütle.....	19
2.3.1.4. Yağ kütlesi.....	20
2.4. Dual Enerjili X Işın Absorbsiyometri (DEXA).....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	21
3.1. İnsan Myostatin Düzeyinin Eliza Yöntemi İle Tayininin Yapılması.....	22
3.2. DEXA Yöntemi İle Kas Kütlesi Ölçümü Yapılması.....	22
3.3. İstatistiksel Analiz	22
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	28
ÖZET	33
ABSTRACT.....	35
KAYNAKLAR.....	37
EKLER	50
EK-1: Etik Kurul Karar Formu	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

sAct RIIB	: Aktivin reseptör II B
ASMI	: Apendikular iskelet kas kitle indeksi
AT-II	: Anjiyotensin II
BIA	: Biyoelektrik İmpedans Analizi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
Ca	: Kalsiyum
CPK	: Kreatinin fosfokinaz
CREDIT	: Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevelansı Araştırması
DEXA	: Dual enerjili X ışın absorpsiyometri
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
Hb	: Hemoglobin
HD	: Hemodiyaliz
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
MR	: Manyetik Rezonans
MYO-029	: Myostatin nötralize antikör
NKF/ DOQI	: National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
P	: Fosfor
PTH	: Parathormon
RRT	: Renal replasman tedavisi
SDBH	: Son dönem böbrek hastalığı
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
SPSS	: Statistical Package for Social Science
TND	: Türk Nefroloji Derneği
UPS	: Ubiquitin-proteasome sistemi
VKI	: Vücut kitle indeksi

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 2.1. Vücut kompozisyonları ve bunları incelemek için geliştirilen yöntemler	18
Tablo 2.2. Vücut bileşenlerinin sınıflandırılması.....	18
Tablo 4.1. Çalışmaya Alınan Hastaların Demografik Özellikleri	24
Tablo 4.2. ASMI ve serum myostatin düzeyi arasındaki ilişki	25
Tablo 4.3. Sarkopeni ve Cinsiyet ile Myostatin Düzeyi Arasındaki İlişki.....	26
Tablo 4.4. Sarkopeni ve Diyabet ile Myostatin Düzeyi Arasındaki İlişki	27
Tablo 4.5. Diğer parametreler ile ASMI arasındaki ilişki	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1.	Üremik sarkopeni etyolojik nedenleri.....	4
Şekil 2.2.	Üremik Sarkopenide Sitokinler.....	6
Şekil 2.3.	Ubiquitin-Proteasome Sistemi	7
Şekil 2.4.	Myostatin Etki Mekanizması	13
Şekil 2.5.	Kas Protein Yıkımında Myostatin ve Diğer Yolaklar.....	15
Şekil 2.6.	İnflamatuvar sitokinlerin myostatin ve kas kitlesi üzerine etkileri	16
Şekil 4.1.	SDBY Etyolojik Nedenleri	23
Şekil 4.2.	Myostatin düzeyinin HD hastaları ile sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırılması	25
Şekil 4.3.	ASMI Değerine Göre Hastaların Demografik Özellikleri	26

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Son Dönem Böbrek Hastalığı (SDBH), yaşam süresini kısaltan ve kalitesini ciddi ölçüde azaltan bir durum olup, giderek artan bir halk sağlığı sorunu haline gelmektedir. Beslenme ve vücut kompozisyonu ile ilgili olumsuz koşullar diyaliz hastalarında sıklıkla bulunmakta, iyi bilinen diğer faktörlerin yanında armış morbidite ve mortaliteye ciddi katkı sağlamaktadır (1). Bu durumun yarattığı klinik sonuçlardan biri olan kas kitlesinde azalmanın önemli nedenlerinden biri malnütrisyon olmakla birlikte sorumlu mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. İnflamasyon, ateroskleroz, katabolik hastalıklar, hormonal dengesizlik (insülin direnci, GH, IGF-1, cinsiyet steroidleri, hiperparatiroidizm), ATP ve glukojen yıkımı, anemi, metabolik asidoz, elektrolit bozuklukları, hastaların yaşam tarzında değişiklik gibi faktörler kas kitlesi kaybını açıklamada yetersiz kaldığı için kas kitlesi kaybına neden olan yeni mekanizmalara yönelinmiştir (2,3,4).

Son yıllarda yapılan çok sayıda deneysel ve klinik çalışmada, TGF-B ailesinin üyesi olan myostatinin kas kitlesinin düzenlenmesindeki anahtar rolü ortaya konulmuştur. Myostatinin iskelet kas kitlesi ve büyümesine smad aktivasyonu ve p-akt sinyal yolağı inhibisyonu yaparak negatif etki yarattığı görülmüştür. Kronik hemodiyaliz hastalarında yapılan bir çalışmada serum myostatin düzeyi ile kas gücü arasında negatif bir ilişkinin varlığı bildirilmiş ise de kas gücü eksikliğinin yüksek oranlara eriştiği bu popülasyonda yeterli çalışma yoktur. Bu çalışmada; kronik hemodiyaliz programında olan hastalarda, kas kitlesinin değerlendirilmesinde en uygun yöntem olarak bilinen Dual Enerjili X ışın Absorbsiyometri-DEXA kullanarak, kas kitlesi ile bir kas belirteci olarak tanımlanan serum myostatin düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Böbrek Yetmezliği

2.1.1. Tanım

Kronik böbrek hastalığı (KBH) çeşitli hastalıklara bağlı olarak nefronların kronik, progressif ve geri dönüşümsüz kaybı ile karakterize olan nefrolojik bir sendromdur. National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/DOQI) tarafından yapılan tanımlamaya göre KBY; 3 ay veya daha fazla devam eden böbrek hasarı bulgusunun olması (Böbrek hasarı; böbreğin yapısal veya fonksiyonel anormalliklerinin glomeruler filtrasyon hızında (GFH) azalma olsun ya da olmasın, klinikte patolojik anormallikler olması), böbrek hasarı olsun ya da olmasın, 3 ay veya daha uzun süreli GFH'nın 60 ml/dak/1.73m² altında olması (5) şeklinde belirtilmiştir. Kronik böbrek hastalığının gelişiminde çeşitli nedenler olmakla birlikte ülkemizde ve dünyadaki en önemli sebepleri diyabetes mellitus, hipertansiyon ve kronik glomerulonefritlerdir.

Altta yatan primer neden tedavi edildiği ve çok ileri böbrek hasarının olmadığı durumlarda kronik değişikliklere rağmen böbrekler vücudun gereksinimlerini karşılayabilir ve böbrek hastalığına bağlı herhangi bir klinik veya biyokimyasal anormallik gözlenmez. Ancak birçok hastada kronik böbrek hastalığı zamanla ilerleyerek nefron sayısı giderek azalır. Bir süre sonra da hastada böbrek yetersizliğinin biyokimyasal ve klinik bulguları ortaya çıkar. Bilateral böbrekler fonksiyonlarının önemli bir bölümünü gerçekleştiremediklerinde son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişmeye başlar.

SDBY böbrek fonksiyonlarının ilerleyici ve geri dönüşümsüz kaybı ile oluşan hayatı tehdit eden üremiden korunmak için hastaya devamlı olarak hemodiyaliz, periton diyalizi ve transplantasyon gibi renal replasman tedavilerinin (RRT) uygulandığı klinik bir tablodur. Böbrek yetmezliğinin evresi, gelişme hızı ve altta yatan nedene göre hastaların semptom ve bulguları farklılaşır. Genellikle hastalarda anemiye bağlı halsizlik ve idrar konsatrasyon yeteneğinde bozulmaya bağlı gelişen noktüri ilk semptom olarak görülür. GFR, 30-50 ml/dk' ya inmedikçe hastalar

semptomsuz olabilir. Üremik semptomlar ise GFR 20-25 ml/dk olunca gözlemlenir (6).

2.1.2. Epidemiyoloji

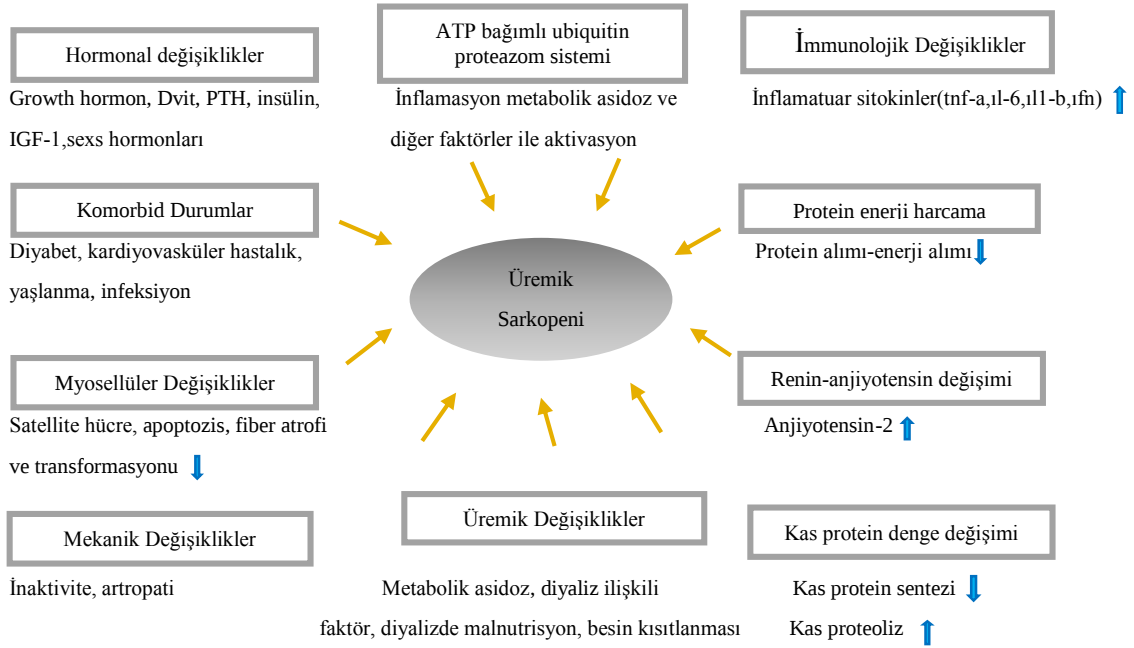
KBY tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunudur. Amerika Birleşik Devletleri ve diğer ülkelerde SDBY insidans ve prevalansında artış gözlemlenmektedir. Türk Nefroloji Derneği (TND) verilerine göre Türkiye’de son 10 yılda SDBY insidansında 2 kat, prevelansında 5 kat artış gözlenmiştir. Türkiye Kronik Böbrek Hastalığı Prevelansı Araştırması’nda (CREDIT), evre 1 ile 3 KBY hastalarının prevalansı %5 bulunurken, evre 4 ve evre 5 KBY hastalarının prevalansı %0.3 ve %0.2 saptanmıştır. (7) TND verilerine göre 2009 yılı sonunda toplam 59.443 hasta RRT almıştır. RRT alan hastaların sayısında, yıllar içerisinde insidans ve prevalansındaki artış devam etmektedir.

2.2. Kronik Böbrek Yetmezliğinde Kas Kitlesi

Kronik böbrek yetmezliğinde gelişen iskelet kası anormallikleri üremik myopati olarak tanımlanmıştır. Diyaliz hastalarında üremik myopati yaygın olup, yaklaşık %50 oranında bulunmaktadır (8). Üremi ve sarkopeni ilerleyici rahatsızlıklardır. Üremi, renal fonksiyon kaybına bağlı gelişen sıvı, elektrolit, metabolik anormallik ve hormonal dengesizlik ile ilgili bir klinik sendromdur. Bu değişikliklerin bazıları üreminin seyirine göre erken başlarken diğerleri geç başlamaktadır. Hemodiyaliz hastalarında quadriceps femoris ile adductor pollicis güç ve kontraktilesi üzerinde yapılan çalışmalarda, özellikle malnutre hastalarda quadriceps kas gücünde %70 azalma saptanmıştır. Aynı zamanda elektriksel stimülasyon ile bütün malnutre hastalarda iskelet kası relaksasyonu azalmıştır (9-10-11). Kronik böbrek hastalığı olan malnutre hastalarda adductor pollicis kasının ulnar sinir stimülasyonu ile kasılma ve gevşemesine bakılmış gevşemesi daha yavaş bulunmuştur (12).

Üremik myopati gelişiminden sorumlu birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar arasında; malnutrisyon, inflamasyon, hormonal dengesizlik, immünolojik,

myosellüler değışiklikler, anjiyotensin II salınımı, insülin/IGF-1 salınımında anormallikler, ATP ve glukojen tükenmesi, anemi nedeni ile oksijen taşınmasında etkilenme, metabolik asidoz, elektrolitlerde değışiklik, yaşam tarzında değışiklik, satellite hücrelerde myostatin salınımı gibi nedenler bulunmaktadır (2-3-4-13). Bu etmenler, kas fibrillerinde atrofi nedeni ile kas güçsüzlüğüne, egzersiz boyunca periferel güçsüzlüğe neden olur. Ancak hiçbirisi hastalık patogenezi tam olarak açıklayamamaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Üremik sarkopeni etyolojik nedenleri

Hemodiyaliz hastalarında periferel kas fonksiyonlarında zayıflama, periferel kas maximum VO₂ ölçümüne dayanan egzersiz kapasitesi ve elektrofizyolojik aktivitesine dayanan liflerde istemli kontraksiyonları ile saptanabilir (14-15). Hastalarda iskelet kasında elektromyografik ve morfolojik olarak histolojik değışiklikler gözlenir. Bunlar nöropatik anormallikler ile birlikte ya da ayrı olabilir (16-17). Üremide en sık tip-2 lif atrofiği görülür. Elektron mikroskopik incelemelerde diyaliz hastalarında mitokondride belirgin anormallik olmadığı ancak mitokondriyal oksidatif enzimlerin, kontraktiliteden sorumlu kas proteinlerinin, myozin ağır zincirin azaldığı görülmüştür (18-19). Hastalarda fiziksel aktivite ile glukojen içeriği azalmakta ve kas atrofiği ile lipofuscin artmaktadır (17-20). Kas

protein oranı ve mitokondriyal enzim aktivite yüzdesi renal hasar şiddeti ile negatif koreledir (21).

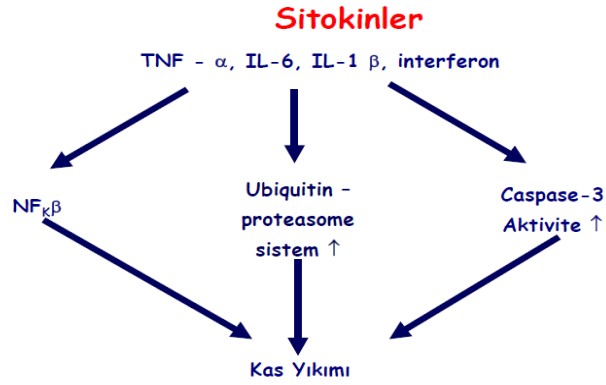
2.2.1. Üremik Sarkopeni Etyolojik Nedenleri

2.2.1.1. Myogenic progenitör ve satellite hücre hasarı

Satellite hücrelerin güçlü myojenik ve kendilerini yenileme potansiyelleri vardır. Satellite hücreler kas fibrillerinde bazal lamina ve sarkolemma arasında bulunmaktadır (22). Kas hasarından sonra satellite hücreler aktive olarak Myo D ile myogenin transkripsiyon faktör salınımına neden olur. Böylece kas hasarını onarmak için myoblast proliferasyon ve formasyonunu sağlar daha sonra farklılaşarak hasarlı kasta yeni kas fibrilleri oluşturur (23). Kas hasarından sonra satellite hücreleri ile tek bir kas lifinin nakli, kas hücre yenilenmesinin yanı sıra kök hücre havuzunda yeniden doldurur (24). KBH'lı kas hasarı olan farelerde Myo D protein ve myogenin salınımı azalmaktadır. Bu anormallikler satellite hücre fonksiyonunun zayıfladığını göstermektedir. KBH'lılarda IGF-1 R sinyali azaltarak satellite hücre proliferasyon ve farklılaşmasını azaltmaktadır (25).

2.2.1.2. İnflamasyon

KBH' da düşük dereceli inflamasyon yaygın olup, erken evrede dolaşımda TNF-a, IL-1, IL-6, IFN-gama gibi inflamatuvar sitokinler artar. İnflamatuvar sitokinler NFkB, ubiquitin-proteasome sistem ve caspase-3 yolağını aktive eder. Bu yollar insülin ile uyarılan protein sentezini azaltır. Böylece myosit farklılaşmasını inhibe ederek kas kaybına neden olur (26,27,28) (Şekil 2.2).



Lecker. Clin J Am Soc Nephrol 2009

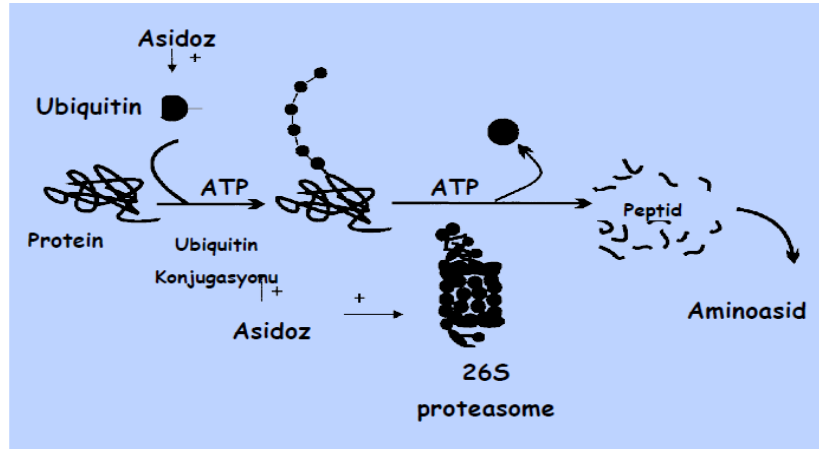
Şekil 2.2. Üremik Sarkopenide Sitokinler

2.2.1.3. ATP bağımlı ubiquitin-proteasome sistem ve caspase-3

Üremide kas protein dengesinde görev yapan ATP bağımlı ubiquitin-proteasome sistemi (UPS) KBH’lılarda iskelet kas yıkımını artırır (29). İnflamasyon ve metabolik asidoz UPS aktivasyonunda ana rol oynar. İnflamasyon, kastaki 14 kDa aktin parçasını ayırarak yıkımını artırır (30). Metabolik asidoz UPS regülasyonu ile iskelet kasında aminoasit oksidasyonunu artırır (31). Diyaliz hastalarında iskelet kasında caspase-3 aktivitesi, 14 kDa aktinin c-terminaline ubiquitin ekleyerek artmaktadır (32).

Bir protein yıkımda önce UPS onu öncelikle sıcak şok protein ailesinden ubiquitin proteinine konjuge ederek birleştirir. UPS konjugasyon sistemi substrat hakkında hüküm verir, çünkü Ub bir substrat proteinine bağlanana kadar bu süreç devam eder. 26 S proteazom olarak isimlendirilen Ub sistem zinciri gelişmiş bir protein zincirine öncülük eder ve protein yıkımı 26S proteazomundadır. Ub aktivasyonu Ub aktive edici enzim olan ve ATP gerektiren E1 ubiquitin-aktive edici enzimle başlar. Aktive olan Ub E2 Ub-taşıyıcı proteinlerinin 20-40 izoformundan birini etkiler. Bu ana basamaklar UPS ile yıkım için bazı spesifik siteler sağlamaktadır çünkü sadece spesifik proteinler E2 Ub-taşıyıcı protein ile karşılıklı etkileşmektedir. E2 Ub-taşıyıcı protein sadece spesifik E3 ubiquitin ligase ile etkileşir ve E3 Ub ligase Ub’yi substrat proteine bağlamaktan sorumludur. Sadece spesifik bir substrat proteinini tanıyan 1000 den fazla E3 enzimi bulunmaktadır. Protein tanımlanması azalınca aktive olan Ub substrat proteindeki lizine transfer olur, sonra diğer Ublerde

substrat protein içindeki lizine transfer olur. Transfer işlemi yıkılacak substrat proteinini tanıyan 5 tane Ub's zinciri bir seri halinde kalıncaya kadar devam eder. 26 S proteazomunu ortaya çıktığında yıkım başlar. 26 S proteazome santralda 20 S ve 19 S regülatuar olan iki parçadan oluşan 60'dan fazla proteinden oluşur. Her bir parçanın sonundaki 19S poliubiquitin zincirini tanımaktan sorumludur ve yeterli ATP varlığında proteazome Ub zincirini substrattan ayırarak tekrar döngüye katar. 26 S proteazome substrat proteinini açarak onu peptid yıkımının olduğu 20S içerisine transloke eder. Peptidler proteazomdan hızlıca ayrılır peptidazlar ile aminoasitlere dönüştürülür. Böylece substrat proteinin yıkımı tamamlanır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Ubiquitin-Proteasome Sistemi

Ub konjugasyon sistemindeki protein yıkımı iki nedenle ilerler. Birinci olarak Ub ve 26S proteazome subuniti kapsayan yıkım ile ilgili protein ve m RNA salınımında artma oluşur, ikincisi kasta protein yıkımını hızlandıran kasa özgü E3 Ub ligaz olan atrogin-1 ve MuRF1 salınımında artma oluşur. Farelerde bu faktörlerin salınımında artmayla kas yıkımı oluşur (33). Aktive olan E3-Ub konjuge sistemi FoxO ve NFkB olarak adlandırılan iki inflamasyon transkripsiyon faktörü regüle eder.

Kontraktıl proteinlerin kaybı kas güçsüzlüğü yaşayan hastaların durumundan sorumludur.(34) UPS sistemi bütün hücrelerdeki sellüler protein yıkımından sorumludur. Proteinleri aktin, myosin, troponin ve tropomyozine parçalar. Kas

proteinlerinde kompleks bir durum olduğunda aynı proteinlere yönelik sınırlı proteolitik aktivite gösterir. Bu nedenle kas protein yıkımı için başka bir protein yıkım yolu bulunmalıdır. Caspase-3 protein yıkımını iki yolla yapar. İlk olarak UPS tarafından hızlıca yıkılan aktomyozin ve myofibrilin ürettiği protein fragmentlerini parçalar (35). Bu proteolitik sistem aktinin 14 k D-C terminalinde oluşur. KBH'lı hastalarda kas biyopsisinde 14 k D aktin fragmanını seviyelerinde artış gözlemlenmiştir. 14 k D aktin fragmant seviyeleri 18 haftalık egzersiz programını tamamlayan KBH'lıların kas biyopsisinde düşmektedir. Bu sonuçlar gelişince 14 kD kasta protein yıkımı için biomarker olabilir. Ayrıca caspase-3 proteolitik aktiviteyi artırmak için proteazomadan 19S aktivitesini ayırır (36). Bu ayrışma 20-S proteazoma birçok substrat proteinin geçişine izin verir. Özetle farelerde ve insanlarda caspase-3 katabolik durumlara yanıt vermek için kas protein yıkımında öncelikle UPS sistemi ile yıkım için kas protein yıkımı ile substrat oluşturur ve ikinci olarak protezomadaki proteolitik aktiviteyi stimule eder.

2.2.1.4. Metabolik asidoz

Metabolik asidoz ileri evre KBH'lılarda yaygındır. Kasta kitlesi kaybını protein sentezini azaltıp, aminoasit oksidasyonu sağlayıp, ubiquitin-proteazome yolağının aktivasyonu ve tip 2 fiber atrofisi ile yapar (37-38).

KBH'lılarda serum bikarbonat seviyelerinde hafif yükselme, kastaki UPS sisteminde oluşan proteolizi down-regüle eder ve plazma dallı zincirli aminoasitlerin miktarını artırır (39). Pre-diyaliz KBH lılarda sodyum bikarbonat eklenmesi renal fonksiyonlarda azalmayı yavaşlatır, diyetle protein alımını artırarak, protein yıkımını azaltarak kas kitlesinde artış sağlar (40). Bikarbonat desteği aynı zamanda periton diyalizi, hemodiyaliz hastalarında ve SDBY olan yaşlı hastalarda protein yıkımında azalma ile ilişkilidir (41). Asidozun düzeltilmesi KBH'lılarda kas kitlesinin korunması nedeni ile önemlidir.

2.2.1.5 Vitamin-D değışikliği

D vitamini düzeyi kas gücü ve fiziksel performansı olumlu olarak etkiler. D vitamini, immün sistem düzenlenmesi, inflamasyon, hipertansiyon, tromboz ve iskelet kasını da kapsayan çeşitli metabolik olaylarda rol oynayarak, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında önemli rol oynar (42). D vitamini replasmanı kas fonksiyonlarının iyileşmesini sağlar (43) ve özellikle yaşlılarda kas kitlesi, kas fibril kompozisyonu ve morfolojisine olumlu etki yaparak (44), bu hastalarda düşmeyi azaltır (45). Renal fonksiyonları normal olup D vitamini eksikliği olan kişiler ve KBH' lıarda kas kontraksiyonunun relaksasyon fazı uzaması serum kalsiyum, paratiroid hormon ve fosfor seviyelerinden bağımsızdır (46). Bu gözlemler, KBH'lılarda D vitamini ve kas kitlesi arasında ilişki olduğunu ve myopatide rol oynadığını göstermektedir (47). D vitamini eksikliği tip-2 fibril atrofisi ile fibriller arasındaki açıklığı artırarak yağ, fibrozis ve glukojen granülleri ile infiltrasyonunu sağlar (46). Bu morfolojik değışiklikler KBH'lılarda görülen tip-2 kas fibril atrofisi, lipofuscin ve glukojen depo özelliklerine benzemektedir (48).

2.2.1.6. Anjiyotensin II (AT-II) de değışiklik

Renin anjiyotensin sistemi, iskelet kasında kaspase-3 aktivasyonu yaparak, apoptozis ve kas yıkımından sorumlu aktin ayrılması ile sonuçlanan, KBH'yı da kapsayan birçok katabolik durumda aktive olmaktadır (49). AT-II iskelet kası rejenerasyon ve remodelling inhibisyonu yapar, myosit farklılaşmasını etkiler (50), satelite hücre aktivasyonunu inhibe eder ve iskelet kas hasarına bağılı fibrotik doku oluşumunu sağlar (51). Farelere AT-II infüzyonu kas proteolizisini artırarak, dolaşımdaki ve iskelet kasındaki IGF-1 düzeyini azaltır. AT-II reseptör blokörü losartan kullanımının, kas kaybından sorumlu TGF-B sinyal aktivitesini inhibe ederek, marfan sendromu ve duchenne muskuler distrofi gibi bazı hastalıklarda kas yeniden oluşumunu düzenlediğı (52), farelerde ise yaralanmalardan sonra iskelet kas yenilenmesini sağlar ve atrofiden koruduğı gözlemlenmiştir (53).

2.2.1.7. İştah değışikliğı

Anoreksi, KBH’lılarda yeme istemini kaybetme ile karakterize bir durumdur. İştahdaki bozulma hormonlar ile düzenlenir. Tat ayırımı yapmada azalma, üremi ilişkili gastrointestinal semptomlar (54), depresyon, anti-hipertansif tedavi ve hemodiyalizle oluşan hemodinamik instabilite, periton diyalizi boyunca görülen tokluk hissi iştahsızlık nedenlerinden bazılarıdır.

İştahı düzenleyen leptin ve ghrelin gibi hormonlar bulunmaktadır. Leptin anoreksinin potent mediatörü olarak renal klirensden etkilendiğı için KBH’lılarda artmaktadır (55) ayrıca plazma ghrelin seviyelerinin de arttığı görülmüştür (56).

2.2.1.8. Cinsiyet ve seks hormon değışiklikleri

Testesteron kas kitlesi ve gücü ile ilişkili olan anabolik bir steroiddir, eksikliği kas kitlesini azaltır (57). KBH’lı erkeklerde, prolaktin klirensinin azaldığından ve üre ile leyding hücrelerinde LH hormon sinyalinin inhibe edildiğinden testesteron eksikliği yaygındır (58-59). KBH’lı kadınlarda erken evrelerden itibaren oligomenore ve östrojen eksiklikliği görülür. Östrojen sağlıklı kadınlarda kas kuvvetinden sorumludur. Kadınlarda kas kaybı erkeklere göre erken yaşta başlar fakat hormon replasman tedavileri ile kas gücü korunur (60).

Erkek cinsiyet KBH’lılarda hızlı ilerleme ve kötü gidişten sorumludur (61-62). Son çalışmalarda, iştahı olmayan hastalarda, cinsiyetin kas gücünün şiddetinde etkili olduğu saptanmıştır. İnflamasyon ilişkili anoreksi erkek farelerde daha şiddetli olmakla birlikte, dişi farelerde progesteron enjeksiyonu anoreksinin şiddetini azalttığı (63); nefrektomize erkek farelerde anemi ve malnutrisyonun dişilere göre daha belirgin olduğu saptanmıştır (64).

2.2.1.9. Büyüme hormonu değışiklikleri

KBH, iskelet kasında protein katabolizmasına neden olan büyüme hormonu direncinden sorumludur (65). Rekombinant büyüme hormon farmakolojik dozları anabolik durumu indükleyerek besin kullanımını artırır. Büyüme hormonu direnci esansiyel aminoasitleri azaltarak hemodiyaliz hastalarında kas kaybını artırır.

2.2.1.10. İnsülin değışiklikleri

KBH’da erken evrelerden itibaren insülin direnci bulunmaktadır (66-67). İnsülin direnci hepatik ve iskelet kası glukoz alımını azaltarak, hepatik glukoneoenezi artırır. Dolaylı olarak ubiquitin-proteazom yolağı, anjiyotensin-II, asidoz ve inflamasyonda artış ile böbrek yetmezliğinin erken evrelerinden itibaren kas protein yıkımı yapar. Renal fonksiyonlarda azalma, D-vitamin eksikliği, anemi ve üremik toksin gibi faktörler bu durumdan sorumludur (68-69-70).

2.2.1.11. Protein-enerji tüketimi

Protein-enerji tüketimi, KBH’lılarda vücut proteinleri, kas ve vücut kitlesinde azalma ile karakterizedir olup; protein yıkımı inflamasyon, katabolik hastalık, metabolik asidoz, insülin direnci, GH, IGF-1, hiperglukagonemi, hiperparatiroidizm gibi nedenlerle oluşur (41).

2.2.1.12. Fiziksel inaktivite ve egzersiz

Egzersizin genel popülasyonda faydaları bilinmekte olup KBH da fiziksel aktivite azalmaktadır. KBH’da fiziksel inaktiviteyi de kapsayan çeşitli mekanizmalar ile kas atrofisi ve kas protein yıkımı oluşur (71).

2.2.1.13. Myostatin düzeyi değışikliği

Myostatin iskelet kası gelişimini engelleyen TGF-B ailesinin üyesi olan bir myokindir. Myostatin herbirinin ağırlığı sırasıyla 28 ve 12.4 kDA olan, N-terminal propeptid ve C- terminal aktif peptid kısımları bulunan, 375 aminoasitten oluşan bir peptid olarak sentez edilmektedir (72). Myostatin homodimerlerinin ağırlığı yaklaşık 25 kDA dır (73). Otokrin ve parakrin etkilerinden sorumlu aktif peptid hali seruma bağılı olup, serumdan sekrete edilir (74).

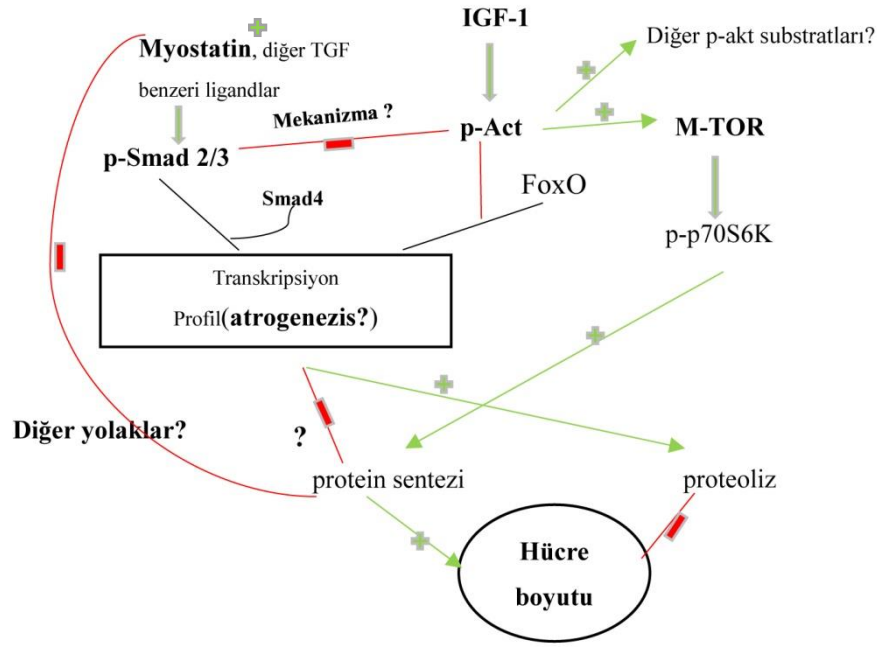
İskelet kasında myostatin öncülü prepromyostatin, propeptid ve myostatinden oluşan promyostatin üretmek için parçalanır. Myostatin, kas proteinlerinde kayıp, serbest radikal artışı ya da pH’da azalma olduğu zaman propeptidden salınır.

Myostatin, sinyal peptidini ayıran proteolitik aktivite ile N-terminal propeptid ve C-terminal parçasına ayrılır. C-terminal parçasına disülfid ilişkili dimer bağlanması ile aktive olur.

Myostatin kas membranında bulunan ActRIIB resptörüne yüksek afinite ile bağlanır. Bu reseptörün aktivasyonu, Smad transkripsiyon faktör fosfolirasyonunu başlatır. Myostatin sinyalleri Act RIIB hetreodimer ALK-4 ve ALK-5 üzerinde ekspresse edilir. İntrasellüler ALK 4-5 serin/treonin kinaz Smad 2 ve 3 ü fosforile eder. Bu Smad 4 ile kompleks oluşturarak iskelet kası prekürsör hücrelerinin proliferasyon ve farklılaşmasını düzenler (75-76). Myostatin ile Smad2-3 aktivasyonu büyüme sinyallerine yanıt olarak mTOR sinyal yolağı inhibisyonu yaparak protein sentezini baskılar. Sonuç olarak myostatin intrasellüler anabolik ve katabolik sinyal yolaklarını aktive ederek iskelet kası gelişimini sağlar (Şekil 2.4).

Genetik kanıtlar, myostatinin kas kitlesi ve fonksiyonunu düzenlemede rol oynadığını göstermektedir. Myostatin farelerde vücut ağırlığında %33, kas kitlesinde %35-50 azalma yaparken, gen delesyonu ve myostatinde fonksiyon kaybı gösteren mutasyonlar fare, koyun, sığır ve insanlarda kas kitlesinde artış yapar (77).

İskelet, kalp kası ve adipoz dokudan salınan myostatin ve onun sinyal yolakları kas kitlesi kaybı ile ilgili durumlarda artış gösterir. AIDS, böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği, kronik obstruktif akciğer hastalığı (78) ve terminal dönem karaciğer hastalığı (79) olan hastalarda myostatin seviyesi artmaktadır.



Şekil 2.4. Myostatin Etki Mekanizması

Castillero ve ark.'nın çalışmasında akut myokard infarktüsünden 12-24 saat sonra myostatin düzeylerinin artmaya başladığı, artma düzeyinin devam ederek 1 hafta içinde plato çizdiği ve 2 ay içerisinde gerilediği ve iskemiden 2 ay sonra kardiyak kas hipertrofisinden sorumlu IGF-1/AKT yolağının, atrofi ve fibrozisten sorumlu myostatin/SMAD/P38 yolağına kaydığı görülmüştür. İskemiden sonra yükselen kardiyak myostatin düzeyi, iskelet kasında atrogin-1 ve MuRF1 salınımında artma ve SMAD 2,3 yolağında aktivasyon ile iskelet kas atrofisi yapmaktadır (80). Heinke ve ark çalışmasında kardiyak myostatin salınımının iskelet kasında atrofiye neden olduğunu bildirmiştir (81). Diğer araştırmalarda myokard infarktüsünden 2 ay sonra dolaşımda artan TNF-a bağımlı olarak iskelet kasında lokal myostatin düzeyi artışını saptamışlardır (82).

Diyabetik hastalarda myostatin düzeyi ile ilgili veriler çelişkilidir. Han D-S ve ark.'nın çalışmasında diyabetik hastalarda diyabetik olmayanlara göre myostatin seviyeleri düşük bulunmuştur. Bu çalışmada düşük myostatin seviyeleri bağımsız olarak metabolik sendrom, santral obezite, düşük HDL ve yüksek trigliserit seviyeleri ile ilişkilidir. Myostatin düzeyinin KBH ileri evrelerinde arttığı gözlemlenmiştir. Myostatin düzeyi ve renal fonksiyonlar arasındaki negatif

korelasyon hastalar yaş, cinsiyet,diyabet ve metabolik sendromu olanlar olarak sınıflandırıldığında da devam ettiği görülmüştür.Ancak renal fonksiyonlarda ilerleme sıklıkla metabolik sendrom kriterleri ile birlikte görüldüğünden bu ilişki net değildir.(83)

Brandt ve ark. çalışmasında ise tip-2 diyabet olan hastalarda kas myostatin mRNA düzeyi benzer özellikleri olan kontrol gruplarından yüksek bulunmuştur. Ancak diyabetik ve kontrol gruplarında plazma myostatin konsantrasyonları arasında fark görülmemiştir. Sağlıklı kontrol gruplarında kas myostatin mRNA, insülin direnci, plazma IL-6,VO2 max düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur. Plazma myostatin düzeyinin, kas myostatin mRNA düzeyi ile karşılaştırıldığında daha zayıf bir belirteç olduğu görülmüştür. Bu durum; TGF-B ailesi üyeleri gibi serum myostatin konsantrasyonu ekstrasellüler matriksdeki çeşitli proteinlerin kompleks etkileşimi ile düzenlendiğinden, kas dokularından izole edilen hücre içi mRNA salınımı myostatinin dolaşımdaki seviyelerini göstermemesine bağlanmıştır. Kas kaynaklı myostatin düzeylerinin glukoz ve lipid metabolizmasına negatif olarak etki ettiği görülmüştür. Bu çalışmada Tip-2 diyabet de diğer faktörlerin myostatinin negatif etkilerini ortadan kaldırdığı düşünülmüştür (84).

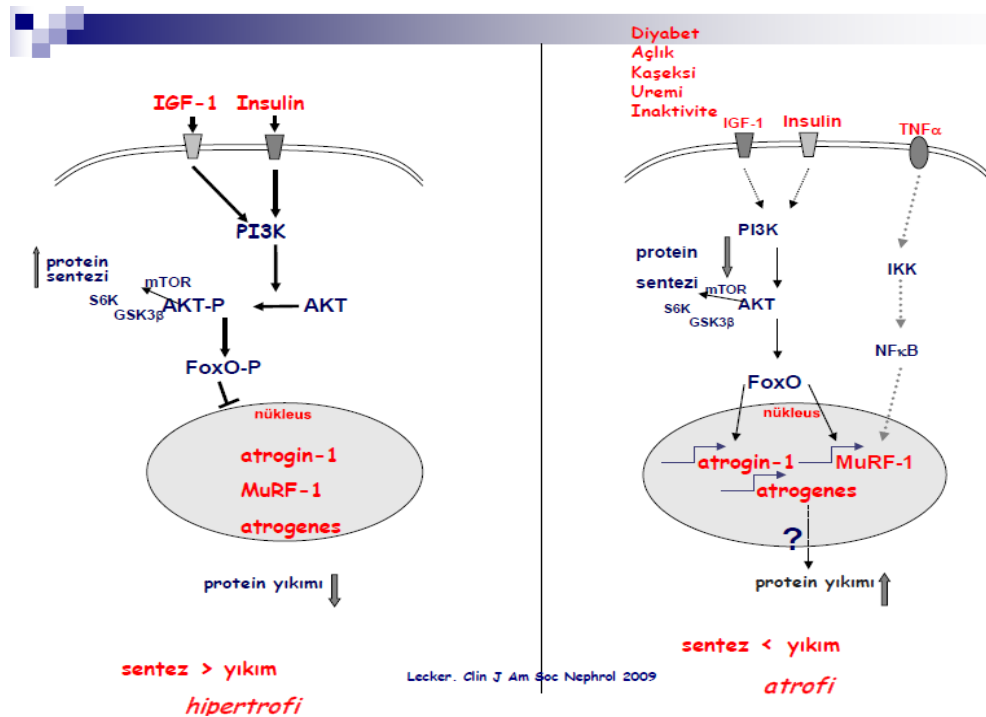
Myostatin inhibisyonunun katabolik durumlarda kas atrofisine engel olmak için kullanılabileceği üzerinde çalışılmıştır. Muskuler distrofi hastalarda myostatin inhibisyonu kas gelişimini, gücünü artırır ve myostatin nötralize antikoru (MYO-029) tedavisinin kabul edilebilir güvenli profili bulunmaktadır. KBH’da birçok metabolik defekt (IGF-1 intrasellüler sinyal yolu, glukokortikoid üretimi, büyüme hormon direnci, satellite hücre fonksiyon defekti...) kas atrofisine katkıda bulunduğundan, myostatin baskılanmasının kas atrofisini iyileştirip iyileştirmediği tam olarak bilinmemektedir.

KBH’lı farelerde myostatin salınımının arttığı görülmüştür. Bu farelerde genetik yöntemlerle KBH’nın düzeltilmesiyle myostatin fonksiyonları bloke edilmiştir. Böylece intrasellüler fosforile-Act sistemi aktive olarak, kas protein sentezinde artma, yıkımında azalma, satellite hücre fonksiyonlarında düzelme oluşmuştur. TNF-a myostatin salınımını artırırken, myostatin de IL-6 üretimini

artırır. Bu yanıtlar KBH ile ilişkili kas kitlesi kaybına inflamasyonun neden olduğunu desteklemektedir (85).

Sedanter, iyi beslenen diyaliz hastalarında iskelet kası myostatin seviyelerinin kontrol grubu ile benzer olduğu ve myostatin mRNA seviyelerinin egzersiz ile düştüğü görülmüştür (86). Egzersiz, myostatinde düşme, IGF-1 salınımında artışla kas kitlesi artışına katkıda bulunmaktadır.

Kas protein metabolizmasında düzelme, IGF-1 intrasellüler sinyal indexinden biri olan Akt fosforilasyonundaki değişimler ile belirlenir. Myostatin p-Akt sistemini inhibe ederken, Anti-myostatin peptidleri aktive eder. p-Akt artışı FoxO'yu stimüle ederek nükleusta translokasyonun önüne geçer (87-88). Bu E3 ubiquitin ligaz, atrogin-1/MAF bx yada MuRF1 salınımını azaltarak kas protein yıkımını baskılar (87-89). KBH olan farelerde 7 gün anti-myostatin peptitlerinin bulunması, FoxO3A ve FoxO1 fosforilasyonu artışı ile kasta protein yıkımını baskılar. Anti-myostatin peptidiyle tedavi kas mRNA'sında atrogin-1 ve MuRF1 düzeyini azaltır (Şekil 2.5).



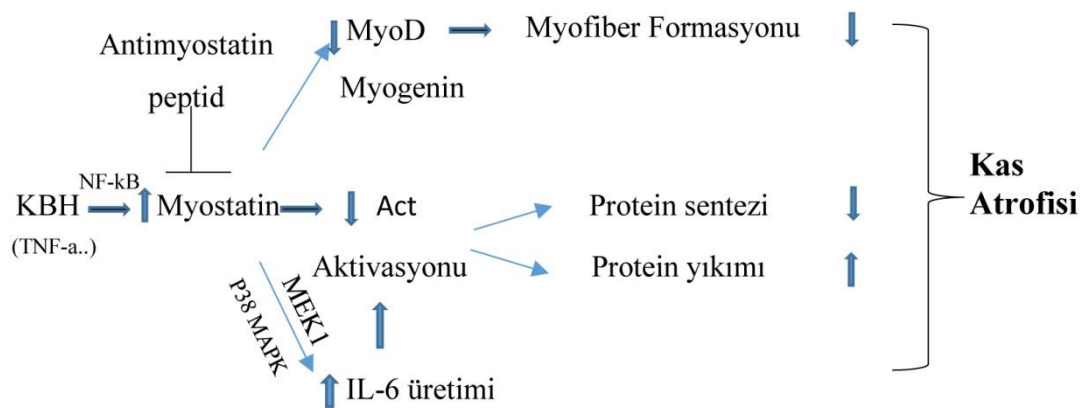
Şekil 2.5. Kas Protein Yıkımında Myostatin ve Diğer Yolaklar

KBH da dolaşımdaki sitokinler artmakta olup, bu cevap protein depo kaybı ile ilişkilidir. KBH olan farelerde dolaşımdaki TNF-a ve IL-6 sitokinleri artmakta ve her iki sitokin anti-peptid tedavi ile düşmektedir. Myostatin ve dolaşımdaki inflamatuvar sitokinler arasında bağlantı bulunmaktadır. Yüksek kalorili diyet ile beslenen, myostatinini inhibe edilmiş farelerde dolaşımdaki IL-6 ve TNF-a seviyeleri aynı diyet ile beslenen farelerden daha düşüktür. Myostatinin kasta inflamatuvar sitokinleri etkilediği düşünülmektedir.

TNF-a ile tedavi edilen C2C12 myotubleri myostatin salınımını belirgin olarak artırır. Fakat, kas kitlesinin IL-6 ya maruz kalması myostatin salınımını değiştirmez. Myostatin ile tedavi edilen miyotubuller m RNA da IL-6 belirgin yüksek bulunur. IL-6 seviyesinde yükselme kas yıkımını stimüle eden SOCS3 aktivasyonu IRS-1 de yıkım p-Akt ve p-FoxO baskılanması yapar (90).

TNF-a,NF-kB bağımlı yolak ile myostatin salınımında artışa yol açar. Myostatin kas hücrelerinde MEK ve P38 MAPK aracılığı ile IL-6 üretimini artırarak kas hücrelerinde büyümeyi inhibe etmektedir (91).

Myostatin inhibisyonu iskelet kası öncül ve satellite hücrelerin fonksiyonunu artırarak kas atrofisini engeller (92,93) KBH da myojenik gen, myogenin ve MyoD salınımını azaltarak kök hücre fonksiyonunu etkiler. Bu nedenle KBH'larında myostatin inhibi syonu kök hücre fonksiyonlarını iyileştirir (93) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. İnflamatuvar sitokinlerin myostatin ve kas kitlesi üzerine etkileri

Bazı araştırmalarda tam tersi olarak myostatin bloklanması kas protein yıkımında değişikliğe neden olmamaktadır. Görüşlerdeki bu farklılık protein yarı ömrü ve yıkımının ölçülememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (94). Aktivin reseptör II B (sAct RIIB) kas kaybını baskılar, kas gücünü artırarak sarkopeni olan farelerde yaşamı uzatır. Burada kas protein kaybı protein sentez ve yıkımı belirtilmemiştir. ActRIIB uygulaması activin A ve diğer ligandları bloke ederek myostatin inhibisyonu sağlar.

Myostatin inhibisyonu Akt fosforilasyon sinyalizasyonunu artırarak insülin/IGF-1 sinyal sistemini düzeltir (95). Diyabet, kanser ve KBH olan fare çalışmalarında myostatin ve p-Akt arasında yakın ilişki vardır myostatin inhibisyonu p-Akt sistemini artırır. p-Akt daki artış kas protein sentezini, kastaki S6K ve memeli rapamisin düzeylerini artırarak artırır. Yüksek p-akt, kas protein yıkımını E3 ubiquitin ligaz, atrogin-1/MAFbx ve MuRF1 salınımını baskılayan fosforilasyonu aktive ederek UPS sisteminde proteolizi azaltır. Anti-myostatin peptidleri ile tedavi, KBH olan farelerin kaslarında atrogin-1/MAFbx ve MuRF1salınımını azaltır. Fakat bu azalma farelerdeki KBH derecesine göre anti-myostatin peptid yanıtı değiştiğinden ve kas yıkımında başka proteolitik aktiviteler de rol oynadığından istatistiksel olarak anlamlı değildir (95).

Myostatin düzeyi üremik kaşekside artmaktadır ve iskelet kas kitlesi ve büyümesine smad aktivasyonu ve akt sinyal yolağı inhibisyonu yaparak negatif etki yaratmaktadır. Üremik sarkopenin, her ne kadar başka faktörler katkıda bulunsa da myostatin inhibisyonu ile düzenlenebileceği düşünülmektedir.

2.2.1.14. Beslenme

Diyaliz hastalarında yetersiz beslenme ile oluşan protein-enerji malnutrisyonu, vücuttaki yağ ve somatik protein depolarının gizli kaybı, azalmış serum protein konsantrasyonları, kas kitlesinde azalma ile kötü performansa neden olur (96).

SDBY olan hastalarda yetersiz besin alımı; diyet kısıtlamaları, diyaliz sırasında protein kaybı, kardiyovasküler hastalıklar, diyabetik komplikasyonlar, enfeksiyon ve/veya sepsis, diğer komorbiditeler, üremiye eşlik eden endokrin

bozukluklar, metabolik asidoz, yetersiz diyaliz gibi nedenler malnutrisyona katkıda bulunur (97).

2.3 Vücut Kompozisyonu ve Ölçüm Yöntemleri

Vücut kompozisyonu belirlenirken vücut çeşitli bölümlere ayrılarak değerlendirilmeye çalışılır. Heymsfield ve arkadaşları 30'dan fazla vücut bileşeninin anatomik, moleküler, hücresel, doku sistemi ve tüm vücut olarak 5 düzeyde incelenebileceğini belirtmişlerdir (Tablo 2.1-2.2).

Tablo 2.1. Vücut kompozisyonları ve bunları incelemek için geliştirilen yöntemler

Düzye	Son zamanlarda geliştirilmiş metotlar	Diğer metotlar
Atomik	Nötron aktivasyon analizi	40 K tüm vücut taraması Dilüsyon teknikleri Su altı tartı
Moleküler	Biyoelektrik impedans analiz Dual-enerji x-ray absorbsiyometri Multikompartman modeller	Infrared interaksiyon
Hücresel		Dilüsyon teknikleri
Doku sistemi	Bilgisayarlı aksiyal tomografi Manyetik rezonans görüntüleme	Ultrasonografi 24 saatlik kreatinin ve 3- metil histidine atılımı
Tüm vücut		Antropometri

Tablo 2.2. Vücut bileşenlerinin sınıflandırılması

N, Ca, P, K,Na, Cl	Lipit	Adipozitler	Adipoz doku	Tüm Vücut
H	Su	Ekstraselüler Sıvı	İskelet kası	
C				
O	Protein		Viseral organlar	
	Glikojen	Ekstraselüler solid	İskelet	
	Mineral			
Atomik	Moleküler	Hücresel	Doku sistemi	

Tüm vücut, vücut kompozisyonuna en son ve yaygın kullanılan sınıflandırmadır. Boy, ekstremite uzunlukları, çap ölçümleri, cilt kalınlığı, vücut yüzey alanı, vücut hacmi, vücut ağırlığı, VKİ, vücut yoğunluğu gibi pek çok parametrenin kullanılmasını gerektirir. Pratikte vücut kompozisyonunu değerlendirilen yöntemlerde bu gruplar birleştirilmektedir. Örneğin iki kompartman modelinde;

Vücut ağırlığı=(yağ dokusu+yağsız vücut kitlesi), üç kompartman modelinde; vücut ağırlığı=(yağ dokusu+yağsız vücut kitlesi+kemik mineral içerik) veya dört kompartman modelini (vücut yoğunluğu, ağırlık, su ve kemik mineral kütlesi) olarak incelenmektedir (98).

2.3.1. Vücut Kompozisyonunun Tanımı İçin Kullanılan Terimler

Vücut kompozisyonu ölçümünde pek çok terim kullanılmıştır.

2.3.1.1. Vücut yoğunluğu

Yağsız vücut kütlesi ve total vücut kütlesi ile ilişkili olup, çoğu çalışmada vücut yoğunluğunun etnik farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir.

2.3.1.2. Vücut hacmi

Vücut büyüklüğünün su ve hava ile yer değiştirilmesi ile tahmin edilmesidir.

2.3.1.3. Yağsız kütle

Yağsız kütle, bütün çıkarılabilir yağlardan (toplam vücuttaki yağ kütlesinden) sonra kalan vücut ağırlığını tanımlamak için kullanılır (99).

2.3.1.4. Yağ kütlesi

Subkutan ve visseral yağ, hücre zarının yapısına katılan ve diğer yağlar olarak gruplandırılabilir. Yaklaşık olarak vücut ağırlığının %3'ü hücresel olaylarda kullanılan yağ depolarından oluşur. Yaş ilerledikçe vücutta yağ kütlesi artış gösterir.

2.4. Dual Enerjili X Işın Absorbsiyometri (DEXA)

Dual Enerjili X Işın Absorbsiyometri (DEXA) vücut kompozisyonu tayininde kullanıma giren hızlı, kolay, noninvazif, hasta uyumu yüksek ve hastayı 5 mrem'den daha az radyasyona maruz bırakan bir tekniktir.(100,101) 70 ve 140 keV'lik iki enerji seviyesinin dokularda soğrulma miktarının saptanması ile üç kompartman modelinde yer alan yağ, kemik ve yağsız vücut kitlesi ölçülebilmektedir. Bu yöntemde hata payı kemik dokusu ölçümü için %1.8, yağ dokusu için %1.5 ve yağsız doku için %1.5 olarak belirtilmiştir (102,103).

KBH hastalarında DEXA kullanılarak vücut kompozisyonunu değerlendirmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır. Georgiou ve arkadaşları 17 hemodiyaliz hastasında bir diyaliz seansı sırasında yağsız vücut kitlesinde, toplam vücut ağırlığı değişimine paralel olarak anlamlı değişiklik saptamışlardır. Ultrafiltrasyon ile çekilen sıvının yağsız vücut kitlesinde oluşturduğu değişim DEXA ile saptanmış, yağ dokusu ve kemik mineral içerikte ise anlamlı değişiklik saptanmamıştır (104). Stenver ve arkadaşları da 20 hemodiyaliz hastasında yaptıkları çalışmada vücut ağırlığı değişimi ile yağsız vücut kitlesi değişimi arasında benzer ilişkiyi göstermişlerdir (105). Metry ve arkadaşları diyaliz öncesi ve sonrası gövde, kol ve bacaklarda oluşan değişim miktarını birbirleriyle karşılaştırmışlardır. Hemodiyalizden bir saat sonra yaptıkları değerlendirmede gövdede meydana gelen değişikliği, kol ve bacaklarda meydana gelen değişikliğe göre daha fazla bulmuşlardır. Kalp ve büyük damarları barındıran gövdede ultrafiltrasyon ile sıvı çekilmesi ile daha fazla oluşan ağırlık değişiminin DEXA ile hassas bir şekilde saptandığını belirtmişlerdir (106). DEXA özel donanım, personel gerektirmesi ve pahalı olması nedeniyle hemodiyaliz hastalarında rutin kullanıma girmemiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji BD’da hemodiyaliz tedavisi ile takip edilmekte olan çalışmaya alınma kriterlerini karşılayan 64 hasta ve özel diyaliz merkezlerinde hemodiyaliz tedavisi alan 76 hasta olmak üzere toplam 140 hasta alındı. Çalışmaya alınan tüm hastalar bilgilendirilmiş gönüllü onam formu ile bilgilendirildi ve onamları alındı. Çalışma öncesinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’nun onamı alındı. Çalışma Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Tıplılar Vakfı tarafından desteklendi.

Çalışmaya 18-85 yaş grubu arasında, en az 3 aydır kronik hemodiyaliz programında takip edilen, malignitesi olmayan, son 3 ayda; aktif enfeksiyon, hastalık, cerrahi operasyon geçirmemiş, hastaneye yatmamış hastalar dahil edildi.

Hastaların yaş, cinsiyet, boy, kilo, vücut kitle indeksleri (VKI), SDBY etyolojisi, eşlik eden hastalıklar (hipertansiyon, diabetes mellitus, aterosklerotik kalp hastalığı), kullandıkları ilaçlar ile ilgili bilgileri kendilerinden ve hasta dosyalarından alındı. Hastaların nutrisyonel durumuna yönelik son 1 yıl içindeki serum BUN, kreatinin, albumin, LDL kolesterol, trigliserit, ferritin, parathormon (PTH), kalsiyum (Ca), fosfor (P), hemoglobin (hb), kt/v, bikarbonat düzeyleri Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı ve özel diyaliz merkez laboratuvarları’ndan retrospektif olarak elde edildi. Tüm biyokimyasal verilerin ortalaması alındı ve ortalama laboratuvar değeri olarak kaydedildi. Nutrisyonel belirteçlerden 25 (OH) vitamin D, kreatinin fosfokinaz (CPK), prealbumin ve transferrinin ise son 1 aylık düzeyi görüldü.

Çalışmaya katılan kronik hemodiyaliz hastalarından hafta ortası diyaliz seansından önce alınan kan örnekleri, uygun tüplere konularak oda ısısında 3600 devirde 15 dakika santrifüje edildi. Seruma ayrıldıktan sonra çalışılacakları zamana kadar -80°C’de en fazla üç ay saklandı.

3.1. İnsan Myostatin Düzeyinin Eliza Yöntemi İle Tayininin Yapılması

Myostatin düzeyi Cloud-Clone Corp. marka lot: L140905197 insan myostatin kiti ile Elisa yöntemi uygulanarak Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmunoloji BD laboratuvarında ölçüldü. Kitin sensitivitesi 31 pg/ml olup çıkan sonuç 1000'e bölünerek ng/ml ye çevirildi.

3.2. DEXA Yöntemi İle Kas Kitlesi Ölçümü Yapılması

DEXA ölçümü hologic discovery A-81461 cihazı ile Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp BD da yapıldı. Volüm yükünün etkileyeceği durumlardan kaçınmak için ölçümler diyaliz ertesi günü yapıldı. Bireylerin ölçümleri yapılırken üzerlerinde metal aksesuar bulundurmamaları anlatıldı. Ölçümler her hasta için yaklaşık 5-10 dakika kadar sürmüş olup sonuçlar cihazdan çıktı olarak alındı.

Bacak ve kol bölgesi kas kitlesi toplamının boyun karesine bölünerek hesaplanan apendikular iskelet kas kitle indeksi (ASMI) (kg/m²) değeri kas kitle belirteci olarak kullanıldı. Kadınlarda 5.25 kg/m² altındaki değerler, erkeklerde 7.74 kg/m² altındaki değerleri olan hastalar sarkopenik olarak kabul edildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

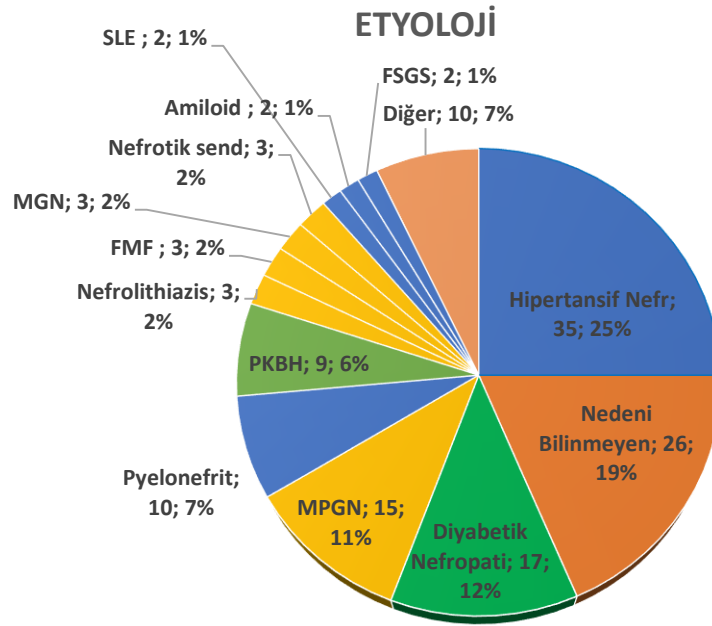
Verilerin analizi SPSS 20.0 (Statistical Package for Social Sciences) paket programları kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Değişkenler arasında ilişkinin değerlendirilmesinde Pearson korelasyon testi, gruplar arasındaki farkların saptanmasında Mann-Whitney U-testi kullanıldı.

p değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji BD’da hemodiyaliz merkezinden 64 hasta ve özel diyaliz merkezlerinden alınan 76 hasta olmak üzere toplam 140 hasta alındı. Genel klinik durumu bozuk, malignitesi olan; son 3 ayda aktif enfeksiyon, hastalık, cerrahi operasyon geçirmiş hastaneye yatmış olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmaya alınan hastaların 61’i kadın (%43.6), 79’u erkek (%56.4) olup yaş ortalaması 53.96 ± 13.6 idi. Hastaların 28’i (%20) diyabetik iken, 112’sinde (%80) diyabet yoktu. Etyolojileri açısından bakıldığında hastaların 35’i hipertansif nefropati (%25), 26’sı nedeni bilinmeyen (%18.5), 17’si diabetik nefropati (%12.1), 15’i membranoproliferatif glomerülonefrit (%10.7), 10’u pyelonefrit (%7.1), 9’u polikistik böbrek hastalığı (%6.4), 3’ü nefrolithiazis (%2.1), FMF ilişkili amiloidoz (%2.1), membranöz glomerülonefrit (%2.1), etyolojisi bilinmeyen nefrotik sendrom (%2.1), 2’si SLE (%1.4), amiloid (%1.4), fokal segmental glomerüloskleroz (%1.4), 10’u diğer nedenlere (%7.2) bağlı son dönem böbrek yetmezliği hastalarıydı (şekil 4.1).



Şekil 4.1. SDBY Etiyolojik Nedenleri

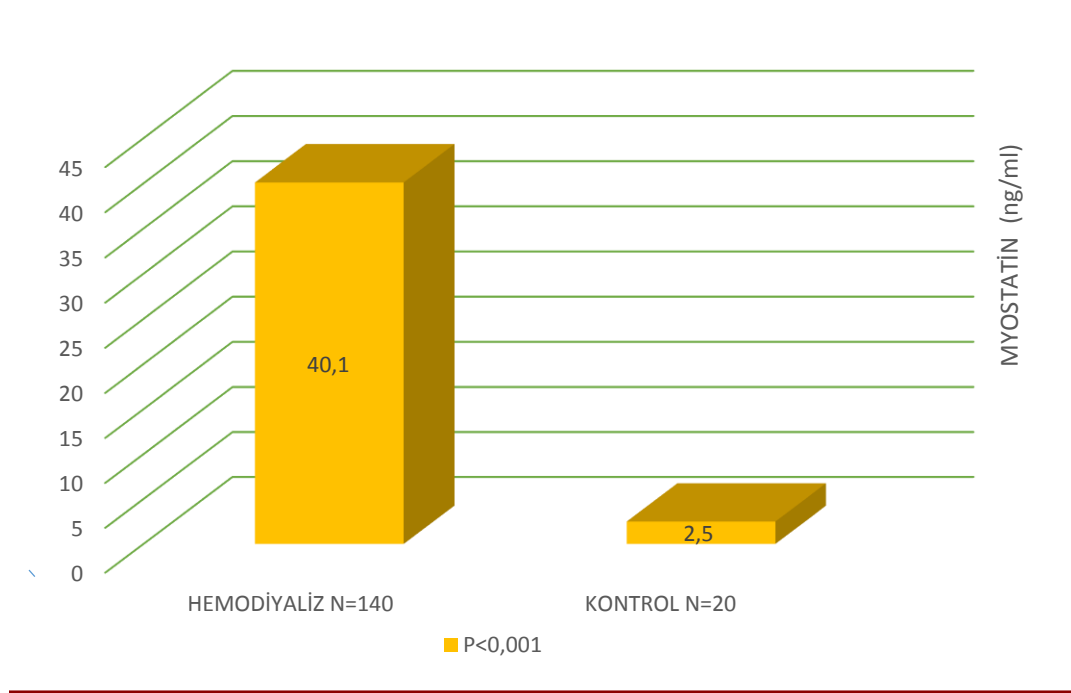
Hemodiyaliz hastalarının klinik ve laboratuvar özelliklerine ait değerler Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmaya Alınan Hastaların Demografik Özellikleri

Parametre	Normal Değerleri	Ortalama $\pm$ SD*
Yaş (yıl)	>18	53.96 $\pm$ 13.6
Boy (cm)	-	164.3 $\pm$ 8.99
BUN (mg/dl)	8-23	62.52 $\pm$ 12.78
Kreatinin(mg/dl)	0.7-1.2	9.08 $\pm$ 2.11
Parathormon (pg/ml)	12-88	482.4 $\pm$ 311.38
Bikarbonat(mmol/l)	22-26	19.48 $\pm$ 1.73
Kt/V	-	1.72 $\pm$ 0.33
25(OH)D3(ug/L)	20-120	21.21 $\pm$ 15.28
Prealbumin(g/L)	0.2-0.4	0.31 $\pm$ 0.09
Albumin(g/dL)	3.5-5.2	4.12 $\pm$ 0.25
Transferrin(g/L)	1.6-3.4	1.53 $\pm$ 0.33
Kreatinfosfokinaz(U/L)	38-174	76.27 $\pm$ 66.4
Myostatin (ng/ml)	-	40.18 $\pm$ 8.36
Kas kitlesi (lean mass) (gr)	-	18,652.26 $\pm$ 4310.64
ASMI (kg/m ²)	Sarkopeni E<7.74	6.83 $\pm$ 1.11
(kas kitlesi /boy ²)	K<5.25	

*SD, standart deviasyon (sapma)

Hemodiyaliz hastalarında ortalama myostatin düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti.(sırasıyla 40.1 ± 8.3 ; 2.5 ± 2.4) ($p<0,001$) (Şekil 4.2)



Şekil 4.2. Myostatin düzeyinin HD hastaları ile sağlıklı kontrol grubunda karşılaştırılması

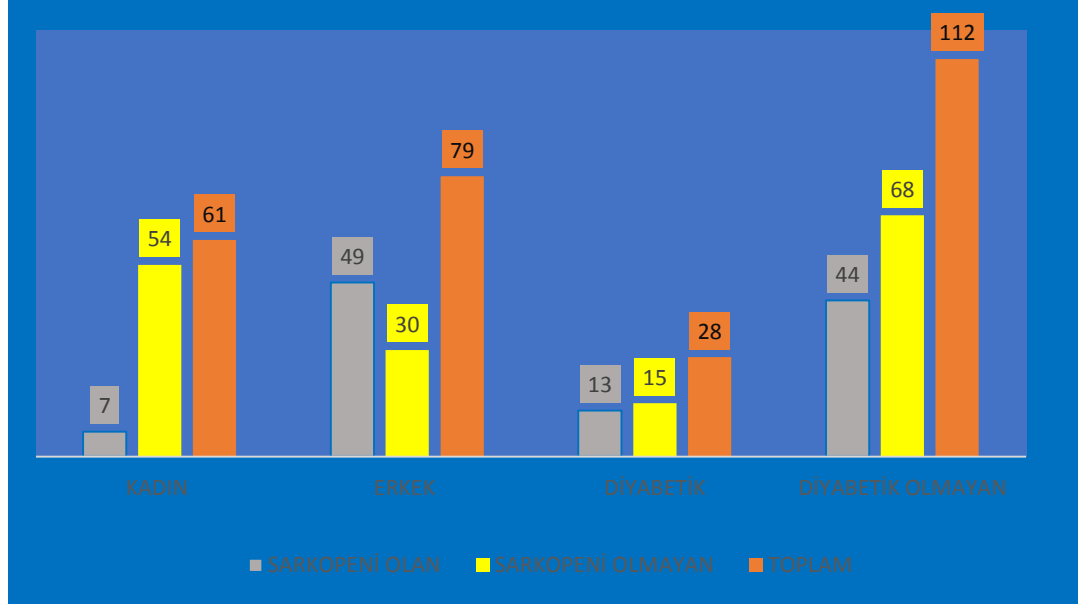
Kas kitlesi göstergesi olarak hesaplanan ASMI değeri ile myostatin düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmadı ($p= 0,624, r=0.42$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. ASMI ve serum myostatin düzeyi arasındaki ilişki

ASMI(kg/m2)		
	r (korelasyon katsayısı)	p
Myostatin Düzeyi (ng/ml)	0.042	0.624

ASMI değerine göre çalışmamıza alınan 140 hastanın 56'sında sarkopeni varken (%40),84'ünde (%60) sarkopeni bulunmamaktaydı. 61 kadın hastanın 7'si (%11.5) 79 erkek hastanın 49'u (%62) sarkopenik iken, diyabetik olan 28 hastanın

13'ü (%46.4), diyabetik olmayan 112 hastanın 44'ü (%38.7) sarkopenik idi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. ASMI Değerine Göre Hastaların Demografik Özellikleri

Sarkopenisi olan ve olmayan kadın ve erkek hastaların myostatin düzeyi arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Sarkopeni ve Cinsiyet ile Myostatin Düzeyi Arasındaki İlişki

	Sarkopenik Kadın				Sarkopenik Olmayan Kadın				P
	Mean	St.sap	Min.	Max	Mean	St.sap	Min.	Max.	
Myostatin(ng/ml)	41.08	5.9	35.1	49.3	38.96	8.3	16.7	64	0.542
	Sarkopenik Erkek				Sarkopenik Olmayan Erkek				P
	Mean	St.sap	Min.	Max	Mean	St.sap	Min.	Max.	
Myostatin(ng/ml)	41.38	9.33	22.4	57.9	40.19	7.07	24.8	54.5	0.548

Diyabetik ve diyabetik olmayan hastaların myostatin düzeyi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. ($p>0.05$) Sarkopenisi olan diyabetik hastalarda

myostatin düzeyi daha yüksek olmakla birlikte, sarkopenik olmayan diyabetik hastalar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.086$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Sarkopeni ve Diyabet ile Myostatin Düzeyi Arasındaki İlişki

	Diyabetik Hastalar				Diyabetik Olmayan Hastalar				P
	Mean	St.sap	Min.	Max	Mean	St.sap	Min.	Max.	
Myostatin(ng/ml)	41.8	9.05	21.4	57.6	39.77	8.21	16.7	64	0.243
	Sarkopenik Diyabetik Hastalar				Sarkopenik Diyabetik Olmayan Hastalar				P
	Mean	St.sap	Min.	Max	Mean	St.sap	Min.	Max.	
Myostatin(ng/ml)	45.08	8.66	30.7	57.6	40.2	8.8	22.4	57.9	0.086

Myostatin dışında malnutrisyon belirteci olarak kullanılan ve kas kitlesi ile de ilişkisi olduğu bilinen diğer parametreler ile kas kitlesi arasındaki ilişkiyi karşılaştırıldığında, kas kitlesi ile kreatinin, kreatin fosfokinaz, prealbumin, albümin, transferrin ile aralarında anlamlı ilişki saptanırken ($p<0.05$) BUN, PTH, 25(OH)D3, bikarbonat ile istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($p>0.05$) Kt/v ile kas kitlesi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptandı ($p<0.05$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Diğer parametreler ile ASMI arasındaki ilişki

Parametre	r değeri	p değeri
BUN (mg/dl)	0.033	0.739
Kreatinin (mg/dl)	0.529	<0.001
Parathormon (pg/ml)	0.033	0.698
Bikarbonat (mmol/l)	-0.158	0.062
Kt/V	-0.636	<0.001
25(OH)D3(ug/L)	-0.044	0.603
Prealbumin(g/L)	0.211	0.012
Albumin(g/dL)	0.2	0.039
Transferrin(g/L)	0.430	<0.001
Kreatinfosfokinaz (U/L)	0.305	<0.001

5. TARTIşMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, kronik hemodiyaliz tedavisi uygulanan son dönem böbrek yetmezliği hastalarında serum myostatin düzeyi normal popölasyona göre anlamlı olarak yüksek saptanmasına karşın kas kitlesi ile myostatin düzeyleri arasında bir ilişki bulunamadı. 140 hastanın değerlendirildiği bu kesitsel çalışmada kas kitlesi ile kreatinin, albümin, prealbumin, kreatin fosfokinaz, transferrin, kt/v arasında anlamlı ilişkiler gözlemlendi.

Kronik hemodiyaliz hastalarında kas kitlesinde azalma ve kaşeksi sık rastlanan bir bulgu olup artmış düşme, kemik kırıkları, hastaneye yatış sıklığında artma ve mortalite ile ilişkilidir. Kas kitlesi kaybının mekanizması tam anlaşılamamış olup başta malnutrisyon, sistemik inflamasyon ve nöropati olmak üzere çok sayıda faktörle ilişkili olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda myostatinin bir kas kitlesinin belirlenmesinde önemli rol aldığına ilişkin çok sayıda araştırma yayınlanmaktadır (72,73,77). TGF- β ailesinin bir üyesi olan myostatinin smad aktivasyonu ve p-akt sinyal yolağı inhibisyonu yaparak katabolik durumlarda kas yıkımı ve atrofisinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Zhang L ve ark. KBH'lı farelerde farmakolojik olarak anti-myostatin peptidleri ile myostatin inhibisyonu ile vücut kitle indeksinde artış ve kas atrofisinde azalma saptamışlardır (107). D- Han ve ark. serum myostatin düzeyinin KBH ileri evrelerinde arttığını gözlemlemiştir (83). Myostatin ile kas patolojileri arasında ilişki deneysel çalışmalarda belirgin olarak ortaya konulmasına ve hatta kronik hastalıklarda kas kaybını giderme amacı ile myostatin etkisinin inhibisyonuna yönelik ilaç geliştirme çalışmalarına karşın bu ilişkinin varlığını araştıran yeterli sayıda klinik çalışma bulunmamaktadır.

Diyabetes Mellitus, kalp yetmezliği, kronik obstruktif akciğer hastalığı, terminal dönem karaciğer hastalığı gibi kas kaybı ile seyirli kronik hastalıklarda yapılan çalışmalar artmış myostatin kas ekspresyonu ve serum düzeyi ile azalmış kas kitlesi ve kas gücü birlikteliğini göstermektedir (78,79,80,84). Wang F ve ark.'nın 43 tip-2 DM ve 20 kontrol grubu ile yaptığı çalışmada diyabetik hastalarda serum myostatin düzeyinin anlamlı olarak yüksek bulunduğu ve serum myostatin düzeyi ile vücut kitle indeksi arasında negatif korelasyon saptamıştır (108). Ju-CR ve ark.'nın

71 KOAH'lı hasta ve 60 sağlıklı kontrol grubunda yaptıkları çalışmada KOAH'lı hastalarda serum myostatin düzeyinin belirgin olarak yüksek olduğunu; yaş ve antropometrik ölçümlerle hesaplanan total iskelet kas kitlesinin kontrol grubuna oranla belirgin azaldığını saptamışlardır. Ancak serum myostatin düzeyi ve total iskelet kas kitlesi belirgin korelasyon bulunmamıştır. Fakat erkek hastalarda yapılan grupta myostatin düzeyinin kas kitlesi ile orantılı olduğu saptanmıştır (78). Bununla birlikte çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Bu durum myostatinin olası patolojik rolünün sorgulanmasına yol açmakla birlikte, kas kitlesi ve kas gücünün değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerdeki belirsizliklerin de göz önüne alınması gerekmektedir.

Kronik hastalıklarda kas sorunları kas kitle kaybı ya da kas güçsüzlüğünden kaynaklanmakta iki durum her zaman birlikte olmayabilmektedir. Nitekim diyalize yeni başlayan 330 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada sarkopeni sıklığı % 20 olarak bildirilmiş, mortalite üzerinde kas gücündeki azalmanın kas kitlesindeki azalmadan daha önemli olduğu gözlenmiştir (109). Araştırmacılar hemodiyaliz hastalarında kas kitlesinin, kas gücünün belirlenmesinde rol oynadığını ancak muhtemelen kontraktıl kalite, nöral aktivasyon ve inflamasyon gibi diğer faktörlerinde daha ön planda olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Kronik hemodiyaliz uygulanan 60 hasta ve benzer özellikleri olan 41 kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada, diyaliz hastalarında vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, kas kitlesi ve kas gücünün daha düşük olduğu görülmüştür. Bu çalışmada myostatin düzeyi kontrol grubuna oranla düşük saptanmış; kas gücü ile myostatin arasında anlamlı birliktelik var iken bioelektriksel impedans ile ölçülen kas kitlesi ile myostatin arasında ilişki bulunamamıştır (110). Böbrek fonksiyonları normal olan sağlıklı genç ve yaşlı erkeklerde erkeklerde serum myostatin düzeyi ve kas ölçüm yöntemi olarak DEXA kullanarak yaptıkları çalışmada, genç erkeklerde yaşlılara oranla serum myostatin düzeyinin daha yüksek olduğunu, testosteron ile tedavi edilen erkeklerde myostatin düzeyinin arttığı görülmüştür. Burdaki myostatin artışı testosteron artışına sekonder kas kitlesindeki kontrol edilemeyen artışı önlemek amacı ile olabilir. Bu durum kas kaybı durumlarında artan myostatin düzeyinin, yapım fazlalığı durumunda da kas gelişimini engellemek amacı ile artabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca myostatin seviyelerinin genç ve yaşlı erkeklerde yağsız

kas kitlesi ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir. Bu çalışma da serum myostatin seviyesinin kas kitlesini belirlemede güvenilir bir belirteç olmayabileceğini desteklemektedir (111).

Çelişkili sonuçların kaynağının bir diğer nedeni ise kas kitlesinin saptanmasındaki yöntemlerin farklılığıdır. Hemodiyaliz hastalarında kas kitlesi ölçümünde vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, orta kol kas çevresi gibi çeşitli antropometrik ölçümlerin yanında; vücut kompozisyon ölçümlerinde de yararlanılan DEXA, BIA, BT, MR gibi yöntemler kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar; bu popülasyonda hem yağ kitlesinin hem de kas kitlesinin değerlendirilmesinde daha değerli bir yöntem olduğunu gösterdiğinden çalışmamızda DEXA kullanımını tercih edildi (98,112). Ekstremiteler, iskelet kaslarını daha yoğun biçimde içerdiklerinden ve gövdede yer alan visseral kasların olası etkisini ekarte etmek amacıyla total kas kitlesi yerine apendikular iskelet kas kitle indeksi (ASMI) kas kitlesinin göstergesi olarak kullanıldı (113).

Çalışmamızda kas kitlesini etkileyen diğer parametreler ile kas kitlesi arasında anlamlı ilişki bulduğumuz halde, artan serum myostatin düzeyi ile belirgin korelasyon olmamasının pek çok nedeni olabilir. TGF- β sinyal yolağı çeşitli hücre tiplerinin büyümesini inhibe etmektedir ve bu yolak çok geniş salınım özelliğine sahip geniş bir grup ligandı içermektedir. TGF- β ailesinin bir üyesi olan myostatinin kas ve yağ dokular dışındaki etkileri henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Ayrıca katabolik durumlarda serum myostatin düzeyi ile yapılan çalışmalarda myostatin düzeyinde daha çok yükselme tespit edilmiş olsa da, kontrol grubu ile benzer veya daha düşük olduğu çalışmalarda bulunmaktadır. Bu durum iskelet kasında salınım ve sekresyonu olan myostatinin dolaşımdaki seviyeleri kas konsantrasyonunu yansıtmıyor olabileceği hipotezi ile açıklanabilir. Ayrıca extrasellüler ortamda saptanan myostatin farmakolojik ajanlar ve myostatine bağlanma özelliği olan proteinler ile etkileşiyor olabilir. Bu karışıklığı ortadan kaldırmak için kas biyopsisi yapılması alternatif bir seçenek olabilir. DF Sun ve ark. fareler üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada KBH olan farelerde plantar kas myostatin mRNA düzeyinin sağlıklı farelere oranla belirgin olarak arttığı gözlemlenmiştir (114). Brandt ve ark. 76 Tip-2 dm ile 92 sağlıklı kontrol grubunda yaptığı çalışmada dm olan hastalarda kas myostatin mRNA düzeyi benzer özellikleri olan kontrol gruplarından yüksek

bulunmuş olup, diyabetik ve kontrol gruplarında plazma myostatin konsantrasyonları arasında fark görülmemiş olması bu hipotezimizi destekler niteliktedir.(84). Wang H ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise beslenme parametreleri iyi olan 51 HD hastası ile kronik hastalık ve akut enfeksiyon bulguları olmayan, benzer özellikli 21 kontrol grubu ile yaptığı çalışmada gruplar arasında kas myostatin mRNA düzeyleri arasında anlamlı fark bulamamıştır. Bu çalışmada myostatin düzeyleri arasında herhangi bir fark bulunamaması, çalışmaya alınan HD hastalarında sistemik inflamatuvar belirteçlerin normal sınırlarda olup vücut yağ yüzdesi, vücut kitle indeksi, cilt altı kalınlığı ve kas çevresi ölçümleri sağlıklı kontrol grubu ile benzer olmasına bağlanmıştır (115). Myostatinin fare deneylerinde kas kitle kaybı ile belirgin ilişkisinin görülmesi türler arasındaki farktan kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca myostatin katabolik durumlarda kas yıkımından sorumlu olduğu kadar, yapımın fazla olduğu durumlarda da büyümeyi engellemek için salınıyor olabilir.

Öte yandan, hemodiyaliz hastalarında kas kaybından sorumlu çok sayıda faktör bulunmaktadır. Yeterince değerlendirilemeyen beslenme bozuklukları, inflamatuvar süreç ve nöropati, diyaliz yöntemleri gibi kas kaybına neden olan durumlar myostatinin etkinliğinden daha fazla rol alabilirler. 25 kD luk bir polipepid olan myostatinin diyaliz klirensi de serum myostatin düzeylerinin kas kaybını belirlemedeki etkisini sınırlıyor olabilir.

Bu çalışma diyaliz hastalarında konuyu araştıran ikinci araştırma olmakla birlikte; kas kitlesini belirlemede çok daha değerli olan DEXA'yı kullanması, kas kitlesini etkiyebilecek diğer olası nedenleri de ayrıntılı olarak araştırması ve örneklem büyüklüğü ile ayrılmaktadır. Çalışmamızda kas kitlesi ile serum myostatin düzeyi arasında ilişki saptanamaz iken malnutrisyon belirteci olarak kullanılan ve kas kitlesi ile de ilişkisi olduğu bilinen albümin, prealbumin, transferin, diyaliz öncesi serum kreatinin ve bir kas enzimi olan kreatinin fosfokinaz, Kt/V düzeyi ile ASMI arasında anlamlı ilişkiler saptandı. Ancak diyaliz öncesi BUN, parathormon, bikarbonat ve serum 25-OH-Vitamin D seviyeleri kas kitlesi ile anlamlı korelasyonlar gözlenmedi. Bununla birlikte çalışmamızın kesitsel yapısı, kas kitlesinin yanında kas gücünün de değerlendirilmemiş olması yorum gücünü kısıtlamaktadır.

Sonuç olarak, çalışmamızda; kronik hemodiyaliz tedavisi alan hastalarında serum myostatin seviyesinin yükseldiğini, ancak kas kitlesi ile aralarında anlamlı ilişki olmadığını gösterdik. Myostatinin kas kitlesinin oluşumundaki etkisi iyi bilindiğinden, olası ilişkiyi daha ileri çalışmalarla araştırmak gerekli görünmektedir. Bu alanda kas kitlesini etkileyebilecek diğer nedenlerin mümkün olduğunca kontrol altına alınabildiği hastalarda kas biyopsisi ile myostatin mRNA düzeyi kullanılarak ya da myostatinin etkisini bloke eden peptidler kullanılarak çalışmalar planlanabilir.

ÖZET

Kronik Hemodiyaliz Hastalarında Kas Kitlesi ve Serum Myostatin Düzeyi Arasındaki İlişkinin İncelenmesi

Giriş ve Amaç: Kronik hemodiyaliz hastalarında kas kitlesinde azalma ve kaşeksi sık rastlanan bir bulgu olup artmış morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Hemodiyaliz hastalarında kas kitlesi kaybının mekanizması tam anlaşılamamış olup, birçok faktörle ilişkili olduğu bilinmektedir. Kas kaybındaki ilerlemenin saptanması ve önlemesinde henüz güvenilir bir erken tanı ve tedavi yöntemi geliştirilmemiştir. İskelet ve kalp kasından salınımı olan myostatinin, kas kitlesi ve büyümesi üzerine negatif etki yarattığı görülmüş olup, salınım yolağındaki blokaj ile kas kaybını engellemede tedavi yöntemi olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Biz bu çalışmada kronik hemodiyaliz hastalarında kas kitlesi ile serum myostatin düzeyi arasındaki ilişkiyi belirlemeyi amaçladık.

Materyal-metod: Bu çalışmaya 140 kronik hemodiyaliz (HD) hastası dahil edildi.(61'i kadın ve 79'u erkek,28'i diyabetik, ortalama yaş 53.96 ± 13.6) Hastalara dual enerji X-ışını absorpsiyometri tekniği ile kas kitlesi ölçümü yapıldı. Kas kitlesi olarak kol ve bacak toplam kas kitlesinin boyun karesine oranlanması ile hesaplanan ASMI düzeyi kullanıldı. ASMI düzeyine göre erkeklerde 7.74 kadınlarda 5.25'in altındaki düzeyler sarkopenik olarak kabul edildi. Serum myostatin düzeyi ELİSA metoduyla ölçüldü. Hastaların bir yıllık ortalama BUN, kreatinin, albumin, parathormon, kt/v,bikarbonat ile son 1 aylık 25 (OH)D3 vitamin, prealbumin, kreatin fosfokinaz ve transfferin düzeyleri değerlendirildi. Myostatin ve diğer parametrelerin düzeyi ile kas kitlesi arasındaki ilişkiye bakıldı.

Bulgular: Hemodiyaliz hastalarında serum myostatin düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p < 0.001$). ASMI ile myostatin düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.($p=0.624$) Cinsiyete göre değerlendirildiğinde, sarkopenisi olan ve olmayan kadın ve erkek hastalarda serum myostatin düzeyi ile arasında anlamlı fark saptanmadı. (sırasıyla $p=0.542$; $p=0.548$). Hastalar diyabetik olma durumlarına göre sınıflandırıldığında, diyabeti olan ve olmayan hastaların serum myostatin düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.243$). Sarkopenisi

olan hastalarda diyabetik olanların serum myostatin düzeyleri daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.086$). Diğer parametrelerden kreatinin, albümin, prealbumin, kreatin fosfokinaz, transferrin, kt/v düzeyi ile ASMI arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki varken (sırasıyla $p<0.001$; $p=0.039$; $p=0.012$; $p=0.001$; $p=0.001$; $p=0.001$); BUN, 25(OH)D3, parathormon, bikarbonat düzeyleri ile anlamlı ilişki saptanmadı (sırasıyla $p=0.739$; $p=0.603$; $p=0.698$; $p=0.062$).

Tartışma ve Sonuç: Çalışmamızda, hemodiyaliz hastalarında serum myostatin düzeyinin düzeyinin belirgin olarak yükseldiğini; ancak kas kitlesi ile aralarında anlamlı bir ilişki olmadığını gösterdik. Kas kitlesini etkileyen diğer bilinen parametreler ile ASMI arasında anlamlı ilişki saptadık. Bu sonuç; serumda ölçülen myostatin düzeyinin HD popülasyonunda kas kitlesini değerlendirmede etkili bir yöntem olmadığını düşündürmektedir. Myostatinin kas kitlesinin oluşumundaki etkisi iyi bilindiğinden, olası ilişkiyi daha ileri çalışmalarla araştırmak gerekli görünmektedir.

Anahtar Kelimeler: Hemodiyaliz, Myostatin, DEXA, Kas kitlesi, Sarkopeni, Diyabet

ABSTRACT

Examination of The Relationship Between Muscle Mass and The Level of Serum Myostatin in Chronic Hemodialysis Patients

Introduction and aim: Reduced muscle mass and cachexia is a common finding in chronic hemodialysis (HD) patients and associated with increased mortality and morbidity. The exact mechanism of muscle mass in HD patients is not understood, it is known to be associated with many factors. Reliable early diagnostic and therapeutic method was not improved for identification of development and prevention from muscle loss. Myostatin which is release from the skeletal and heart muscle was seen negative impact of the muscle mass and growth, is thought to be used a treatment method in illnesses which cause muscle loss. In this study we aimed to examine of the relationship between muscle mass and the level of serum myostatin in chronic HD patients.

Materials and Method: One hundred and forty HD patients included in the study.(61 female, 79 male,28 diabetic, mean age; 53.96 ± 13.6) Muscle mass measurement was made with dual energy X ray absorptiometry. Appendicular skeletal muscle index (ASMI) which is calculated with the total muscle mass of arms and legs divide height squared is used as a muscle mass indicator. According to the level of the ASMI sarcopenia was considered to be smaller than 7.74 in men and 5.25 in women. Serum myostatin level were determined by ELISA method. The one-year average of BUN, kreatinin, albumin, PTH, Kt/v, bicarbonate and last one month 25(OH)D3, prealbumin, CPK and transferrin levels of patients were measured. The relationship between myostatin and other parameters is examined.

Results: Serum myostatin levels were significantly higher in the HD patients than in controls ($p < 0.001$). No statistical difference was observed between ASMI and serum myostatin levels ($p=0.624$). Evaluated by gender, there was no difference between sarcopenic or nonsarcopenic men&women and serum myostatin levels. (respectively $p=0.542$; $p=0.548$). Evaluated by diabetic condition there was no statistical difference between diabetic&non diabetic patients and serum myostatin

levels ($p=0.243$). Serum myostatin level was higher in sarcopenic diabetic patients however the difference was not statistically significant ($p=0.086$). In other parameters, there was significant difference between kreatinin, albumin, prealbumin, CPK, transferrin, kt/v with ASMI (respectively $p<0.001$; $p=0.039$; $p=0.012$; $p=0.001$; $p=0.001$; $p=0.001$) but no significant difference BUN, 25 (OH)D3, parathormon, bicarbonate (respectively $p=0.739$; $p=0.603$; $p=0.698$; $p=0.062$).

Discussion and Conclusion: In our study we have found that myostatin levels are increases in HD patients, but there was no significant relationship between muscle mass. We have found significant relationship between other parameters which are known impact muscle mass and ASMI. This result suggests that serum myostatin level is not an effective method in HD population. The role of myostatin formation in muscle is well known so further studies seems to be required to reveal possible relationship.

Keywords: Hemodialysis, Myostatin, DEXA, Muscle mass, Sarcopenia, Diabetes

KAYNAKLAR

1. Kagansky N, Berner Y, Koren-Morag N, Perelman L, Knobler H, Levy S. Poor nutritional habits are predictors of poor outcome in very old hospitalized patients. *Am J Clin Nutr.* Oct 2005;82(4):784-791; quiz 913-784.
2. Brautbar N. Skeletal myopathy in uremia: abnormal energy metabolism. *Kidney Int* 1983; 24: S81–S86.
3. Durozard D, Pimmel P, Baretto S et al. ³¹P NMR spectroscopy investigation of muscle metabolism in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1993; 43: 885–892.
4. Booth FW, Thomason DB. Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. *Physiol Rev* 1991; 71: 541–585.
5. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Kidney Disease Outcome Quality Initiative.* *Am J Kidney Dis* 2002;39 (suppl 2):S1-246.
6. Ismail N, Becker BN. Treatment options and strategies in uremia: current trends and future directions. *Semin Nephrol.* May 1994;14(3):282-299.
7. Suleymanlar G, Utas C, Arinsoy T, et al. A population-based survey of Chronic Renal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrol Dial Transplant.* Jun 2011;26(6):1862-1871.
8. Clyne N. Physical working capacity in uremic patients. *Scand J Urol Nephrol* 1996; 30: 247–252.
9. Fahal IH, Bell GM, Bone JM et al. Physiological abnormalities of skeletal muscle in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 119–127.
10. Kettner-Melsheimer A, Weiss M, Huber W. Physical work capacity in chronic renal disease. *Int J Artif Organs* 1987;10: 23.

11. Fahal IH, Ahmad R, Edwards RHT. Muscle weakness in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1996; 16: S419–S423.
12. Berkelhammer CH, Lawrence AL, Jeejeebhoy KN et al. Skeletal muscle function in chronic renal failure: an index of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1985; 42: 845–854.
13. Gutman RA, Stead WW, Robinson RR. Physical activity and employment status of patients on maintenance dialysis. *N Engl J Med* 1981; 304: 309–313.
14. Graham KA, Reaich D, Channon SM. Correction of acidosis in CAPD decreases whole body protein degradation. *Kidney Int* 1996; 49: 1396–1400.
15. Graham KA, Reaich D, Channon SM et al. Correction of acidosis in haemodialysis decreases whole body protein degradation. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 632–637.
16. Ahonen RE. Light microscopic study of striated muscle in uraemia. *Acta Neuropathol (Berl)* 1980; 49: 51–55.
17. Floyd M, Ayyar DR, Hudgson P et al. Myopathy in chronic renal failure. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1969; 6: 203–214.
18. Diesel W, Emms M, Knight BK et al. Morphologic features of the myopathy associated with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 677–684.
19. Sakkas GK, Ball D, Mercer TH et al. Atrophy of non-locomotor muscle in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2074–2081.
20. Savazzi GM, Govoni E, Bragaglia MM et al. Ultrastructural findings of uraemic muscular damage: functional implications. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1983; 19: 258–265.
21. Adey D, Kumar R, McCarthy JT et al. Reduced synthesis of muscle proteins in chronic renal failure. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E219–E225.

22. Rooyackers OE, Adey DB, Ades PA et al. Effect of age on in vivo rates of mitochondrial protein synthesis in human skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15364–15369.
23. Zammit PS, Partridge TA, Yablonka-Reuveni Z. The skeletal muscle satellite cell: the stem cell that came in from the cold. *J Histochem Cytochem* 2006; 54: 1177–1191.
24. Collins CA, Olsen I, Zammit PS et al. Stem cell function, selfrenewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 2005; 122: 289–301.
25. Zhang L, Wang XH, Wang H et al. Satellite cell dysfunction and impaired IGF-1 signaling cause CKD-induced muscle atrophy. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 419–427.
26. Mitch WE, Du J, Bailey JL et al. Mechanisms causing muscle proteolysis in uremia: the influence of insulin and cytokines. *Miner Electrol Metab* 1999; 25: 216–219.
27. Langen RC, Schols AM, Kelders MC et al. Inflammatory cytokines inhibit myogenic differentiation through activation of nuclear factor-kappaB. *FASEB J* 2001; 15: 1169–1180.
28. Zhang L, Du J, Hu Z et al. IL-6 and serum amyloid A synergy mediates angiotensin II-induced muscle wasting. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 604–612.
29. Mitch WE, Goldberg AL. Mechanisms of muscle wasting: the role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med* 1996; 335: 897–905.
30. Du J, Wang X, Miereles C et al. Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. *J Clin Invest* 2004; 113: 115–123.
31. Bailey JL, Zheng B, Hu Z et al. Chronic kidney disease causes defects in signaling through the insulin receptor substrate/phosphatidylinositol 3-

- kinase/Akt pathway: implications for muscle atrophy. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1388–1394.
32. Boivin MA, Battah SI, Dominic EA. Activation of caspase-3 in the skeletal muscle during haemodialysis. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 903–910.
 33. Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17:1807–1819.
 34. Clarke BA, Drujan D, Willis MS, et al. The E3 Ligase MuRF1 degrades myosin heavy chain protein in dexamethasone-treated skeletal muscle. *Cell Metab.* 2007; 6:376.
 35. Du J, Wang X, Meireles CL, et al. Activation of caspase 3 is an initial step triggering muscle proteolysis in catabolic conditions. *J. Clin. Invest.* 2004; 113:115–123.
 36. Wang XH, Zhang L, Mitch WE, LeDoux JM, Hu J, Du J. Caspase-3 cleaves specific proteasome subunits in skeletal muscle stimulating proteasome activity. *J. Biol. Chem.* 2010; 285:3527–3532.
 37. Bailey JL, Wang X, England BK. The acidosis of chronic renal failure activates muscle proteolysis in rats by augmenting transcription of genes encoding proteins of the ATP-dependent Ubiquitin-proteasome pathway. *J Clin Invest* 1996; 97:1447–1453.
 38. Mitch WE. Influence of metabolic acidosis on nutrition. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 16–18.
 39. Pickering WP, Price SR, Bircher G et al. Nutrition in CAPD:serum bicarbonate and the ubiquitin-proteasome system in muscle. *Kidney Int* 2002; 61: 1286–12.
 40. de Brito-Ashurst I, Varagunam M, Raftery MJ et al. Bicarbonate supplementation slows progression of CKD and improves nutritional status. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 2075–2084.

41. Fouque D, Kalantar-Zadeh K, Kopple J et al. A proposed nomenclature and diagnostic criteria for protein-energy wasting in acute and chronic kidney disease Protein-energy wasting in kidney disease. *Kidney Int* 2008; 73: 391–398.
42. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:66–281.
43. Pfeifer M, Begerow B, Minne HW et al. Effects of a short-term vitamin D and calcium supplementation on body sway and secondary hyperparathyroidism in elderly women. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1113–1118.
44. Sorensen OH, Lund B, Saltin B et al. Myopathy in bone loss of ageing: improvement by treatment with 1 alpha-hydroxycholecalciferol and calcium. *Clin Sci* 1979; 56: 157–161.
45. Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T et al. Low-dose vitamin D prevents muscular atrophy and reduces falls and hip fractures in women after stroke: a randomized controlled trial. *Cerebrovasc Dis* 2005; 20: 187–192
46. Yoshikawa S, Nakamura T, Tanabe H et al. Osteomalacic myopathy. *Endocrinol Jpn* 1979; 26: 65–72
47. Boland R. Role of vitamin D in skeletal muscle function. *Endocrinol Rev* 1986; 7: 434–448
48. Fahal IH. An objective analysis of muscle weakness and fatigue in renal dialysis patients. MD thesis. University of Liverpool,UK 1997, pp. 99–127.
49. Song Y-H, Yangxin Li Y, Du J et al. Muscle-specific expression of IGF-1 blocks angiotensin II-induced skeletal muscle wasting. *J Clin Invest* 2005; 115: 451–458.
50. Allen RE, Boxhorn LK. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by transforming growth factor- β , insulin-like growth factor I, and fibroblast growth factor. *J Cell Physiol* 1989; 138: 311–315.

51. Li Y, Foster W, Deasy BM et al. Transforming growth factor- β 1 induces the differentiation of myogenic cells into fibrotic cells in injured skeletal muscle: a key event in muscle fibrogenesis. *Am J Pathol* 2004; 164: 1007–1019.
52. Cohn RD, van Erp C, Habashi JP et al. Angiotensin II type 1 receptor blockade attenuates TGF- β -induced failure of muscle regeneration in multiple myopathic states. *Nat Med* 2007; 13: 204–210.
53. Burks TN, Andres-Mateos E, Marx R et al. Losartan restores skeletal muscle remodeling and protects against disuse atrophy in sarcopenia. *Sci Transl Med* 2011; 3: 8237.
54. Bellisle F, Dartois AM, Kleinknecht C et al. Alteration of the taste for sugar in renal insufficiency: study in the child. *Néphrologie* 1995; 16: 203–208
55. Sharma K, Considine RV. The Ob protein (leptin) and the kidney. *Kidney Int* 1998; 53: 1483–1487
56. Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A et al. Associations between plasma ghrelin levels and body composition in end-stage renal disease: a longitudinal study. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentration in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 2748–2752.
57. Storer TW, Magliano L, Woodhouse L et al. Testosterone dose dependently increases maximal voluntary strength and leg power, but does not affect fatigability or specific tension. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1478–1485.
58. Carrero JJ, Qureshi AR, Nakashima A et al. Prevalence and clinical implications of testosterone deficiency in men with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 184–190.
59. Dunkel L, Raivio T, Laine J et al. Circulating luteinizing hormone receptor inhibitor(s) in boys with chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 51: 777–784.

60. Phillips SK, Rook KM, Siddle NC et al. Muscle weakness in women occurs at an earlier age than in men, but strength is preserved by hormone replacement therapy. *Clin Sci* 1993; 84:95–98.
61. Silbiger S, Neugarten J. The impact of gender on the progression of chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1995; 25:515–533.
62. Neugarten J, Anjaliacharya J, Silbiger S. Effect of gender on the progression of nondiabetic renal disease: a meta-analysis. *J AmSoc Nephrol* 2000; 11: 319–329.
63. Lennie TA. Sex differences in severity of inflammation-induced anorexia and weight loss. *Biol Res Nurs* 1994; 5: 255–264.
64. Lu H, Lei X, Klaassen C. Gender differences in renal nuclear receptors and aryl hydrocarbon receptor in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney Int* 2006; 70: 1920–1928.
65. Mahesh S, Kaskel F. Growth hormone axis in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 41–48.
66. Eidemak I, Feldt-Rasmussen B, Kanstrup IL et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia in mild to moderate progressive chronic renal failure and its association with aerobic work capacity. *Diabetologia* 1995; 38: 565–572.
67. Kato Y, Hayashi M, Ohno Y et al. Mild renal dysfunction is associated with insulin resistance in chronic glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 2000; 54: 366–373.
68. Kobayashi S, Maesato K, Moriya H et al. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2005;45: 275–280.
69. Alvestrand A. Carbohydrate and insulin metabolism in renal failure. *Kidney Int* 1997; 52: S48–S52.

70. Mak RH, DeFronzo RA. Glucose and insulin metabolism in uremia. *Nephron* 1992; 61: 377–382.
71. Johansen KL, Chertow GM, Ng AV et al. Physical activity levels in patients on hemodialysis and healthy sedentary controls. *Kidney Int* 2000; 57: 2564.
72. Lee, S.J. & McPherron, A.C. (2001) Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 9306–9311.
73. Gonzalez-Cadavid, N.F., Taylor, W.E., Yarasheski, K. et al. (1998) Organization of the human myostatin gene and expression in healthy men and HIV-infected men with muscle wasting. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 14938–14943.
74. Rios, R., Fernandez-Nocelos, S., Carneiro, I. et al. (2003) Differential response to exogenous and endogenous myostatin in myoblasts suggests that myostatin acts as an autocrine factor in vivo. *Endocrinology*, 145, 2795–2803.
75. Langley B, Thomas M, Bishop A, Sharma M, Gilmour S, Kambadur R: Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression. *J Biol Chem* 2002; 277:49831–49840.
76. Yang W, Zhang Y, Li Y, Wu Z, Zhu D: Myostatin induces cyclin D1 degradation to cause cell cycle arrest through a phosphatidylinositol
77. Zimmers, T. A., Davies, M. V., Koniaris, L. G., Haynes, P., Esquela, A. F., Tomkinson, K. N., McPherron, A. C., Wolfman, N. M., and Lee, S.-J. (2002) Induction of cachexia in mice by systemically administered myostatin. *Science* 296, 1486–1488.
78. Chun-Rong Ju, Rong-Chang Chen, et al. Serum myostatin levels and skeletal muscle wasting in chronic obstructive pulmonary disease *Respiratory Medicine* 2012 106, 102e108

79. Garcí'a PS, Cabbabe A, Kambadur R, et al. Brief-reports:elevated myostatin levels in patients with liver disease:a potential contributor to skeletal muscle wasting. *Anesth Analg* 2010;111:707-9.
80. C.Estibaliz , A. Hirokazu et al.Cardiac myostatin upregulation occurs immediately after myocardial ischemia and is involved in skeletal muscle activation of atrophy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015;457:106-11
81. J.Heineke, M. Auger-Messier, J.Xu, et al.Genetic deletion of myostatin from the heart prevents skeletal muscle atrophy in heart failure.*Circulation* 121(2010)419-425
82. K.Lenk, R.Schur, A.Linke, et al. Impact on exercise training on myostatin expression in myocardium and skeletal muscle in a chronic heart failure model. *Eur.J.Heart Fail.*11(2009)342-348.
83. Han D-S, Chu-Su Y, Chiang C-K, Tseng F-Y, Tseng P-H, et al. (2014) Serum Myostatin Is Reduced in Individuals with Metabolic Syndrome. *PLoS ONE* 9: e108230.
84. Brandt C, Nielsen AR, Fischer CP, Hansen J, Pedersen BK, et al. (2012) Plasma and muscle myostatin in relation to type 2 diabetes. *PLoS ONE* 7: e37236.
85. Stenvinkel, P., Ketteler, M., Johnson, R. J., Lindholm, B.,Pecoits-Filho, R., Riella, M., Heimbürger, O., Cederholm, T.,and Girndt, M. (2005) IL-10, IL-6, and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, the bad, and the ugly. *Kidney Int.* 67, 1216–1233.
86. Zhang, L., Cui, R., Cheng, X., and Du, J. (2005) Antiapoptotic effect of serum and glucocorticoid-inducible protein kinase is mediated by a novel mechanism activating I κ B kinase. *Cancer Res.* 65, 457–464.
87. Sandri, M., Sandri, C., Gilbert, A., Skuck, C., Calabria, E., Picard,A., Walsh, K., Schiaffino, S., Lecker, S. H., and Goldberg, A. L.(2004) Foxo transcription

factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 117, 399–412.

88. 33. Lee, S. W., Dai, G., Hu, Z., Wang, X., Du, J., and Mitch, W. E. (2004) Regulation of muscle protein degradation: coordinated control of apoptotic and ubiquitin-proteasome systems by phosphatidylinositol 3 kinase. *J. Am. Soc. Nephrol.* 15, 1537–1545.
89. 34. Satchek, J. M., Ohtsuka, A., McLary, S. C., and Goldberg, A. L. (2004) IGF-1 stimulates muscle growth by suppressing protein breakdown and expression of atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 287, E591–E601.
90. Zhang, L., Du, J., Hu, Z., Han, G., Delafontaine, P., Garcia, G., and Mitch, W. E. (2009) IL-6 and serum amyloid A synergy mediates angiotensin II-induced muscle wasting. *J. Am. Soc. Nephrol.* 20, 604–612.
91. Philip, B., Lu, Z., and Gao, Y. (2005) Regulation of GDF-8 signaling by the p38 MAPK. *Cell. Signal.* 17, 365–375.
92. Shortreed, K., Johnston, A., and Hawke, T. J. (2008) Satellite cells and muscle repair. In *Skeletal Muscle Damage and Repair* (Tiidus, P. M., ed) pp. 77–88, Human Kinetics, Champaign, IL, USA
93. McCroskery, S., Thomas, M., Maxwell, L., Sharma, M., and Kambadur, R. (2003) Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. *J. Cell Biol.* 162, 1135–1147.
94. Welle, S., Bhatt, K., and Pinkert, C. A. (2006) Myofibrillar protein synthesis in myostatin-deficient mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290, E409–E415.
95. Lecker, S. H., Goldberg, A. L., and Mitch, W. E. (2006) Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17, 1807–1819.

96. National Kidney Foundation: K/DOQI Clinical Practice Guidelines for nutrition in chronic renal failure. Am J Kidney Dis 35 (Suppl 2):1-140, 2000.
97. Demir M, Tonbul HZ. Son dönem böbrek yetmezlikli hastalarda malnutrisyon inflamasyon-ateroskleroz (MIA Sendromu).Turk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi 14: 160-165, 2005.
98. Sital A,Çavdar C, Yeniçerioğlu Y, ve ark. Vücut Kompozisyonunu Değerlendirmede Kullanılan Yöntemler Ve Kronik Böbrek Yetmezlikli Hastalardaki Uygulama Alanları. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi.2002;11(4):189-190.
99. Schenker S. Macroelements, water and electrolytes in sports nutrition. Eur J Clin Nutr. Jun 2000;54(6):526.
100. Roubenhoff R, Kehajas JJ, Dawson-Hughes B, et al. Use of dual-energy x-ray absorptiometry in body composition studies: Not yet a "gold standard.". Am J Clin Nutr 1993;58: 589-591.
101. Morgan M, Madden A. The assessment of body composition in patients with cirrhosis. Eur J Nucl Med 1995; 23: 213-225.
102. Kohrt WM. Body composition by DXA: Tried and true?Med Sci Sports Exerc 1995; 27: 1349-1353.
103. Mazess RB, Barden HZ, Bissek JP, et al. Dual-energy xray absorptiometry for total body and regional bone mineral and soft tissue composition. Am J Clin Nutr 1990; 51:1106-1112.
104. Georgiou E, Virvidakis K, Douskas G, et al. Bodycomposition changes in hemodialysis patients before and after hemodialysis as assessed by dual-energy x-ray absorptiometry. Metabolism 1997; 46: 1059-1062.
105. Stenver DI, Godfredsen A, Hilsted J, et al. Bodycomposition in hemodialysis patients measured by dual dualenergy x-ray absorptiometry. Am J Nephrol 1995;15: 105-111.

106. Metry G, Malimin H, Wikstrom B, et al. Proportional changes in body fluid with hemodialysis evaluated by dual-energy x-ray absorptiometry and transthoracic bioimpedance with particular emphasis on the thoracic region. *Artificial Organs* 1997; 21: 969-97.
107. Zhang, L, Rajan, V, Lin E, Pharmacological inhibition of myostatin suppress systemic inflammation and muscle atrophy in mice with chronic kidney disease. *FASEBJ*. 25, 1653–1663 (2011).
108. Wang F, Liao Y, Li X et al. Increased Circulating Myostatin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus *J Huazhong Univ Sci Technol [MedSci]* 32(4):534-539, 2012.
109. Isoyama N, Qureshi AR, Avesani CM, Lindholm B, Båråny P, Heimbürger O, Cederholm T, Stenvinkel P, Carrero JJ. Comparative associations of muscle mass and muscle strength with mortality in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014 Oct 7;9(10):1720-8.
110. Han D-S, Chen Y-M, Lin S-Y et al. Serum myostatin levels and grip strength in normal subjects and patients on maintenance haemodialysis. *Clinical Endocrinology* (2011) 75, 857–863.
111. Lakshman K M, Bhasin S, Corcoran C, Collins-Racie LA, Tchistiakova L, et al. (2009) Measurement of myostatin concentrations in human serum: Circulating concentrations in young and older men and effects of testosterone administration. *Mol Cell Endocrinol* 302: 26–32.
112. Sital A, Çavdar C, Çelik A, ve ark. Vücut Kompozisyonu Değişikliklerini Saptamada Dual-Enerji X-Ray Absorbsiyometri ve Biyoelektrik İmpedans; Bir Hemodiyaliz Seansının Etkisini Saptama İki Yöntemin Karşılaştırılması Analizi. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi*. 2001;10(4):244-248

113. Kim J, Wang Z, Heymsfield SB, Baumgartner RN, Gallagher D. Total-body skeletal muscle mass: estimation by a new dual-energy X-ray absorptiometry method. *Am J Clin Nutr.* 2002 Aug;76(2):378-83.
114. Sun DF, Chen Y, Rabkin R. Work-induced changes in skeletal muscle IGF-I and myostatin gene expression in uremia. *Kidney Int.* 2006;70: 453–9.
115. Wang H, Casaburi R, Taylor WE et al. Skeletal muscle for IGF-I, IGF-II and IGF-I receptor is decreased in sedentary chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2005; 68: 352–361.

EKLER

EK-1: Etik Kurul Karar Formu

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU				
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI:		Kronik hemodiyaliz hastalarında serum myostatin düzeyi ve kas kitlesi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU:				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SIGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐		
	BİYOLÖK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SÖNÜÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER	☐		
	KARAR BİLGİLERİ	Karar No:09-391-14	Tarih: 26 Mayıs 2014	
Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Mehmet MELLİ							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilgili		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	M. Melli
Prof. Dr. Cihan YURDAYDIN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	C. Yurdaydin
Prof. Dr. Mehmet GÜREL	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	M. Gürel
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY	Farmakoloji	A.Ü. Eczacılık Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	T. Özçelikay
Prof. Dr. Cem ATBAŞOĞLU	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	C. Atbaşoğlu
Prof. Dr. Sertan ÖZTÜRK	Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	S. Öztürk
Prof. Dr. Serap SIVRI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	S. Sivri
Prof. Dr. Zeynep ŞENOCAN	Hukuk	A.Ü. Hukuk Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Z. Şenocan
Prof. Dr. Banu ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	B. Çakır
Prof. Dr. Gökhan UTKAN	Tıbbi Onkoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	G. Utkan
Doç. Dr. A. Rahi SOYLU	Biyofizik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	A. Söylü
Doç. Dr. Derviş ÖZTUNA	Biyostatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	D. Öztuna
Yrd. Doç. Dr. Nüket KUTLAY	Tıbbi Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	N. Kutlay
Dr. Dr. Önder İLGİLİ	Tıp Tarih ve Etik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	O. İlgi
Gülşüm ASLAN	Arkeoloji	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	G. Aslan

* Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Mehmet MELLİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanının imzası

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik hemodiyaliz hastalarında serum myostatin düzeyi kas kitlesi arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ

KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Gökhan NERGİZOĞLU			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Nefroloji			
KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Nefroloji Bilim Dalı			
DESTEKLEYİCİ				
DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐		
	FAZ 2	☐		
	FAZ 3	☐		
	FAZ 4	☐		
	Gözlemsel ilaç çalışması	☐		
	İlaç dışı klinik araştırma	☐		
	Diğer ise belirtiniz: Kesitsel çalışma			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet MELLİ
İmza:

M. Mellî

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması zorunludur.

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU