



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ AKUT
BÖBREK YETMEZLİĞİNDE ETANERSEPT'İN
KORUYUCU ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Mehmet KARA

KAYSERİ-2015



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ AKUT
BÖBREK YETMEZLİĞİNDE ETANERSEPT'İN
KORUYUCU ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Hazırlayan

Dr. Mehmet KARA

Danışman

Doç. Dr. Hasan Basri ULUSOY

Bu Çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
TTU-2014-5358 No'lu Kod ile Desteklenmiştir.

KAYSERİ-2015

TEŞEKKÜR

Tez çalıŐmamın planlaması ve yürütülmesinde bilimsel katkılarından ve manevi desteğinden dolayı tez danışmanım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Hasan Basri ULUSOY'a, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Aydın ERENMEMİŐOĐLU, Yrd. Doç. Dr. Zafer SEZER, Öğr. Gör. Dr. Ahmet İNAL'a, desteklerinden dolayı Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ'e, asistanlık sürecini birlikte geçirdiğimiz Uz. Dr. Özlem ERÇAL'a, yardımlarıyla yanımda olan Dr. Zeynep SOYER'e ve ArŐ. Gör. Emin KAYMAK'a, bugünlere gelmemde büyük fedakarlıkları ve emekleri olan annem babam ve kardeşlerim'e, güler yüzüyle ve sevgisiyle bana destek olan sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet KARA

KAYSERİ 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
TABLO LİSTESİ	v
ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. BÖBREĞİN TEMEL FONKSİYONLARI.....	3
2.2. İDRAR OLUŞUM MEKANİZMASI	3
2.3. BÖBREKLERİN ASİT-BAZ DENGESİNDE ROLÜ.....	5
2.4. BÖBREK FONKSİYONLARINI DEĞERLENDİRMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER	5
2.5. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	7
2.6. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ TANISI	11
2.7. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİNDE GÖRÜLEBİLEN KOMPLİKASYONLAR.....	12
2.8. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ TEDAVİSİ	13
2.8.1 ABY Komplikasyonların Tedavisi	13
2.8.2. Prerenal ABY’de Tedavi	14
2.8.3. Renal-İntrensek ABY’de Tedavi	14
2.8.4. Postrenal ABY’de Tedavi.....	15
2.8.5. ABY’de Diyaliz Tedavisi	15
2.9. DENEYSEL ABY OLUŞTURMADA KULLANILAN YÖNTEMLER.....	16
2.10. TÜMÖR NEKROTİZAN FAKTÖR ALFA (TNF- α).....	18

2.11. TNF- α İNHİBİTÖRLERİ.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. DENEY HAYVANLARI VE ÇEVRE KOŞULLARI.....	21
3.2. DENEY PROSEDÜRÜ.....	21
3.3. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR	22
3.4. DENEYLERDE KULLANILAN DROGLAR	23
3.5. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ OLUŞTURULMASI.....	23
3.6. SERUM ÖRNEĞİNDE KAN ÜRE AZOTU ÖLÇÜMÜ	24
3.7. SERUM ÖRNEĞİNDE SİSTATİN-C ÖLÇÜMÜ	25
3.8. SERUM ÖRNEĞİNDE KREATİNİN ÖLÇÜMÜ	26
3.9. HİSTOLOJİK TAKİP	26
3.10. TUNEL BOYAMA	28
3.11. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	29
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇLAR	49
EKLER.....	62
Ek-1 : Etik Kurul Onay Sayfası.....	62

KISALTMALAR

ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ADE	: Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
BUN	: Kan Üre Azotu
CAD	: Caspase Activated Deoksiribonükleaz
DEKAM	: Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi
dl	: Desilitre
ETN	: Etanersept
H&E	: Hematoksilen Eosin
İ.p.	: İntraperitonal
KBY	: Kronik Böbrek Yetmezliği
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
NaHCO ₃	: Sodyum Bikarbonat
NF-kB	: Nüklear Faktör Kappa-B
NSAİİ	: Non-Steroid Anti-Inflamatuar İlaçlar
SH	: Ortalamanın Standart Hatası
TNFR1	: Tümör Nekrotizan Faktör Reseptör-1
TUNEL	: Terminal Deoxynucleotidyltransferase-Mediated D utp Nick End Labeling
µL	: Mikrolitre

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Akut Böbrek Yetmezliğinde Ayırıcı Tanı	10
Tablo 2:Deney Grupları	22
Tablo 3: Deneyleerde Kullanılan Cihazlar	22
Tablo 4: Deneyleerde Kullanılan Droglar.....	23
Tablo 5: Işık Mikroskopu Doku Hazırlama Tekniği.....	27
Tablo 6: Hematoksilen-Eozin boyama tekniği.....	28
Tablo 7: Çalışma sırasında ölen farelerin gruplara olan dağılımı	30
Tablo 8: ABY grubu ağırlık değişim tablosu.....	31
Tablo 9: ABY + 0,7 mg ETN grubu ağırlık değişim tablosu.....	31
Tablo 10: ABY + 3.5 mg ETN grubu ağırlık değişim tablosu.....	31
Tablo 11: ABY + 7 mg ETN grubu ağırlık değişim tablosu.....	32
Tablo 12: ABY + Yardımcı Madde grubu ağırlık değişim tablosu	32
Tablo 13: Kontrol grubu ağırlık değişim tablosu	32
Tablo 14: Sadece Etanersept grubu ağırlık değişim tablosu	33
Tablo 15: 7. Gün - 0. Gün ağırlık farkı	33
Tablo 16: BUN, kreatinin ve sistatin-c değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması	34
Tablo 17: Gruplara ait böbrek dokusundaki apoptotik indeks.....	41

ŞEKİL ve GRAFİK LİSTESİ

Şekil 1: BUN Değerleri.....	34
Şekil 2: Serum kreatinin değerleri	35
Şekil 3: Serum sistatin c değerleri	35
Şekil 4: Kontrol grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.	37
Şekil 5: Sadece etanersept verilen grubun böbrek dokusuna ait histolojik görüntü. ...	37
Şekil 6: ABY grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.	38
Şekil 7: ABY grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.	38
Şekil 8: ABY + yardımcı madde verilen grubun böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.....	39
Şekil 9: ABY+0.7 mg/kg etanersept grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü...39	
Şekil 10: ABY+3,5 mg/kg etanersept grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü...40	
Şekil 11: ABY + 7 mg/kg etanersept grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü....40	
Şekil 12: Tüm gruplara ait böbrek dokularındaki apoptotik hücreleri (ok) gösteren TUNEL boyama.	41
Şekil 13: Apoptotik indeks	42

ÖZET

Giriş ve Amaç: Akut böbrek yetmezliği (ABY); glomerüler filtrasyon hızında (GFH) gelişen azalma ile hızlı fonksiyon kaybına bağlı olarak, özellikle üre ve diğer azotlu atık metabolitlerin vücutta birikmesiyle kan elektrolit içeriğinin bozulmasına neden olan klinik bir tablodur. Bu çalışmada günümüzde etkili farmakolojik tedavi yöntemi henüz geliştirilememiş olan ABY’de, etanersept’in koruyucu etkisini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 91 adet Balb-C ırkı dişi erişkin fare alındı. Bu fareler 7 gruba ayrıldı. Grup 1 (ABY grubu): intraperitoneal (i.p.) folik asit (250 mg/kg) enjeksiyonu ile ABY oluşturuldu. Beraberinde etanersept verilmedi. Grup 2, 3, 4 (tedavi grupları): i.p. folik asit (250 mg/kg) ile ABY oluşturuldu. Beraberinde etanersept i.p. enjeksiyonla grup 2, 3, 4’e sırasıyla 0.7 mg/kg, 3.5 mg/kg ve 7 mg/kg dozlarında verildi. Grup 5 (ABY+yardımcı madde grubu): i.p. folik asit (250 mg/kg) enjeksiyonu ile ABY oluşturuldu. Etanersept solüsyonunda bulunan çözücü ve yardımcı maddeler (mannitol (E 421) 40mg/ml, sukroz 10 mg/ml, trometamol 1.2 mg/kg, trometamin HCl (pH ayarlamak için)) 0,2 ml i.p. enjeksiyonla verildi. Grup 6 (kontrol grubu): ABY oluşturulmadı. Koruyucu amaçlı etanersept verilmedi. Grup 7 (sadece etanersept grubu): ABY oluşturulmadı. Etanersept i.p. enjeksiyonla 7 mg/kg dozunda verildi. Çalışmanın 7. gününde alınan serum örneklerinden kan üre azotu (BUN), serum kreatinin ve serum sistatin-c düzeyleri ölçüldü. Cerrahi olarak çıkarılan böbrekler Hematoksilen-Eosin ve Tunel boyama teknikleriyle boyanıp histolojik olarak incelendi.

Bulgular: ABY grubunun sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ABY modelinin oluştuğu, histolojik ve biyokimyasal olarak gösterildi. ABY grubunun tedavi gruplarıyla karşılaştırılmasında histolojik bulgular, biyokimyasal sonuçlar ve kilo kaybı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi.

Sonuç: Etanersept’in ABY gelişimine karşı koruyucu etki gösterdiği ve bu etkiyi moleküler düzeyde apoptozis mekanizmasını bloke ederek yaptığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Etanersept, Akut Böbrek Yetmezliği, TNF- α , Folik Asit

ABSTRACT

Aim: Acute renal failure (ARF) is a kind of clinic syndrome that causes abrupt and sustained decline in the glomerular filtration rate (GFR), which leads to accumulation of nitrogenous waste products and uremic toxins. In this work, it has been aimed to search the protective effect of Etanercept during the ARF whose effective pharmacologic treatment method has't been improved, yet.

Materials and Methods: 91 adult Balb-C female mice which were taken for this study. Mice were generated 7 groups. Group 1 (ARF group): ARF was created with the folic acid intraperitoneal injection on the dose of 250 mg/kg. Group 2,3,4 (treatment groups): For these 3 groups, ARF was created with the folic acid intraperitoneal injection on the dose of 250mg/kg. Afterwards, as the failure preventive, the doses of 0,7mg/kg, 3,5mg/kg and 7 mg/kg were given with Etanercept intraperitoneal injection respectively to the groups 2, 3, 4. Group 5: ARF was created followed by the solvent and helper items (mannitol (E 421) 40mg/ml, sukroz 10 mg/ml, trometamol 1.2 mg/kg, tromethamine HCl (to set the Ph level)) which are only used during the etanersept subcutan injection were given with 0,2 ml intraperitoneal injection. Group 6 (control group): Acute renal failure wasn't created. Etanersept wasn't given with the protective purpose. Group 7: It was given 7 mg/kg with the etanersept intraperitoneal injection. Levels of blood urea azote, creatinine and cyctatin-c were measured on the 7th day of the work. The kidneys which were taken out as surgery were checked as histologic by painting with Tunel and hematoxylin-eosin.

Results: The results of the ARF group were compared with the control group, which consists of the ARF models were shown histologically and biochemically. In the treatment groups compared to ARF group, histological findings and biochemical results and weight loss differences in statistically significant were determined.

Conclusion: Administration of etanercept by intraperitoneal injection may prevented folic acid induced ARF. Afterward assumed that this effect at the molecular level by blocking the apoptosis mechanism made.

Keywords: Etanercept, Acute renal failure, TNF- α , Folic acid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY); glomerüler filtrasyon hızı (GFH)'nın günler ve çoğu zaman saatler içerisinde akut azalmasıyla karakterize bir sendromdur. GFH'nın hızlı bir şekilde azalması; kanda nitrojen yıkım ürünlerinin birikmesiyle birlikte sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinde bozukluğa sebep olur (1–3).

ABY, etiolojisinde yer alan sebebe bağlı olarak yüksek morbidite ve mortalite oranlarına sahiptir. Hastanede yatan yoğun bakım hastalarının % 20-25'inde (4), diğer servislerle birlikte tüm hastaların ise %5'inde ABY geliştiği düşünülmektedir (5–7).

Etanersept genetik mühendisliği ile oluşturulmuş bir füzyon proteindir. Birbirinin aynı iki rekombinant insan tümör nekrotizan faktör (TNF) reseptör p75 monomerinin, insan IgG1 Fc bölgesi ile füzyonu sonucu oluşturulmuştur (8,9). Etanersept TNF- α 'ya ve TNF- β 'ya (lenfotoksin) kompetitif olarak bağlanarak hücre yüzeyindeki reseptörleriyle ilişkilerini önler (10,11).

Folik asit yüksek dozda intraperitoneal enjeksiyonu sonrası saatler içerisinde tübülüsleri etkileyerek ABY'ye neden olmaktadır (12,13).

Folik asitin ABY yapıcı etkisi üç farklı mekanizma ile olmaktadır:

- 1- Distal ve proksimal tübüler epitel hücrelerine direk olarak toksik etki
- 2- Kristal obstrüksiyon mekanizması

3- Enflamatuar hücre infiltrasyonu ile distal ve proksimal tübüler epitel hücreler üzerine akut olarak hasar yapmasıdır (14).

TNF- α inflammatuar olaylarda anahtar rol oynayan bir sitokindir. TNF- α ve TNF- β olmak üzere iki çeşit TNF vardır (15). Daha önce yapılan bir çalışmada TNF- α inhibisyonunun ABY'ye karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (16). Ancak bu çalışmada kullanılan TNF inhibitörü sadece deneysel çalışmalarda kullanılan bir monoklonal antikordur. İnsanlarda herhangi bir endikasyonda kullanımı mevcut değildir (16). Etanercept TNF- α 'nın yanında TNF- β 'yi da inhibe etmektedir. Ayrıca psöriazis, crohn hastalığı ve romatoid artrit gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmakta olan bir ilaçtır. Bu bilgiler ışığında etanersept ABY'nin önlenmesi için uygun bir ilaç olabilir. Bu çalışmada etanerseptin ABY'de koruyucu etkisi olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREĞİN TEMEL FONKSİYONLARI

Plazma hacim ve içeriğinin düzenlenmesi, kan basıncının ayarlanması, kan pH'sının, su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi, hücrelerde metabolizma sonucu oluşan ve kana verilen artık ürünlerden kanın temizlenmesi böbreklerin fonksiyonlarıdır.

Böbreklerde kanın filtrasyonu sonucu idrar oluşur. İdrar içerisinde üre ve ürik asit gibi nitrojen içeren metabolizma ürünleri atılır. Nitrojen ürünlerinin en önemli kaynağı proteinler ve pürin bazlarıdır. Pürin bazlarının metabolizması sonucu ürik asit, proteinlerin metabolizması sonucu ise amonyak oluşur. Amonyak, hücrelere oldukça toksik bir madde olduğu için karaciğerde üre haline dönüştürülür, daha sonra böbrekler tarafından ıtrah edilir (17–18).

2.2. İDRAR OLUŞUM MEKANİZMASI

İdrar oluşumunun 3 aşaması vardır:

- 1) Filtrasyon
- 2) Geri Emilme (Reabsorbsiyon)
- 3) Salgılama (Ekskresyon)

1. Filtrasyon:

Afferent arteriol ile glomerüler kapiller yumağa ulaşan kanın proteinleri ve hücreleri dışındaki tüm elemanları bowman kapsülü içine süzülür. Bu süzülen sıvı glomerüler filtrat olarak isimlendirilir. Glomerüler filtrat içeriği proteinler dışında plazmanın yapısı ile eşdeğer sayılabilir. GFH birim zamanda süzülen plazma miktarı olarak tanımlanır. GFH'nin normal değeri 125 ml/dk'dır (19–20).

Normalde böbrekler bir dakikada 125 ml yani günde 180 litre plazmayı filtre eder. Böbreklerde filtre edilen plazma miktarı bu kadar yüksekken, günde çıkarılan idrar miktarı ortalama 1-1.5 litre kadardır. İdrar miktarını sıvı-elektrolit dengesiyle birlikte tübülüslerin fonksiyonu ve GFH'de meydana gelen değişiklikler belirler. GFH çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilir. Glomerül kapiller yatağı içindeki kanın hidrostatik basıncının azalması filtrasyonu azaltır. Kapiller yatağındaki hidrostatik basınç, afferent arteriol daralmasında, böbreğe gelen kan miktarının azalmasında (arteriyel kan basıncının düşmesi ve kan kayıpları gibi koşullarda) azalır. Buna karşı efferent arteriol daralması, basıncı yükseltir. Glomerül kapiller yatağındaki geçirgenlik artışları GFH'yi artırır. Bowman kapsülü içindeki sıvının basıncının artması filtrasyonu azaltır.

2. Geri Emilim (Reabsorbsiyon):

Filtrat içindeki su ve maddeler basit diffüzyon ve aktif taşıma ile önce tübülüs hücrelerine, buradan da kana geri emilirler. Maddelerin geri emilimleri organizmanın gereksinimi doğrultusunda düzenlenmektedir. Geri emilimin % 90'ı proksimal tübülüs bölgesinde yapılmaktadır. Bu bölgede geri emilen maddeler, neden oldukları ozmotik güç ile bir miktar suyun da geri emilimini sağlarlar. Tübülüslerde geri emilemeyen madde miktarının artması suyun geri emilimini azaltarak diürece neden olur. Diüretik ilaçlar, bazı maddelerin geri emilimini engelleyerek, mannitol ise tübülüslerden reabsorbe olamadığı için diürece neden olmaktadır (17).

Aldosteron distal tübülüs bölgesine etki ederek Na iyonunun geri emilimini artırırken K iyonunun idrar ile atılmasını hızlandırır. ADH ise toplayıcı kanalların suya olan geçirgenliğini kontrol etmektedir. ADH varlığında toplayıcı kanallarda suyun geri

emilimi artar ve konsantre idrar çıkarılır. ADH yokluğunda idrar ile çıkarılan su miktarının artması ile idrar dilüe olur.

Tübülüslerden aktif taşınma ile geri emilen maddeler için bir eşik değer söz konusudur. Bu duruma en iyi örnek glukoz taşınmasıdır. Kan glukoz konsantrasyonu normal olduğu zaman glomerüllerden filtre olan glukozun hepsi proksimal tübülüs bölgesinde aktif taşınma ile geri emilir. Kan glukoz konsantrasyonu normalden yüksek olduğu zaman glukozun fazlası geri emilemez ve glukoz idrara çıkar. Geri emilemeyip tübülüs sıvısı içinde kalan glukoz, ozmotik güç oluşturarak suyu da beraberinde sürükler ve poliüri meydana gelir (17) .

3. Salgılama (Ekskresyon):

İdrar oluşması sırasında bazı maddeler doğrudan tübülüs epitelyum hücreleri tarafından tübülüsler içine salgılanmaktadır. Penisilin bu tip maddelere iyi bir örnektir. Bazı maddeler ise hem glomerül filtrasyonu yoluyla hem de ekskresyon ile idrara çıkmaktadır. Bu tip maddeye en iyi örnek ise kreatinindir (11–12).

2.3. BÖBREKLERİN ASİT-BAZ DENGESİNDE ROLÜ

Böbrekler organizmanın asit-baz dengesinin düzenlenmesinde önemli paya sahip organlardır. Vücut sıvılarındaki H^+ iyonu arttığında (asidozda) böbrekler idrar ile H^+ iyonu atılmasını hızlandırır. Kanda bikarbonat (HCO_3) iyonunun konsantrasyonunu yükseltmek için bikarbonatın reabsorbsiyonunu arttırlar. Alkalozda ise idrar ile bikarbonat atılımını hızlandırır. Vücut sıvılarının pH'sı çok dar sınırlar içinde sabit tutulmaya çalışılırken idrarın pH'sı 4.5 ile 8 arasında değişim gösterir (21–22).

2.4. BÖBREK FONKSİYONLARINI DEĞERLENDİRMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Böbrek fonksiyonunu değerlendirmede renal plazma ve kan akımı, GFH ve filtrasyon fraksiyonu gibi yöntemler kullanılabilir. Ancak en uygun yol GFH'nin değerlendirilmesidir.

Renal plazma ve kan akımı daha çok klinik ve deneysel çalışmalarda kullanılmaktadır. Renal kan akımı 1200 ml/dk, renal plazma akımı 600 ml/dk'dır. Bu akımın yaklaşık % 20'si ultrafiltrata geçer. GFH normal bir erişkinde 125 ml/dk/1.73 m²'dir. Bu da günlük 180 litrelik bir ultrafiltratı oluşturur (21–22).

Klinik pratikte böbreklerin fonksiyonlarının değerlendirilmesi GFH'nin hesaplanması ya da daha basit testlere dayalı olarak GFH'nin tahmini ile yapılır. Bunun için ideal olan maddenin kana sabit bir hızla girmesi (endojen ya da ekzojen), hücre dışı sıvıda serbestçe dağılması, proteine bağlanmaması, glomerüllerden serbestçe filtre olması, renal metabolizmasının olmaması, tübüler reabsorbsiyonunun ve sekresyonunun olmaması, böbrek dışı eliminasyonunun olmaması, kandaki diğer bileşiklerle etkileşime girmemesi ve GFH üzerinde herhangi bir etkisinin olmaması gereklidir (23). Ayrıca, bu özellikleri taşıyan maddenin tespit yönteminin ucuz, güvenilir ve kesin olması gereklidir. Bu değerlendirme basitten karmaşığa doğru serum üre ve kreatinin düzeylerinin ölçümü, yaşa göre kreatinin klirensinin hesaplanması, sistatin-c düzeyinin ölçümü, sintigrafik yöntemler ve inülin klirensi ölçümü ile yapılabilir (21,24).

Üre karaciğer tarafından protein metabolizması sonucunda ortaya çıkan amonyaktan sentezlenen bir maddedir. Günümüzde birçok laboratuvar üre içindeki nitrojeni ölçerek BUN sonucunu vermektedir. Üre ve BUN arasındaki ilişki; $\text{üre} = \text{BUN} \times 2.14$ olarak formüle edilebilir (22). Kan BUN düzeyleri laboratuvaradan laboratuvara değişmekle birlikte 10- 21 mg/dl'dir. Karaciğerde sentezlendiği ve tübüler reabsorbsiyonu da olduğu için renal fonksiyon bozukluğu olmadan da kan BUN düzeylerinde değişimler olabilmektedir. Artmış protein alımı, aminoasit infüzyonu, GIS kanaması, her türlü katabolik durumlar ile kortikosteroid veya tetrasiklin kullanımı artmış BUN düzeylerine yol açabilmektedir (25). Protein eksikliği (ciddi malnütrisyon, çölyak, nefrotik sendrom), akut ya da kronik ağır karaciğer hastalığı gibi durumlarda kan BUN düzeyleri düşük çıkabilmektedir (22,26).

Kreatinin kas metabolizması sonucunda kreatinden oluşur ve yapım oranı kas kitlesi ile yakından ilgilidir. Sağlıklı bir insanda kreatininin tübüler sekresyonu % 10-15'tir, ilerlemiş böbrek yetmezliğinde bu oran % 40'lara kadar çıkabilir (27–28). Pratikte serum kreatinin düzeyi böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede üreye göre daha

değerlidir. Ağır egzersiz ya da travma gibi kaslardan artmış kreatinin salınımında, kreatinin düzeyi böbrek fonksiyon bozukluğu olmadan da yüksek olabilir. Oral kreatin kullanan sporcularda da kreatinin düzeyi geçici olarak yüksek bulunabilir (29–30). GFH'si düşük olan hastalarda tübüler sekresyonu inhibe eden trimetoprim, simetidin, amilorid gibi ilaçların kullanılması durumunda kreatinin daha yüksek olabilir. Kas kitlesi aşırı miktarda azalmış malnütrisyonlu hastalarda azalmış kreatinin yapımı sonucunda kreatinin düşük bulunabilir. Gebeliğin ikinci trimesterinde ve diyabetik nefropatinin ilk evresi olan hiperfiltrasyon evresinde artmış kan akımı ve GFH'ye bağlı olarak kreatinin düzeyi düşük olabilir (22,26–27).

2.5. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

ABY hızla gelişen ve ilerleyen akut seyreden klinik bir tablodur. Kronik böbrek yetmezliğinden farkı GFH düşüşü daha hızlı olmaktadır. İdrar çıkışı değişken olmakla birlikte genellikle oligüri (günde 400 ml'den daha az idrar çıkışı) veya anüri (günde 100 ml'den daha az idrar çıkışı) oluşur (31–33). Nadiren idrar hacminde değişiklik olmayabilir (34–35).

Böbrek fonksiyonlarında azalma sonucu nitrojen yıkım ürünlerinin atılımı tam olarak gerçekleşemez. ABY iştahsızlık, bulantı ve kusma gibi belirtilerle birçok organ ve sistemi etkileyen bir tablo oluşturur. Sıvı ve elektrolit dengesinin korunamamasıyla birlikte hiponatremi, hiperfosfatemi ve hiperkalemi görülebilir (34,36–39).

ABY etiyolojisi; prerenal nedenler, renal (intrinsik) nedenler ve postrenal nedenler olarak üç ana grupta sınıflandırılabilir. Prerenal azotemi, genellikle ekstrasellüler sıvı kaybı sonucunda oluşur (kanama, kusma, ishal, diüretik vs). Böbrek parankim dokusu sağlamdır, böbrek perfüzyonun normale getirilmesi ile hızla düzelir. Ayrıca kalp yetersizliği, siroz gibi total vücut sıvısının normal veya fazla olduğu ancak efektif damar içi volümün az olduğu durumlarda prerenal azotemi görülür. Nadir görülen bir neden de hiperonkotik sıvıların fazla miktarlarda kullanılması sonucu GFR'deki azalmadır. Tedavi edilmeyen şiddetli renal hipoperfüzyon iskemik akut tübüler nekrozun (ATN) gelişmesine katkıda bulunabilir. Prerenal azotemi ve iskemik ATN sıklıkla bir aradadır ve ABY'li olguların %75 inden sorumludur (34,40).

Prerenal ABY sınıflaması ve ana sebepleri:

I. Hipovolemi:

A. Kanamalar

B. Gastrointestinal sistemden sıvı kaybı: kusma, cerrahi drenaj, ishal

C. Böbrekten sıvı kayıpları: diüretikler, ozmotik diürez, hipoadrenalizm, diabetes insipidus

D. Damar dışı alanda sıvı birikimi: pankreatit, peritonit, travma, yanık, hipoalbuminemi

II. Kalp debisinde azalma:

A. Miyokard, kalp kapakları ve perikard hastalıkları, aritmiler ve perikard tamponadı

B. Diğer: pulmoner hipertansiyon, ciddi pulmoner emboli, mekanik ventilasyon

III. Azalmış renal/sistemik vasküler direnç oranı:

A. Sistemik vazodilatasyon: sepsis, antihipertansifler, anestezi, anafilaksi

B. Renal vazokonstriksiyon: hiperkalsemi, katekolaminler, siklosporin, amfoterisin-B

C. Hepatorenal sendrom

IV. Böbreğin otoregülasyon cevabının azaldığı renal hipoperfüzyon:

A. Kalsinörin inhibitörleri, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ADEI), non-steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ) otoregülasyon cevabın azaldığı renal hipoperfüzyona sebep olabilir.

Renal (intrinsik) ABY; glomerül, tübülüsler, kapillerler, arteriyoller veya interstisyum gibi nefron bölümlerinin hasarlanması sonucunda gelişir. ABY li olguların yaklaşık % 35-40 ını oluşturur (1). Bunların da % 80-90'ı ise iskemiye ve/veya nefrotoksinlere bağlı olarak gelişen akut tübüler nekrozlu (ATN) olgulardır (1) (45–46).

Renal (intrinsik) ABY sınıflaması ve ana sebepleri:

I. Renovasküler tıkanıklık (iki taraflı veya çalışan tek böbrek varlığında tek taraflı):

A. Renal arter tıkanıklığı: aterosklerotik plak, tromboz, emboli, vaskülit

B. Renal ven tıkanıklığı: tromboz, bası

II. Renal mikrovasküler yatağın veya glomerüllerin hastalıkları:

A. İnflamatuvar: Glomerülonefrit, vaskülit, radyasyon

B. Vazospastik: malign hipertansiyon, gebelik toksemisi, skleroderma, hiperkalsemi, ilaçlar, radyokontrast maddeler

C. Hematolojik: Hemolitik üremik sendrom, trombotik trombositopenik purpura, yaygın damar içi pıhtılaşma

III. Akut tübüler nekroz:

A. İskemi: Hücre dışı volümün kaybı, düşük kalp debisi, renal vazokonstrüksiyon, NSAİİ, ADEİ

B. Toksinler:

1. Ekzojen: Radyokontrast maddeler, siklosporin, antibiyotikler, kemoterapi ilaçları, organik çözücüler (etilen glikol), asetaminofen

2. Endojen: myoglobin, hemoglobin, ürik asit, oksalat, myelom hafif zincirleri

IV. Tübulo-interstisyel nefrit:

A. Alerjik: Antibiyotikler, diüretikler, NSAİİ

B. Enfeksiyon: Bakteriyel, viral, fungal

C. İnfiltrasyon: Lenfoma, lösemi, sarkoidoz

D. Renal allograft reddi

Postrenal ABY sebebi olarak incelenen obstrüktif üropati ABY'nin %5'inden daha azından sorumludur ve genellikle yaşlı erkeklerde, tek böbrekli kişilerde ve intraabdominal malignitesi olanlarda görülür (41–42). Bu grup sıklıkla tedaviye iyi yanıt verir ve prognozu iyidir (34,43).

Postrenal ABY sınıflaması ve ana sebepleri:

A. Üreter tıkanması: Taş, pıhtı, debris, kanser, dıştan veya içten bası (aort anevrizması, retroperitoneal fibrozis, ürik asit veya sülfonamid kristalleri, üreter cerrahisi sonrası ödem, iyatrojenik gibi)

B. Mesane boynu: Nörojenik mesane, prostat hipertrofisi, taş, kanser

C. Üretra tıkanması: Striktür, konjenital valv, fimozis

Tablo 1: Akut Böbrek Yetmezliğinde Ayırıcı Tanı

ABY Tipi	Altta Yatan Problem
Prerenal	Damar içi volüm kaybı
	Kalp debisinde azalma
	Azalmış renal/sistemik vasküler direnç oranı
Renal	Renovasküler tıkanıklık
	Renal mikrovasküler yatağın veya glomerüllerin hastalıkları
	Akut tübüler nekroz
	Tübülo-interstisyel nefrit
Postrenal	Üreter tıkanması
	Mesane içi yer kaplayıcı lezyonlar
	Üretra tıkanması

ABY ile ayaktan başvuran hastalarda ilaç toksisitesi, akut intersitisyel nefrit, hücre dışı volümün kaybı, obstrüksiyon, glomerulonefrit, vaskülit ve sepsis, yatan hastalarda hücre dışı volümün kaybı, ilaç toksisitesi, kontrast nefropatisi, hipotansiyon ve sepsis sıklıkla saptanan sebeplerdir. ABY gelişmesinde çoğu kez birden çok sebebin katkısı vardır (43–44).

ABY en sık karşılaşılan şekli olan ve sıklıkla ABY ile sinonim olarak kullanılan ATN genelde iskemi (iskemik ABY) veya nefrotoksite (nefrotoksik ABY) sonucu gelişir (45). ATN %50 oranında iskemik, %35 oranında nefrotoksik nedenlere bağlı gelişir fakat hastaneye yatışı gerektiren ATN'nin %50'sinin etiyojisi çok nedenlidir (46–47).

2.6. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ TANISI

ABY'nin tanısız yaklaşımına detaylı bir öykünün alınması ve sistemik fizik muayenenin yapılması ile başlanır. Kan ve idrar testlerinden destekleyici veriler elde edilebilir. Tam kan sayımı, serum kreatinini, kan üre azotu, serum elektrolitleri, kalsiyum, fosfor, albumin, tam idrar tetkiki, idrar mikroskopisi, idrarda sodyum ve kreatinin düzeyi ve idrar ozmolaritesi düzeyleri bakılmalıdır. Gerekirse ileri tetkik istenerek ABY'nin daha nadir görülen sebepleri araştırılmalıdır (48–50).

ABY'de böbrek dokusunda görülebilen histolojik değişiklikler ABY tipine ve altta yatan nedene göre değişiklik gösterebilmektedir. Toksik maddeler tübüler epitel hücrelerine direk olarak toksik etki ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu ile akut olarak hasar yapabilir (14).

Tübülüslerde harabiyet sonucu, tübülüs mayii interstisyuma sızar ve interstisyel genişleme oluşur. Enflamatuvar hücre infiltrasyonu, tübülüs epitel hücrelerinde düzleşme ve tübülüslerde genişleme görülebilir. TNF- α gibi enflamatuvar sitokinlerin etkisiyle oluşan apoptozise ait değişiklikler ise özel boyama yöntemleriyle (TUNEL) gösterilebilir (14).

İskemi sonrası gelişen akut tübüler nekrozda başlangıçtaki iskemik olay düzelse bile kan akımı bozukluğu devam edebilmektedir. Reperfüzyon sırasında kan akımında % 40-50 oranında azalma devam edebilmektedir.

İskemik ABY sonrası endotelial geçirgenlik artmaktadır. Bu durum lökositlerin endotel hücrelerini geçerek doku aralığına sızmasını kolaylaştırmaktadır. Eritrosit ve lökositlerin medullada biriktikleri gösterilebilir. İskemi P ve E selektin ekspresyonu ve lökositlerin endotele adhezyonunu da artırır. Böylece hasarlanan endotel hücrelerinin nitrik oksit salgılamalarını azalttığı da gösterilebilir. Sonuçta apoptozise ve nekroza kadar ilerleyebilen bir histolojik tablo görülebilmektedir (51–52).

2.7. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİNDE GÖRÜLEBİLEN KOMPLİKASYONLAR

a) Sıvı yüklenmesi

- Akciğer ödemi

b) Perikardit

c) Elektrolit bozuklukları

- Hiperkalemi
- Hiperfosfatemi
- Hipokalsemi (nadiren hiperkalsemi)
- Hipermağnezemi

d) Nörolojik bozukluklar

- Duyu bozukluğu
- Periferik nöropati
- Konvülsiyonlar

e) Diğerleri

- İştahsızlık, bulantı, kusma
- Trombosit fonksiyon bozukluğu
- Anemi

Kardiyovasküler sorunlar çoğunlukla sıvı yüklenmesi ve elektrolit bozukluklarına bağlıdır. Perikardit muhtemelen biriken üremik toksinlerin bir sonucudur.

Yetersiz eritropoetin yapımı, eritrosit yapımının azalmasına ve anemiye neden olabilir, fakat bu mekanizma daha çok kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda gözlenmektedir. Buna karşılık, trombosit fonksiyon bozukluğu akut böbrek yetmezliğinde sık görülür.

Özellikle idrar yolu infeksiyonları olmak üzere enfeksiyonlar, ABY'de önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. İdrarda yeterli antibiyotik konsantrasyonu sağlanamadığından üriner sistem infeksiyonlarını ortadan kaldırmak zordur. Elektrolit ve asit baz bozuklukları sıktır ve en ciddi olanı hiperpotasemidir.

Somnolans, koma ve konvülziyon gibi nörolojik bozukluklar görülebilir ve sıklıkla diyalize başlama endikasyonu oluşturur. ABY'de görülen gastrointestinal kanamalar üremik koagülopati ve gastrit kombinasyonuna bağlıdır (53–58).

2.8. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ TEDAVİSİ

ABY'yi önlemek veya sonuçlarını iyileştirmek için bugüne kadar hiçbir etkili farmakolojik müdahale geliştirilememiştir (14).

2.8.1 ABY Komplikasyonların Tedavisi

Beslenme planı yeniden düzenlenmelidir. Amaç kalori ihtiyacını karşılamak, aynı zamanda katabolizmayı en aza indirmektir. Yağsız vücut ağırlığını korumaya yetecek ve açlık ketoasidozuna girmeyi önleyecek kadar kalori içeren ve doku iyileşmesine yetecek düzeyde protein içerip nitrojen atıkları en az düzeyde olan bir diyet uygulanmalıdır. Beslenmede enteral yol tercih edilmelidir. Eğer sıvı yüklenmesi mevcutsa; su ve tuz kısıtlaması yapılmalı, yeterli olmazsa diüretik kullanımı düşünülmelidir. Ayrıca böbrekten atılan ilaçların dozları kreatinin klirensine göre ayarlanmalıdır. Yüksek dozda (>200 mg/gün) üriner okzalat atılımına ve buna bağlı olarak taş oluşumuna neden olan vitamin C dışında, diğer suda çözünen vitaminlerin verilmesi de önerilmektedir (48, 59). Hipervolemi, hiperkalemi, hiperfosfatemi ve metabolik asidoz oligürik ABY'nin değişmez komplikasyonlarıdır ve tanı anından itibaren bunları önlemeye yönelik girişimlerde bulunulması önemli konulardan biridir.

ABY tedavisi yönetiminde prerenal, renal-intrensek, postrenal ABY ayırımının yapılması tedavinin şekillenmesini sağlayacaktır.

2.8.2. Prerenal ABY’de Tedavi

Prerenal ABY böbrek perfüzyonunun düzeltilmesine hızla cevap veren bir durumdur. Yapılacak olan sıvı replasman tedavisi gelişmiş olan kaybın şekline göre değişiklik göstermektedir. Kanamaya bağlı gelişen hipovolemiler özellikle de hasta hemodinamik olarak stabil değilse eritrosit transfüzyonu ile tedavi edilmelidir. Ancak aktif kanama yok ise veya hasta hemodinamik olarak stabilse izotonik sıvı ile volüm açığının düzeltilmesi yeterli olabilmektedir. Üriner veya gastrointestinal kayıplar genellikle hipotoniktir ve hipertonic solüsyonlarla düzeltilmelidirler (60).

Serum potasyum düzeyi ve asit-baz dengesi tüm hastalarda yakından takip edilmelidir. Gerekli hallerde potasyum replasmanı ve sodyum bikarbonat replasmanı yapılmalıdır. Kalp yetmezliği olan hastalar kıvrım diüretikler, antiaritmik ilaçlar, pozitif inotropik ilaçlar, önyük ve ardyük azaltan ilaçlarla tedavi edilebilirler. Bazı durumlarda da intraaortik balon pompası gibi mekanik desteklere gereksinim gösterebilmektedirler. Sıvı tedavisi, ABY gelişmiş sirozlu hastalarda önemli bir sorundur (61–62).

Bu hastalarda her ne kadar intrarenal vazokonstrüksiyon ve splanknik dolaşımında sıvı göllenmesi mevcutsa da, gerçek hipovolemi veya efektif arteriyel kan volümündeki azalma ABY’ye katkıda bulunabilmektedir. Bu hastalarda gerçek hipovoleminin katkısı invaziv sistemik hemodinamik monitörizasyon altında uygulanan “sıvı yükleme deneme tedavisi” ile anlaşılabilir. Hastanın asit sıvısında artma olabileceği veya akciğer ödemi gelişebileceği için sıvı yüklemesinin çok yavaş bir şekilde yapılması gereklidir. Parasentez uygulaması intrabdominal basıncın ve renal venlerdeki akımın iyileşmesiyle nadir de olsa GFH’de düzelmeye neden olabilmektedir (62).

2.8.3. Renal-İntrensek ABY’de Tedavi

Genel prensipler ve komplikasyonların tedavisine ek olarak ilaç kullanımı düşünülebilir. İskemik veya toksik ABY’de böbrek hasarını azaltmak ve böbrek fonksiyonlarının geri kazanılmasını hızlandırmak için birçok ilaç incelenmiştir. Düşük dozda dopamin (0.5-3

$\mu/\text{kg}/\text{dk}$) infüzyonu, atriyal natriüretik peptid, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve tiroksin gibi çeşitli maddeler pek çok araştırmaya konu olsa da, insanlarda böbrek hasarını azaltan veya böbrek fonksiyonlarının geri dönüşünü hızlandıran bir ilaç henüz bulunamamıştır. Diüretik tedavisi oligoürük ABY olan hastalarda sıvı tedavisini kolaylaştırır, ancak diüretik kullanımının ABY seyrini düzelttiğine dair bir veri mevcut değildir (59,63).

2.8.4. Postrenal ABY’de Tedavi

Özellikle akut bilateral ve tam tıkanıklık ile seyreden postrenal ABY tedavisinde ilk yapılması gereken işlem, tıkanıklığın giderilmesidir. Suprapubik veya üretral yoldan mesaneye kateter yerleştirilmesi mesane çıkışında olan tıkanıklığın giderilmesine yardımcı olacaktır. Daha üst seviyelerdeki tıkanıklıklarda üretral katater veya perkütan nefrostomi yerleştirilmelidir. Pelvikaliksiyel sistemde dilatasyonu olmayan bireylerde perkütan nefrostomi yerleştirilmesi zor olabileceği gibi komplikasyonlara da neden olabilmektedir. Tıkanıklığın giderilmesini takip eden birkaç gün içerisinde hastaların çoğunda uygun bir diürez sağlanırken, yaklaşık olarak % 5 kadarında tübülüs fonksiyonlarında bozulmadan dolayı tuz kaybettiren sendrom gelişir. Bu durum GFH’ye oranla daha geç düzelir. Bu hastalara kan basıncını normal düzeyde devam ettirebilmek için uygun bir şekilde intravenöz sıvı replasmanı yapılması gerekmektedir (55,64).

Postrenal ABY ile gelen hastalarda tıkanıklık giderilip idrar akımı sağlanana kadar ve böbrek fonksiyonlarında düzelme elde edilene kadar; gerekli durumlarda, genel prensipler ve komplikasyonların tedavisinde anlatılan tedavi yöntemlerinin gerekebileceği akılda tutulmalıdır (64–65).

2.8.5. ABY’de Diyaliz Tedavisi

Diyaliz tedavisinin başlatılmasının mutlak endikasyonları arasında semptomatik üremi (flapping tremor(kanat çırpma şeklinde el titremeleri), perikardiyal frotman, ensefalopati) ve medikal tedaviye cevap vermeyen asidoz, hiperkalemi ve sıvı yüklenmesi yer almaktadır. Seçilecek diyaliz yöntemi (periton diyalizi, hemodiyaliz, hemofiltrasyon) hastanın klinik durumu, hastanenin teknik donanımı ve hekimin teknik deneyimine bağlıdır (21,66).

2.9. DENEYSEL ABY OLUŞTURMADA KULLANILAN YÖNTEMLER

Farklı hayvan modelleri ile yapılan çalıŐmalar sonucunda ABY oluşum patogenezinin ve tedavisinin araştırılması ile ilgili önemli veriler elde edilmektedir. Deney hayvanlarında ABY modelleri eksojen bir madde enjekte edilerek yada cerrahi olarak hasar oluŐturularak uygulanabilir.

ABY modeli oluŐturulurken bir etyolojinin ya da patogenezin taklit edilmesi amaçlanmaktadır. Her bir modelinin kendine özgü eksiklikleri ya da kısıtlamaları vardır. Uygulanan modellerin hiçbiri en ideal model değildir.

Sıklıkla kullanılan ABY modelleri Şöyle sıralanabilir:

Gliserol etkisiyle oluşturulan ABY:

Gliserol %50'lik formunda ekstremite kası içerine 8-10 ml/kg dozunda enjekte edilir. Enjeksiyon sonrası gelişen rabdomyoliz hızla ilerleyen renal disfonksiyona neden olur. Dehidratasyonla birlikte serbest oksijen radikallerinin de kısmen rol oynadığı toksik proksimal tübüler hücre hasarı görülebilir. Renal hasara vazokonstriksiyon ve renal enflamatuvar reaksiyon sebep olur. Bu patofizyolojik süreç sonucunda ABY bulguları ortaya çıkar.

Bu model basit ve tekrar edilebilir özelliktedir. Klinik olarak rabdomyolize benzer. İnvasküler hemoliz ve miyoglobinemiyeye neden olur. nc boŐluklarda sıvı birikimi, pigment ve pürin yükü gözlemlenebilir (67).

Folik asit etkisiyle oluşturulan ABY:

0.3 M sodyum bikarbonat içinde zlen folik asit 250 mg/kg tek doz olarak intraperitoneal yoldan enjekte edilir. Enjeksiyon sonrası saatler içerisinde ABY tablosu oluŐmaya baŐlar.

Bu modelde böbrek tübülüsleri içerisinde hızla beliren folik asit kristallerini takiben apoptozis ve tübüler nekroz gelişir. Folik asit etkisiyle oluşturulan ABY modelinde

histolojik olarak korteks tabakasında yaygın dilate túbüller, mononükleer hücre infiltrasyonu ve konjesyon görülebilir.

Folik asit enjeksiyonu sonrası enflamatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir. Sitokinler aracılığıyla gelişen ve devam eden enflamasyon sonucu túbüler nekroz ilerler. Bu model de túbüler nekrozla beraber epitelyal rejenerasyon ve kortikal skar dokusu geliştiği gösterilmiştir (13,14).

Gentamisin etkisiyle oluşturulan ABY:

Deney hayvanlarına ardışık 3-6 gün süresince 100-200 mg/kg doz aralığında gentamisin parenteral olarak uygulanır. Bu modelde ABY neden olan ana patofizyolojik olay túbüler nefrotoksisitedir. İnsanlarda gentamisine maruz kalma sonrası proksimal túbüler hücrelerde karakteristik olarak gelişen miyeloid cisimcikler, gentamisin etkisiyle oluşturulan ABY modeli oluşturulan hayvanlarda da görülmektedir (68).

Sıcak iskemi-reperfüzyon etkisiyle oluşturulan ABY:

Bu modelde böbreğin vasküler yapılarının tamamı veya tek başına renal arter değişen sürelerle klemplenerek iskemi meydana getirilmektedir. Sonrasında klempleme işlemi kesilerek reperfüzyon sağlanır. Bu modelde esas patofizyolojik hasar doku hipoksisidir. Oluşan modelin şiddeti ve özellikleri iskemi-reperfüzyon sürelerine göre değişiklik gösterebilir. Bu model transplantasyon modeli olarakta kullanılmaktadır. Dış medüller dolaşımın bozulmasıyla enflamasyon ve túbüler hasar meydana gelir. Daha sonra oluşan reaktif oksijen radikalleri ise reperfüzyon hasarından sorumlu tutulabilir (69,70).

Sisplatin etkisiyle oluşturulan ABY:

Tek doz intravenöz enjeksiyonla 6-20 mg/kg dozunda uygulanarak ABY gerçekleştirilir. Gerçekleşen asıl patofizyolojik olay túbüler nefrotoksisitedir. Sisplatinin proksimal túbüllerden emilimi ve túbüler hücreler içerisinde birikimi ile nefrotoksisite ortaya çıkar. Deneyde kullanılan doz klinikte kullanılan doza yakındır. Ancak klinikte insanlarda siplatin yerine daha az nefrotoksik olan karboplatin tercih edilmektedir (71).

2.10. TÜMÖR NEKROTİZAN FAKTÖR ALFA (TNF- α)

T hücreleri, aktive NK hücreleri ve aktive mast hücreleri tümör nekrotizan faktör (TNF) salgılar. İnsan TNF'si nonglikolize ve hücre zarından geçebilen protein olup, molekül ağırlığı 17 kilo daltondur. İki çeşit TNF vardır. Bunlar; genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (kaşektin) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (lenfotoksin-alfa) dır (15, 72–75).

İki tip TNF reseptörü vardır. Bunlar, sitotoksik aktiviteyi ve fibroblast proliferasyonunu arttıran TNFR Tip 1 ile T hücre proliferasyonuna neden olan TNFR Tip 2'dir. Buna ek olarak TNF reseptörlerinin çözünebilir formlarıda (sTNFR) mevcuttur ve bunlar hücre yüzeyindeki TNF reseptörlerinin yıkımı sonucu proteinlerden kaynaklanırlar. TNFR Tip 1, TNF- α 'nın programlı hücre ölümü ve NF κ B aktivasyonu gibi çoğu biyolojik aktivitesine aracılık etmektedir (76–80).

TNF- α vasküler hücrelerde fosfolipaz A, trombosit aktive edici faktör ve serbest radikal oluşumunu artırır. Serbest radikaller vasküler permeabilityyi artırarak ödeme neden olur (81–83).

TNF'nin biyolojik fonksiyonları konsantrasyonuna bağlıdır. Düşük konsantrasyonlarda etkisi lokaldır. Lökositler ve endotel hücreleri üzerine otokrin ve parakrin etki yapar. Bu etkiler mikroorganizmalara verilecek inflamatuvar yanıt açısından önemlidir. TNF'nin biyolojik etkilerinden bazıları şöyle sıralanabilir:

TNF- α , damar endotelinde bazı adezyon moleküllerinin ('Hücre içi adezyon molekülü' (ICAM)-1, 'vasküler hücre adezyon molekül' (VCAM)-1, 'endotelial lökosit adezyon molekül' (ELAM)-1 ortaya çıkmasına yol açar. Bu moleküller endotelin önce nötrofiller, sonra da mononükleer lökositler için yapışkan olmasını sağlayarak lökositlerin inflamasyon yüzeyine toplanmasına yol açar (84,85).

TNF- α , başlıca nötrofiller olmak üzere eozinofiller ve mononükleer fagositler olmak üzere lökositlerin mikroorganizmaları öldürmesini aktive eder. TNF- α , IL-1, IL-6, kemokinler ve kendisini (TNF- α) üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. Sınıf 1 major histocompatibility complex (Büyük doku uygunluk

kompleksi) molekül ekspresyonunu arttırarak sitotoksik lenfositlerin virüsle enfekte olmuş hücreleri ortadan kaldırmasını güçlendirir (86–88).

TNF- α 'nın sistemik etkileri ise şöyledir:

TNF- α endojen pirojendir. Hipotalamik etkiyle ateş oluşur. Bu etkiyi IL-1 ile uyarır. Ateşin TNF- α ve IL-1'e yanıt olarak yükselmesi sitokinle uyarılmış hipotalamus hücreleri tarafından arttırılan prostaglandin E2 senteziyle olur (89).

Mononükleer fagosit ve vasküler endotelin IL-1 ve IL-6; hepatositlerin ise serum amiloid A, C-reaktif protein, C3 ve α 2 makroglobulin gibi akut faz proteinlerini sentezlemesini uyarır (90–91).

Damar endotelinin prokoagülan ve antikoagülan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder. T hücre aktivasyonu ve B hücre proliferasyonunu indükler (immünglobulin yapımı). Osteoblastik alkalen fosfataz aktivitesini, osteoklastların kemik rezorbsiyonunu, kondrositlerin kırıkta döngüsünü ve fibroblast ve sinoviyal hücrelerin proliferasyonunu uyarır (92–93). Ayrıca fibroblastları etkileyerek kollojenaz üretmelerine neden olur, osteoklastların aktivasyonunda da rol oynar ve bunları kemik rezorbsiyonu için stimule eder (94–96).

TNF- α 'nın birçok özel etkileri, aşırı yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıkan öldürücü sonuçlar doğurmaktadır. Nitrik oksit ve prostasiklin aracılığıyla, miyokard kasılabilirliğini bozmak ve damar düz kaslarını gevşetmek ve intravasküler koagülasyona neden olmak suretiyle doku perfüzyonunu bozabilir. Glukozun kas tarafından aşırı kullanımına ve karaciğer tarafından glukozun yerine konulamamasına bağlı yaşamı tehdit edecek hipoglisemilere yol açabilir (97–98).

2.11. TNF- α İNHİBİTÖRLERİ

Son yıllarda TNF- α inhibitörleri özellikle psoriasis, psoriatik artrit, crohn hastalığı, romatoid artrit ve ankilozan spondilit gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Günümüzde klinikte kullanılmakta olan beş tane TNF- α inhibitörü bulunmaktadır. Bunlar infliksimab, etanersept, adalimumab, golimumab ve sertolizumab'tır.

İnfliksımab, insan immünglobülin (Ig) G1 Fc bölgesi ve fare kökenli değişken bölge içeren, kimerik yapıda bir monoklonal antikordur. Etanersept, rekombinant TNF- α reseptör (TNFR) füzyon proteini ve insan IgG1'in Fc parçasına bağlı insan TNFR2'nin iki ekstrasellüler parçasından oluşur. Adalimumab ve golimumab ise insan sabit ve değişken bölgelerini içeren humanize monoklonal antiTNF antikorlarıdır. Sertolizumab, humanize monoklonal anti-TNF Fab fragmanıdır.

Bu ilaçların etki mekanizmaları, yan etki profilleri ve tedavi özellikleri farklılık gösterir. Özellikle monoklonal antikorlar ve etanersept, birbirlerinden farklılıklar gösterir. Örneğin etanersept TNF- α 'nın yanı sıra makrofajlar ve T hücrelerinden salgılanan TNF- β 'yi da (lenfotoksin) bağlayabilmektedir. Oysa monoklonal antikorlar TNF- β 'yi bağlayamaz. Anti-TNF- α ilaçlar arasındaki, yapısal farklılıklar ve moleküler düzeydeki etki mekanizmalarındaki değişiklikler, bu ilaçların farklı hastalıklar üzerinde etki ve yan etki profillerindeki farklarını da açıklamaktadır (99–100).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 11.06.2014 tarih ve 14/105 no'lu kararı ile onay alınarak yürütülmüştür (Ek-1).

3.1. DENEY HAYVANLARI VE ÇEVRE KOŞULLARI

Araştırmamızdaki deneyleerde Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM) standartlarında üretilen, yaklaşık 30 gram ağırlığında 91 adet Balb-C ırkı erişkin dişi fare kullanıldı.

Fareler 30-50 cm büyüklüğünde plastik ve üstü paslanmaz çelik ızgaralı kafeslerde muhafaza edildi. Farelerin bulunduğu ortam rutin bakım - yönetim koşulları altında sıcaklık 20°C olacak şekilde havalandırıldı. Sabah saat 06:00'dan akşam saat 18.00'a kadar 12 saat gündüz ve 12 saat gece olacak şekilde aydınlatıldı. Standart pellet laboratuvar yemi ile beslendi ve içme suyu olarak çeşme suyu kullanıldı.

Deneyle hayvanları çalışmadan yaklaşık bir saat önce deneyleyin yapılacağı laboratuvara getirilip, ortam şartlarına adaptasyon sağlamaları için bekletildi.

3.2. DENEY PROSEDÜRÜ

Deneyleler Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Histoloji Anabilim Dalı ve DEKAM Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Maddi kaynak olarak Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından sağlanan katkı kullanılmıştır.

Hayvanlar rastlantısal olarak 7 gruba ayrıldı (Tablo 2).

Tablo 2. Deney Grupları

Gruplar	Fare Sayısı	Verilen Doz
Grup 1	15	ABY Grubu 250 mg/kg dozunda Folik Asit
Grup 2	15	ABY+0,7 mg ETN grubu 250 mg/kg Folik Asit ve 0.7 mg/kg dozunda Etanersept
Grup 3	15	ABY+3,5 mg ETN grubu 250 mg/kg Folik Asit ve 3.5 mg/kg dozunda Etanersept
Grup 4	15	ABY+7 mg ETN grubu 250 mg/kg Folik Asit ve 7 mg/kg dozunda Etanersept
Grup 5	15	ABY+ YM grubu 250 mg/kg Folik Asit ve Mannitol (E 421)40mg/ml, Sukroz10 mg/ml, Trometamol 1.2 mg/ml, Tromethamine HCl (pH ayarlamak için) intraperitoneal 0,2 ml enjeksiyonla verilecek.
Grup 6	6	Kontrol grubu
Grup 7	10	Sadece ETN grubu 7 mg/kg dozunda Etanersept

3.3. DENEYLERDE KULLANILAN CİHAZLAR

Deneylede Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Histoloji Anabilim Dalı ve DEKAM Laboratuvarları'nda bulunan Tablo-3 de belirtilen cihazlar kullanılmıştır.

Tablo 3: Deneylede Kullanılan Cihazlar

Cihaz / Ekipman	Marka Model / Menşei
Hassas Terazi	Shimadzu- Libror AEU-210
Santrifuj	Hettich Zentrifugen D-78532 Tuttligen Micro 220R
İnkübatör	Memmert UN 55
Mikropipet Seti	Thermo Scientific
Vortex	VWR İnternational
Buzdolabı +4 derece	Uğur
Buzdolabı -20 derece	Vestel
Buzdolabı -80 derece	New Brunswick
ELISA 96'lık plak yıkayıcısı	Thermo Scientific WellWash
Spektrofotometre	Thermo Scientific Multiscan FC
Distile su cihazı	Nuve ND4 Water Distile
Floresan mikroskop	Olympus BX-51

3.4. DENEYLERDE KULLANILAN DROGLAR

Deneyleerde kullanılan drogların listesi Tablo-4'te verilmiştir.

Tablo 4: Deneyleerde Kullanılan Droglar

İlaç	Üretici Firma
Folik Asit	Santa Farma İlaç San. A.Ş. İstanbul
Enbrel 25 mg Etanersept	Pfizer İlaçları Ltd.Şti. Ortaköy/İstanbul
Sucrose	Sigma-Aldrich Co. LLC.
Tromethamine	Sigma-Aldrich Co. LLC.
Tromethamol	European Pharmacopoeia
Mannitol	Biomatik Corporation Wilmington
Sodyum bikarbonat	Galen İlaç San. ve Tic. A.Ş. İstanbul
Ksilazin	Alfasan International BV Hollanda
Ketamin	Alfasan International BV Hollanda

3.5. AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ OLUŞTURULMASI

Grup 1, 2, 3, 4, 5'te yer alan farelere 250 mg/kg dozunda folik asit (Santa Farma İlaç San. A.Ş. Edirnekapı/İstanbul) 0,3 mM sodyum bikarbonat içerisinde çözülerek 0,2 mL enjeksiyonla intraperitoneal olarak uygulandı.

Folik asit enjeksiyonunu takiben 30 dakika sonra Grup 2, 3, 4'te yer alan farelere sırasıyla 0.7 mg/kg, 3,5 mg/kg ve 7 mg/kg dozunda etanersept (Enbrel 25 mg Enjeksiyonluk Solüsyon İçin Toz Wyeth Pharmaceuticals Havant, İngiltere) intraperitoneal olarak enjekte edildi.

Grup 5'te yer alan farelere; folik asit enjeksiyonunu takiben 30 dakika sonra, Enbrel 25 mg enjeksiyonluk solüsyon için toz içerisinde bulunan yardımcı maddeler (Mannitol 40mg/ml, Sukroz 10 mg/ml, Trometamol 1.2 mg/ml , Tromethamine HCl (pH ayarlamak için)) hazırlanarak 7 mg/kg etanersept grubunun maruz kaldığı oranda 0,2mL enjeksiyonluk su içerisinde çözdürülerek intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 6'da yer alan farelere herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı.

Grup 7’de yer alan farelere; 7 mg/kg etanersept intraperitoneal olarak uygulandı.

Tüm gruplarda yer alan deney hayvanları serbest su ve yem ulaşımı koşullarında 7 gün süresince takip edildi. Çalışmanın başlangıcından itibaren ilk iki gün ve son üç gün vücut ağırlık ölçümleri hassas teraziyle yapıldı.

3.6. SERUM ÖRNEĞİNDE KAN ÜRE AZOTU ÖLÇÜMÜ

Çalışmanın 7. gününde tüm deney hayvanlarına 50 mg/kg Ketamin (Ketalar) ve 5 mg/kg Ksilazin (Rompun) intraperitoneal enjeksiyonu uygulandı. Sonrasında tüm vücut kanları intrakardiyak olarak alındı.

Alınan kan örneklerinin 6000 devirde 10 dk santrifüj edilerek serumu ayrıldı. Serum örneği ayrı testler için eşit miktarlarda 0,5 mL’lik 4 ayrı eppendorf tüpleri içerisine herbiri 65 µL olacak şekilde ayrıldı. Örneklerden kan üre azotu (BUN) ölçümü için tüpler +4 dereceye, diğer testlerin yapılacağı örnekler ise -20 dereceye kaldırıldı.

Sakrifikasyon sonrası 1. gün BUN ölçümü yapıldı. BUN ölçümü için Bioo Scientific Corporation (3913 Todd Lane Suite 312 Austin, TX 78744 Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilen Blood Urea Nitrogen Enzymatic Kit (Katalog Numarası: 5602-01) kullanıldı.

Enzimatik kit içerisinde bulunan 0, 8, 25, 50, 100 ve 200 ppm üre standart solüsyonları 96’lık Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) mikrotitrasyon plağına herbirinden 5 µL olacak şekilde mikropipet yardımıyla yerleştirildi.

Buzdolabında +4 derecede bekletilen örnekler çalışma için oda ısısına çıkarıldı. Serum örnekleri 4 katı yüksek hacimle Phosphate Buffer Saline (PBS) ile dilüe edildi (dilüsyon faktörü=5). Dilüe edilmiş serum örnekleri 5 µL olacak şekilde mikrotitrasyon plağına yerleştirildi.

Standart solüsyonları dahil olmak üzere her bir örnek üzerine kit içerisinde mevcut olan üreaz karışım solüsyonundan 150 µL ilave edilerek karıştırılıp 15 dakika oda ısısında inkübasyon için bekletildi. Bu karışımın üzerine 150 µL alkalın hipoklorit eklenerek 10 dakika oda ısısında inkübasyon için bekletildi.

Spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda absorbanans ölçümleri yapıldı. Standart solüsyonlara oranlı ölçümlerle BUN değerleri hesaplandı.

3.7. SERUM ÖRNEĞİNDE SİSTATİN-C ÖLÇÜMÜ

Sakrifikasyon sonrası 2. gün sistatin-c ölçümü yapıldı. Sistatin-c ölçümleri Abcam (Kendall Square, Suite B2304 Cambridge, MA 02139-1517 Amerika Birleşik Devletleri) firmasından temin edilen Cystatin C Mouse ELISA Kit (Katalog Numarası: ab119590) kullanılarak yapıldı.

Öncelikle standart solüsyonlar hazırlandı. 20 ng/mL sistatin-c stok standart solüsyonu 1 mL örnek dilüsyon buffer içinde çözüldü. Hazırlanan stok standart solüsyonu 1 den 8 e kadar numaralandırılmış 2,5 mL'lik eppendorf tüplerinde örnek dilüsyon buffer içinde çözülerek sırasıyla 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625, 312 ve 0 pg/mL oranında hazırlandı.

Kit içerisinden çıkan Anti-mouse Cystatin C antibody Elisa mikrotitrasyon plağına her bir standart solüsyonundan 300 µL olacak şekilde yerleştirildi. Serum örnekleri -20 dereceden çıkarıldı, 50µL seruma 50µL örnek dilüsyon buffer eklenerek dilüe edildi (dilüsyon faktörü=2). Hazırlanan örnekler Anti-mouse Cystatin C antibody Elisa mikrotitrasyon plağına her biri 100 µL olacak şekilde yerleştirildi. Üzeri kapatılan plak 37 derecede 90 dakika inkübe edildi.

İnkübasyon sonrası içeriği temizlenen plağın her bir çukuruna önceden hazırladığımız ve kit içeriğinde mevcut olan 1XBiotinylated anti-mouse Cystatin C antibody solüsyonundan 100 µL eklenerek 37 derecede 60 dakika inkübe edildi. Sonrasında plak 3 kere 300 µL PBS solüsyonu ile 1 dakika beklenerek yıkandı. Yıkama otomatik plak yıkayıcı yardımıyla yapıldı.

Yıkama sonrası kağıt havlu üzerinde plak temizlendi ve kit içeriğinde bulunan ve önceden hazırladığımız 1XAvidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) her bir çukura 100 µL eklenerek 37 derecede 30 dakika inkübe edildi. Sonrasında plak 5 kere 300 µL PBS solüsyonu ile 1 dakika beklenerek yıkandı.

Yıkama sonrası her bir çukura TMB Color Developing Agent (KİT içeriği) 90 µL eklendi ve 25 dakika 37 derece de inkübe edildi. Sonrasında 100 µL TMB Stop Solution her bir çukura eklendi. 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümleri yapılarak sistatin-c değerleri hesaplandı.

3.8. SERUM ÖRNEĞİNDE KREATİNİN ÖLÇÜMÜ

Kreatinin ölçümü Abcam firmasından temin edilen Creatinine Assay Kit (Katalog Numarası: ab65340) kullanılarak sakrifikasyon sonrası 3. gün yapıldı.

Kit içerisinde bulunan 10 µmol Lyophilized Creatinine kullanılarak her 50 µL de artan oranlarda sırasıyla; 0, 2, 4, 6, 8, 10 nmol kreatinin olacak şekilde standartlar hazırlandı ve 96'lık elisa plağına yerleştirildi. Serum örnekleri de aynı şekilde 50 µL olarak çukurlara eklendi.

Lyophilized Creatinine Enzyme Mix, Lyophilized Creatininase, Lyophilized Creatinase, Creatinine Probe (DMSO içinde) ve bufferdan oluşan reaksiyon karışımı hazırlandı. Her bir çukura reaksiyon karışımından 50 µL eklendi ve 1 saat 37 derecede inkübasyona bırakıldı. 570 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılarak kreatinin değerleri hesaplandı.

3.9. HİSTOLOJİK TAKİP

Deneyin sonunda fareler intraperitoneal ketamin anestezisi altında dekapite edildi. Dekapitasyondan sonra sağ böbrek dokuları hızlıca çıkarıldı. Dokular %10'luk nötral formalin içinde fikse edildi. Tespit edilen dokular daha sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilol ile şeffaflaştırılan dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5–6 µm kalınlığında kesitler normal yapıyı değerlendirmek için Hematoksilen-Eozin ile boyandı ve Olympus BX–51 fotomikroskopla incelenerek fotoğraflar elde edildi. Yapılan bu işlemler Tablo 5 ve 6 da verilmiştir.

Tablo 5: Işık Mikroskopu Doku Hazırlama Tekniği

Sıra	Yapılan işlemler	Süre
1	%4 Formaldehid	48 saat
2	Musluk suyu	1 gece
3	%50 Alkol	1 saat
4	%70 Alkol	1 saat
5	%80 Alkol	1 saat
6	%96 Alkol	1 saat
7	Absolü Alkol	1 saat
8	Absolü Alkol	1 saat
9	Absolü Alkol	1 saat
10	Ksilen	20 dakika
11	Ksilen	20 dakika
12	Ksilen	20 dakika
13	Eriyik parafin (60°C)	1 gece
14	Bloklama	

Tablo 6: Hematoksilen-Eozin boyama tekniği

Sıra	Yapılan İşlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	1 saat
2	Ksilen I	20 dakika
3	Ksilen II	20 dakika
4	Ksilen III	20 dakika
5	Absolu Alkol I	20 dakika
6	Absolu Alkol II	20 dakika
7	%96 Alkol	20 dakika
8	%80 Alkol	20 dakika
9	%70 Alkol	20 dakika
10	%50 Alkol	20 dakika
11	Akarsu	5 dakika
12	Hematoksilen	5-8 dakika
13	Akarsu	5 dakika
14	Eozin	3-5 dakika
15	Akarsu	5 dakika
16	%50 Alkol	10 dakika
17	%70 Alkol	10 dakika
18	%80 Alkol	10 dakika
19	%96 Alkol	10 dakika
20	Absolu Alkol I	10 dakika
21	Absolu Alkol II	10 dakika
22	Ksilen I	20 dakika
23	Ksilen II	20 dakika
24	Kapatma	

3.10. TUNEL BOYAMA

Böbrek dokusundaki apoptozisi göstermek için TUNEL yöntemi kullanıldı. Bunun için Roche firmasından alınan “In situ Cell Death Detection Kit, Fluorescein” kiti kullanıldı ve boyama işlemi, kitin prosedürüne göre yapıldı. Özetleyecek olursak, 5-6 µm

kalınlığında alınan böbrek dokuları deparafinize ve ardından rehidrate edildikten sonra PBS ile yıkandı. Daha sonra antijen geri kazanımı için 0.01 M sodyum sitrat tamponunda mikrodalga fırında 350 W'de 5 dakika bekletildi. Ardından oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkanan dokular daha sonra kitin içinden çıkan TUNEL reaksiyon karışımı ile 37 °C'de nemli ve karanlık ortamda 60 dakika inkübe edildi. PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkanan dokulara DAPI ile zıt boyama yapıldı. Gliserollü kapatma solüsyonu ile kapatılan dokular Olympus BX-51 floresan mikroskopta 450-500 nm dalga boyunda görüntülendi.

Dokulardaki apoptotik hücreler sayılarak apoptotik indeks oluşturuldu. Apoptotik indeks için her bir kesitten 40X büyütmede 10 farklı alandan görüntüler alındı.

3.11. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler ortalama \pm standart hata ($\bar{x} \pm SH$) olarak ifade edildi. Gruplar arası karşılaştırma tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA) ile yapıldı. Çoklu karşılaştırma (Post-hoc) testi için Tukey prosedürü kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$ olarak belirlendi.

4. BULGULAR

Folik asitin i.p. uygulanmasıyla ilk 5 grupta toplam 75 farede deneysel ABY modeli oluşturuldu. Çalışmanın tamamlandığı 7. güne kadar 34 fare gelişen komplikasyonlar sonucu öldü. Deneysel ABY modeli oluşturulmayan 6 ve 7. gruplarda 7 gün süresince ölen fare olmadı. Çalışma sırasında ölen farelerin gruplara olan dağılımı Tablo7’de verilmiştir.

Tablo 7: Çalışma sırasında ölen farelerin gruplara olan dağılımı

Gruplar	Başlangıçtaki Sayı	Ölen Fare Sayısı	Ölenlerin Oranı %
ABY grubu	15	7	46,6
ABY+0,7 mg ETN grubu	15	8	53,3
ABY+3,5 mg ETN grubu	15	8	53,3
ABY+7 mg ETN grubu	15	3	20
ABY+ YM grubu	15	8	53,3
Kontrol grubu	6	0	0
Sadece ETN grubu	10	0	0

Çalışmanın ilk günü (0.gün), takip eden gün (1. Gün) ve son üç gün farelerin ağırlık ölçümleri yapıldı. Her grup için değerler sırasıyla Tablo 8-14’de gösterilmiştir.

Tablo 8: ABY grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	33	31,7	24,5	23,6	23,1
2	35,9	35,6	29,8	29,7	29,8
3	37,8	35,8	32,7	33,6	33,9
4	41	40,8	38,9	38,9	38,4
5	33,5	34,4	32	31,2	31,9
6	38	38,2	33,8	34,7	35,1
7	37	35	31,7	31,4	31,7
8	39,2	38,8	38,1	37,8	36,6

Tablo 9: ABY + 0,7 mg ETN grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	37,8	38,1	31,8	31,4	31,4
2	30,6	31,2	24,5	23,4	23
3	32,8	33,2	31,5	31,3	32,6
4	33,2	33,4	32,6	33,7	32,5
5	35,4	35,9	35,9	35,2	36,4
6	36	35,4	32	32,8	32,2
7	35,1	35,7	34,8	33,9	34,5

Tablo 10: ABY + 3.5 mg ETN grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	30,5	30	28,9	29,3	29,3
2	31,9	31,9	29,3	29,9	29,8
3	36,3	36,1	31,7	31,2	32,2
4	37,4	37,5	33,5	33,1	33
5	32,2	31,3	32,2	32,4	32,4
6	37,2	37	36,6	37,5	36,6
7	36,8	36	33,2	31,2	29,5

Tablo 11: ABY + 7 mg ETN grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	37,4	36,4	34,3	34,7	34,4
2	30,9	30,3	30	30,2	30,3
3	32,9	33	32,1	32,3	32,7
4	28,8	29,5	29,8	29,9	30,2
5	34,7	35,5	34,1	34,6	33,9
6	43	43,1	41,8	41,9	42
7	35,1	35,7	35,1	36	35,8
8	34	34,9	33,5	33,6	33,8
9	34,3	33,5	33,1	33,8	34,9
10	33,7	33,6	33,8	34,8	33,6
11	36,4	36,2	36,1	36,3	35,1
12	34,7	35	34,9	34,4	34,1

Tablo 12: ABY + Yardımcı Madde grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	37,7	36,6	33,3	33,8	33,3
2	40,2	40,6	37,2	37,5	37,4
3	31,1	31,3	29,4	29,3	29,8
4	35,1	34,7	30,6	30,4	30,1
5	39	37,7	29,6	28,7	28,6
6	35,6	34,5	31,2	31,3	31,1
7	42,4	42,3	40,2	40,9	40,6

Tablo 13: Kontrol grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	36,9	37	36,8	36,9	37,1
2	38,7	39,3	39,4	39,7	40
3	31,8	32,6	32,4	32,2	31,9
4	33,1	34,7	34,3	34,5	34,6
5	30,6	31,1	31,6	31,9	32,3
6	38,2	38,4	37,9	37,5	37,3

Tablo 14: Sadece Etanersept grubu ağırlık değişim tablosu

Sıra Numarası	Günler / gram				
	G0	G1	G5	G6	G7
1	42,1	41,6	41,9	42,2	42,6
2	39,7	41,5	41,7	41,9	42,5
3	31,3	31,6	32,2	32,9	33,6
4	39,7	40,4	39,8	40,2	40,5
5	35,1	35,3	34,2	34,3	33,8
6	35	35,3	35,2	35,1	34,8
7	31,9	31,5	31,9	31,7	32,2
8	39	40,6	41,1	40,8	40,9
9	33,8	34,6	34,9	35,5	35,9
10	31,3	31,6	31,9	32,1	32,4

Çalışmanın başlangıç günü ve son günü arasındaki ağırlık farkı gruplar arasında karşılaştırıldı (Tablo 15).

Tablo 15: 7. Gün - 0. Gün ağırlık farkı

Değişken	Gruplar							p
	ABY n=8 $\bar{x}\pm SH$	ABY+0,7mg ETN n=7 $\bar{x}\pm SH$	ABY+3,5mg ETN n=7 $\bar{x}\pm SH$	ABY +7mg ETN n=12 $\bar{x}\pm SH$	ABY+ YM n=7 $\bar{x}\pm SH$	Kontrol n=6 $\bar{x}\pm SH$	Sadece ETN n=10 $\bar{x}\pm SH$	
7.Gün- 0.Gün Farkı (gr)	-4.36±0.95 ^a	-2.61±1.26 ^{abd}	-2.79±0.99 ^{abd}	-0.43±0.32 ^{bc}	-4.31±1.14 ^{ad}	0.65±0.41 ^{bc}	1.03±0.40 ^c	< 0.001

Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder ($p<0.05$). ABY (250 mg/kg Folik Asit), ETN (Etanersept),YM: (Yardımcı Madde).

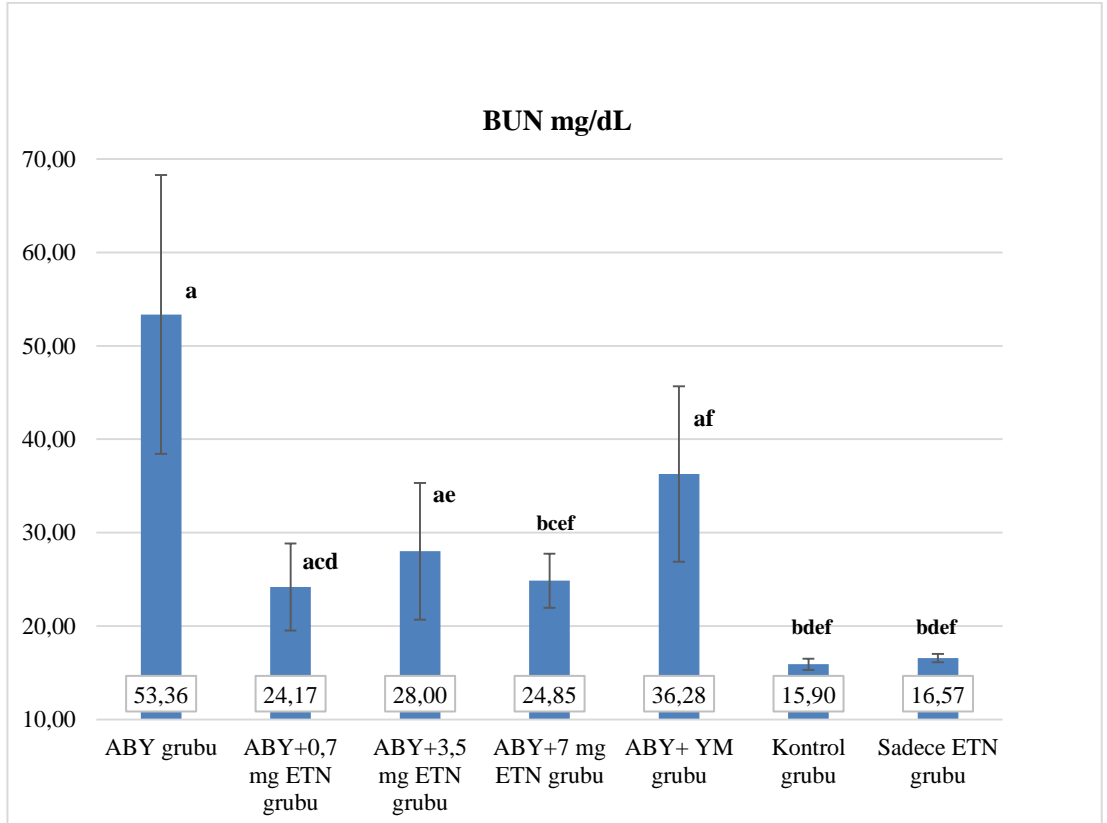
BUN, kreatinin ve sistatin-c değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo 16'da gösterildi:

Tablo 16: BUN, kreatinin ve sistatin-c değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar							p
	ABY $\bar{x}\pm SH$	ABY+0,7mg ETN $\bar{x}\pm SH$	ABY+3,5mg ETN $\bar{x}\pm SH$	ABY +7mg ETN $\bar{x}\pm SH$	ABY+ YM $\bar{x}\pm SH$	Kontrol $\bar{x}\pm SH$	Sadece ETN $\bar{x}\pm SH$	
BUN (mg/dL)	n=7 53.36±14.94 ^a	n=6 24.17±4.67 ^{acd}	n=4 28.0±7.31 ^{ae}	n=11 24.85±2.89 ^{bcef}	n=7 36.28±9.39 ^{af}	n=6 15.90±0.61 ^{bdef}	n=10 16.57±0.44 ^{bdef}	0.006
Kreatinin (mg/dL)	n=7 1.18±0.12	n=6 1.10±0.06	n=6 1.30±0.14	n=11 1.10±0.03	n=6 0.99±0.05	n=6 1.04±0.03	n=10 1.02±0.03	0.58
Sistatin-C (mg/L)	n=7 0.015±0.003 ^{ab}	n=6 0.020±0.002 ^{ab}	n=6 0.012±0.003 ^a	n=10 0.023±0.002 ^{ab}	n=7 0.028±0.007 ^b	n=6 0.017±0.001 ^{ab}	n=10 0.025±0.001 ^{ab}	0.012

Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder ($p<0.05$). ABY (250 mg/kg Folik Asit), ETN (Etanersept), YM: (Yardımcı Madde).

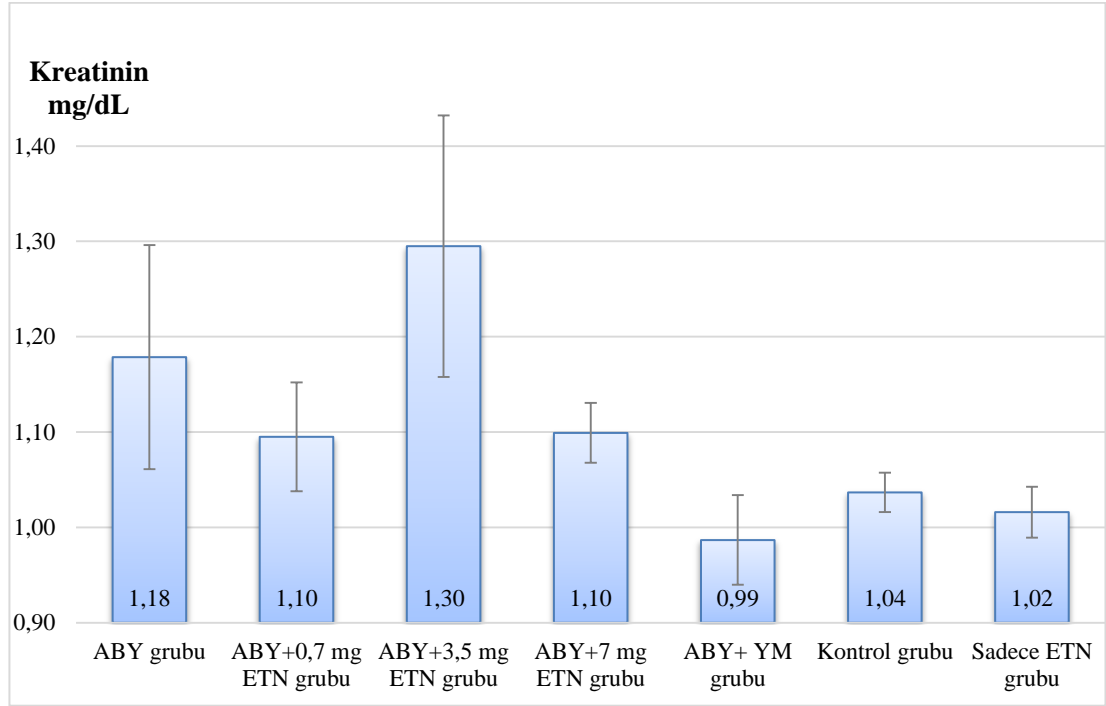
BUN, kreatinin ve sistatin-c değerlerini gösteren ELISA testi sonuçları sırasıyla Şekil 1, 2 ve 3'te gösterilmiştir.



Şekil 1: BUN Değerleri

*Gruplar kendi içinde ortalama ve SH değerleri ile birlikte verilmiştir.

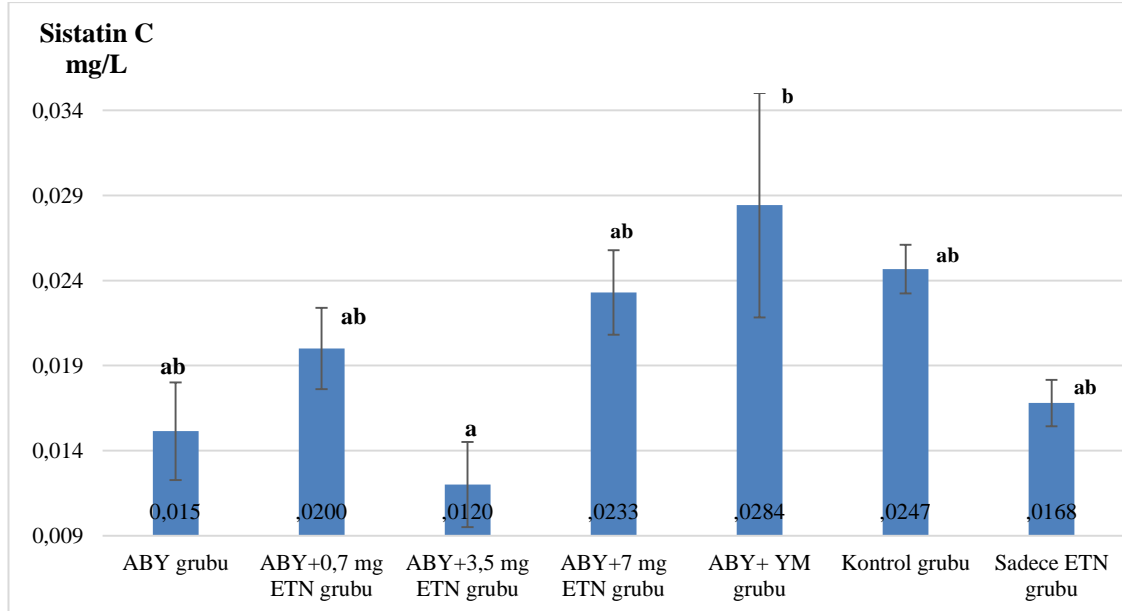
Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder ($p<0.05$). ABY (250 mg/kg Folik Asit), ETN (Etanersept),YM: (Yardımcı Madde).



Şekil 2: Serum kreatinin değerleri

*Gruplar kendi içinde ortalama ve SH değerleri ile birlikte verilmiştir.

Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder ($p < 0.05$). ABY (250 mg/kg Folik Asit), ETN (Etanersept), YM: (Yardımcı Madde).



Şekil 3: Serum sistatin c değerleri

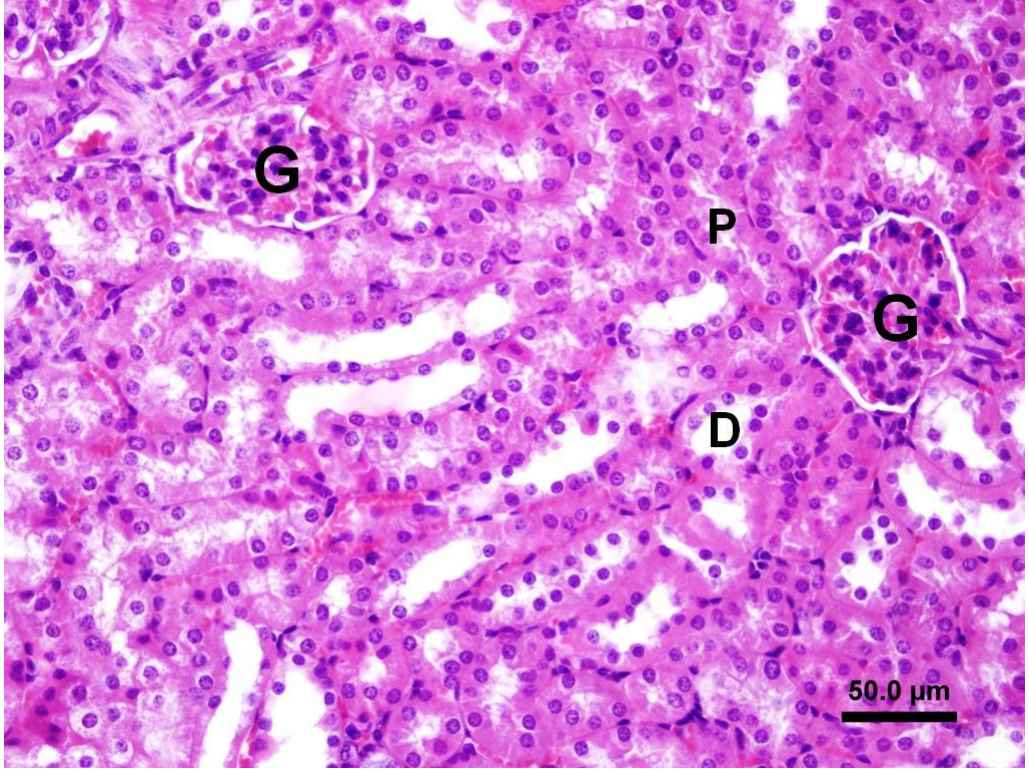
*Gruplar kendi içinde ortalama ve SH değerleri ile birlikte verilmiştir.

Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder ($p < 0.05$). ABY (250 mg/kg Folik Asit), ETN (Etanersept), YM: (Yardımcı Madde).

Histolojik bulgular

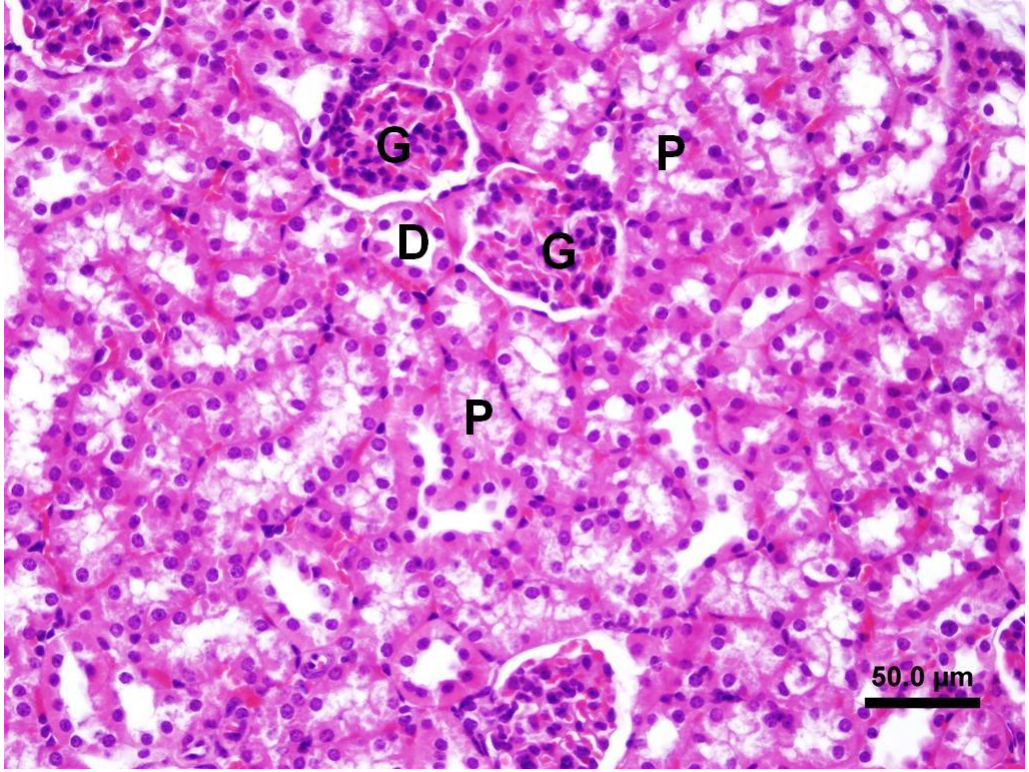
Işık mikroskopik incelemede kontrol grubu (Şekil 4) ve sadece etanersept verilen gruba (Şekil 5) ait böbrek kesitlerinde kortekste glomerül ve tübüller normal olarak izlendi. ABY oluşturmak için 250 mg/kg intraperitoneal folik asit verilen ABY grubunda korteks tabakasında oldukça yaygın olarak dilate tübüllere, mononükleer hücre infiltrasyonu alanlarına ve damarlarda konjesyona rastlandı (Şekil 6). Bazı alanlarda tübül içine epitel hücrelerinin döküldüğü ve yine tübül içinde hiyalin madde birikimi belirlendi (Şekil 7). ABY+Yardımcı Madde grubu deneklere ait böbrek dokularında ABY grubunda olduğu gibi dilate tübüllere, mononükleer hücre infiltrasyonu alanlarına, damarlarda konjesyona ve hiyalin madde birikimine rastlandı (Şekil 8).

ABY+0.7 mg/kg etanersept grubunda dört deneye ait böbrek dokularının korteks tabakasında dilate tübüllerde ve mononükleer hücre infiltrasyonu alanlarında azalma görülürken, üç denekte ise histolojik bulgular devam etmekteydi (Şekil 9). ABY+3,5 mg/kg etanersept grubunda dört denekte kısmi iyileşme görülürken üç denekte dilate tübüller ve mononükleer hücre infiltrasyonu alanları devam etmekteydi (Şekil 10). ABY+7 mg/kg etanersept grubunda ise dokuz denekte büyük oranda iyileşme görülürken üç denekte dilate tübüller ve mononükleer hücre infiltrasyonu alanları devam etmekteydi (Şekil 11).



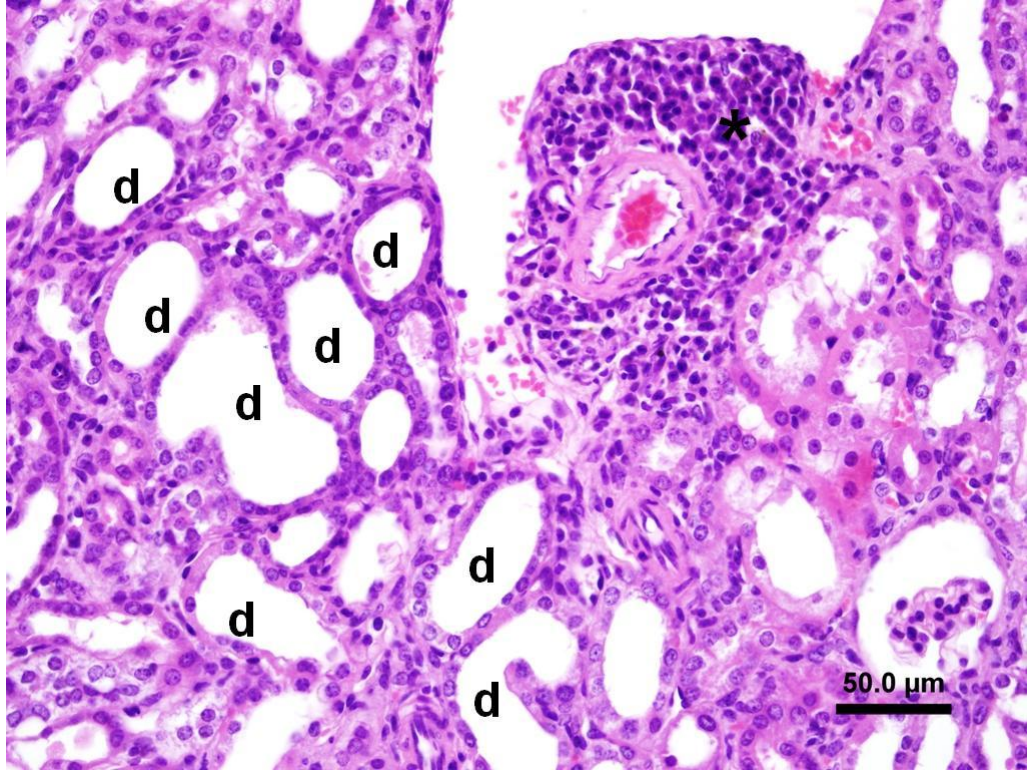
Şekil 4: Kontrol grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.

Glomerül (G), proksimal (P) ve distal (D) tübüller normal olarak görülmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm

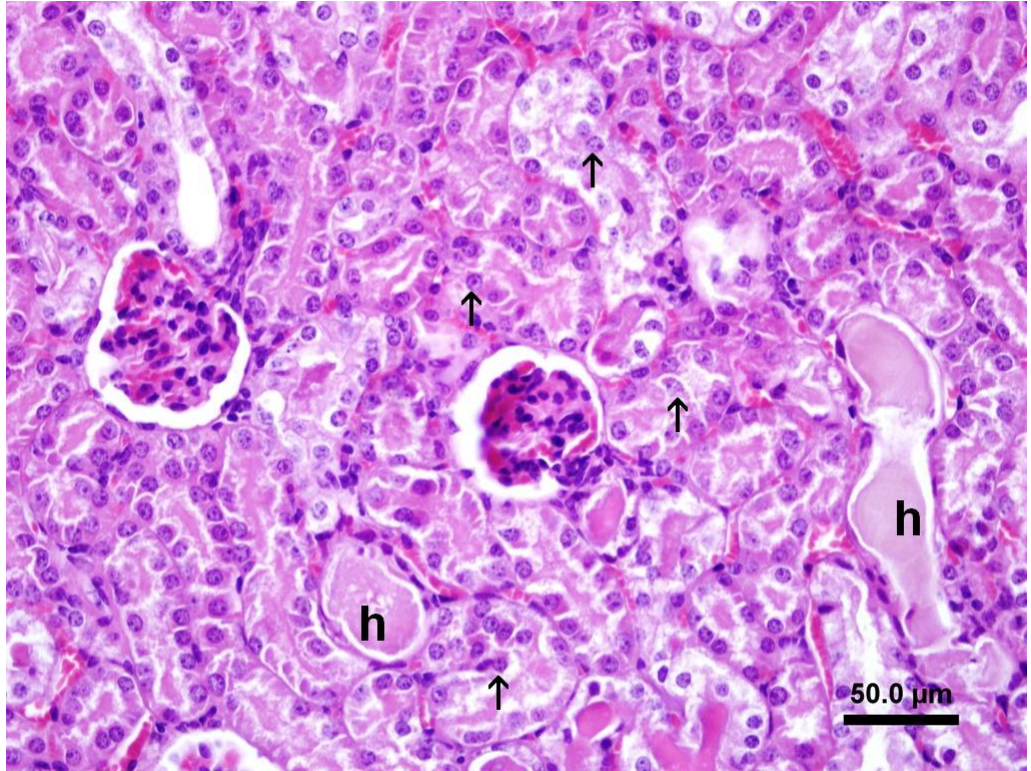


Şekil 5: Sadece etanersept verilen grubun böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.

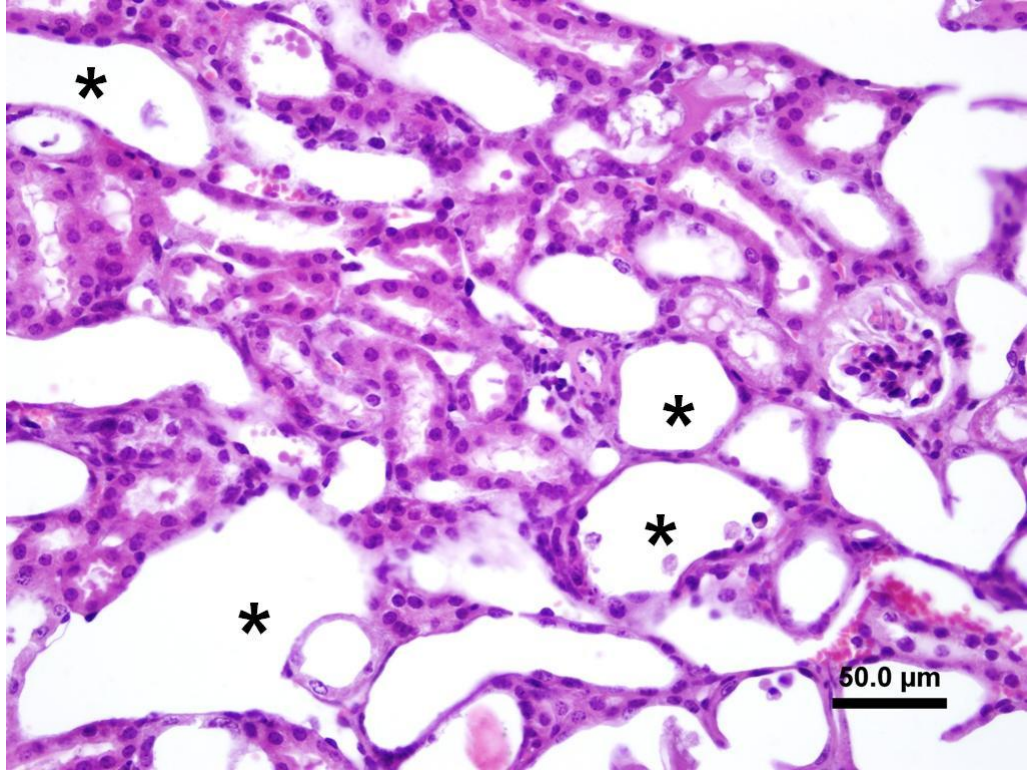
Glomerül (G), proksimal (P) ve distal (D) tübüller normal olarak ayırt edilmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm



Şekil 6: ABY grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.
Dilate tübüller (d) ve mononükleer hücre infiltrasyonu (*) görülmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm

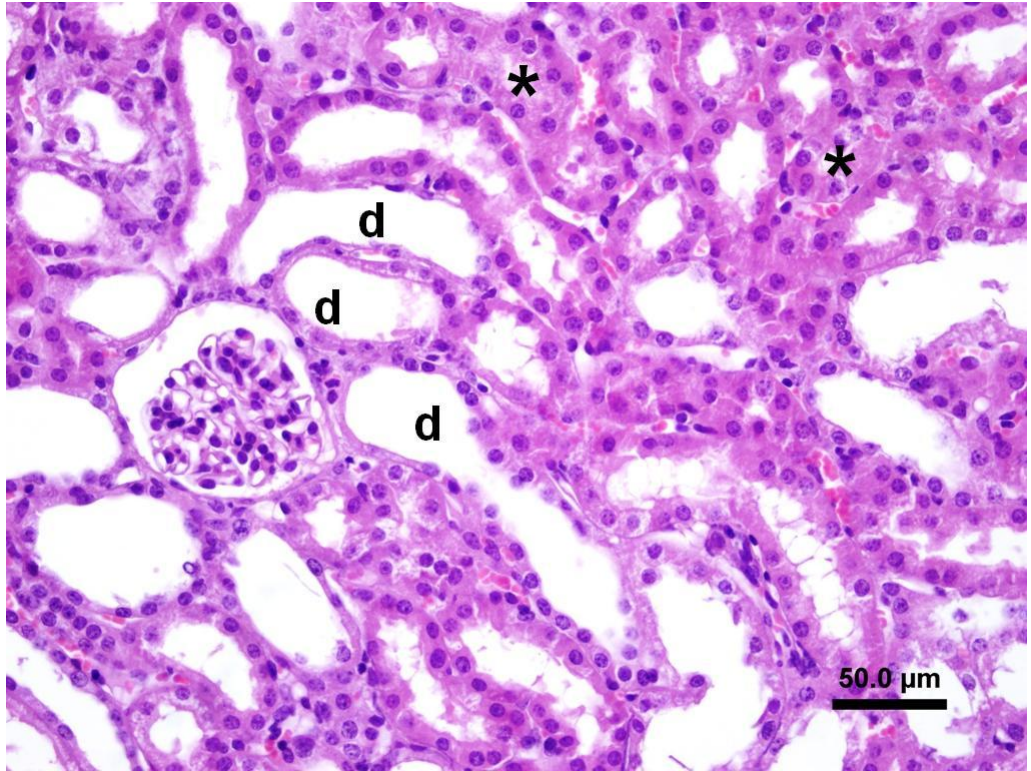


Şekil 7: ABY grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.
Tübüllerde hiyalin madde birikimi (h) ve tübül içine epitel hücre dökülmeleri (ok) ayırt edilmekte. H&E.
Ölçek çubuğu: 50µm

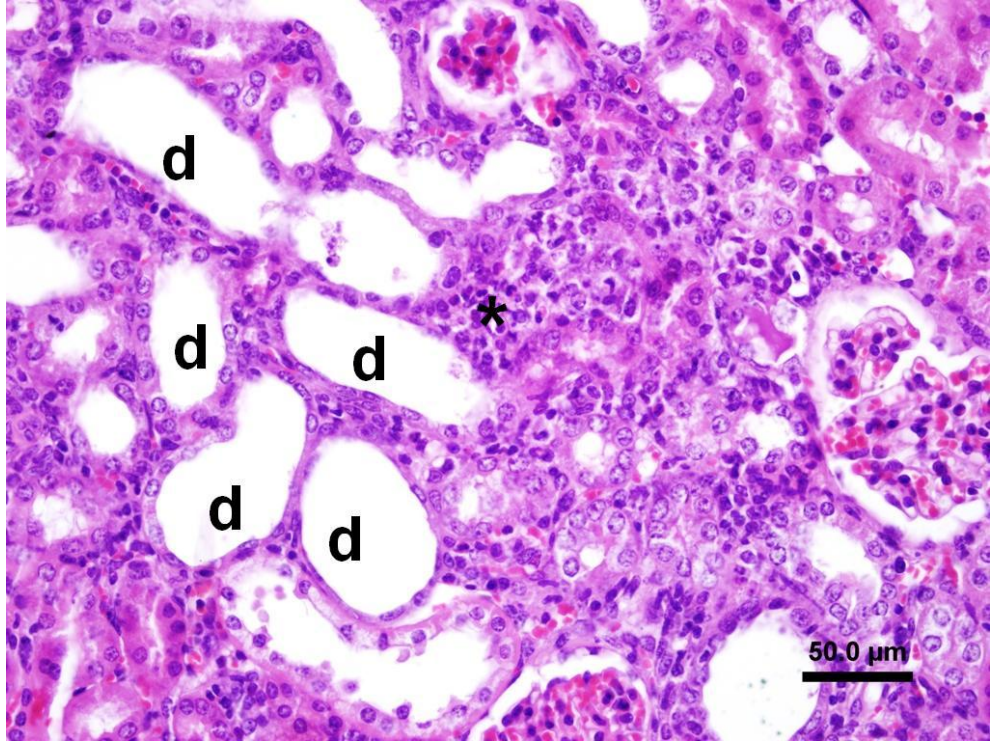


Şekil 8: ABY + yardımcı madde verilen grubun böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.

Tübüllerde dilatasyon (*) ayırt edilmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm

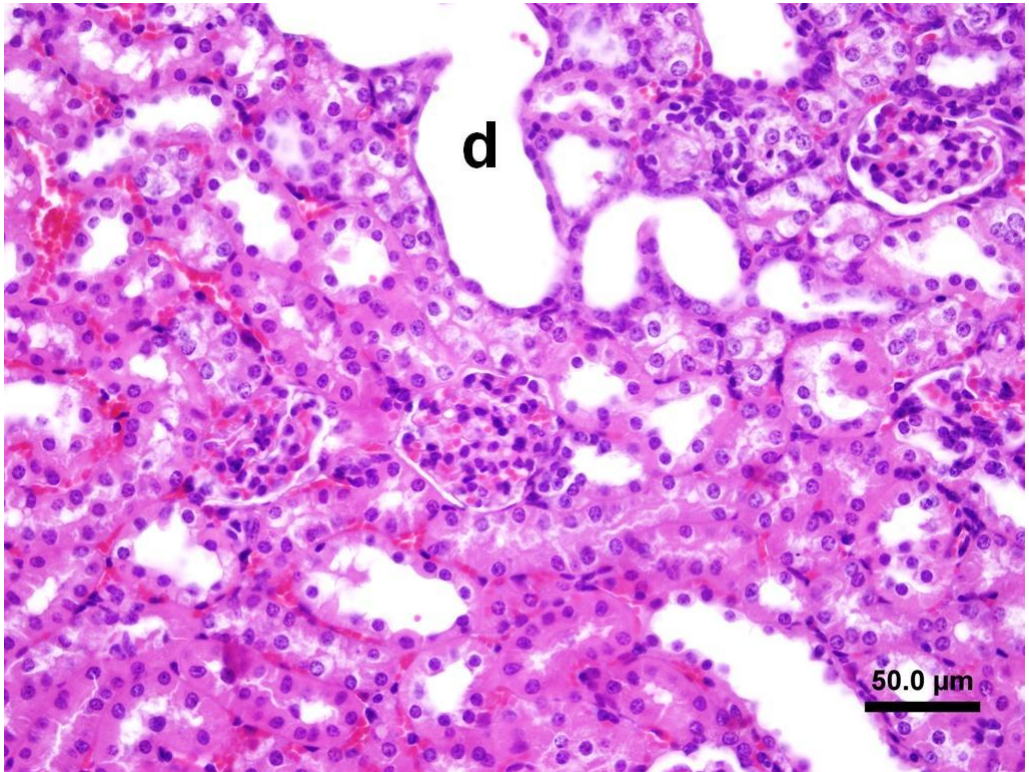


Şekil 9: ABY+0.7 mg/kg etanersept grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.
Normal tübüller (*) ile birlikte dilate olmuş tübüllerde (d) ayırt edilmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm



Şekil 10: ABY+3,5 mg/kg etanersept grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.

Dilate olmuş tübüller (d) ve mononuklear hücre infiltrasyonu (*) ayırt edilmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm

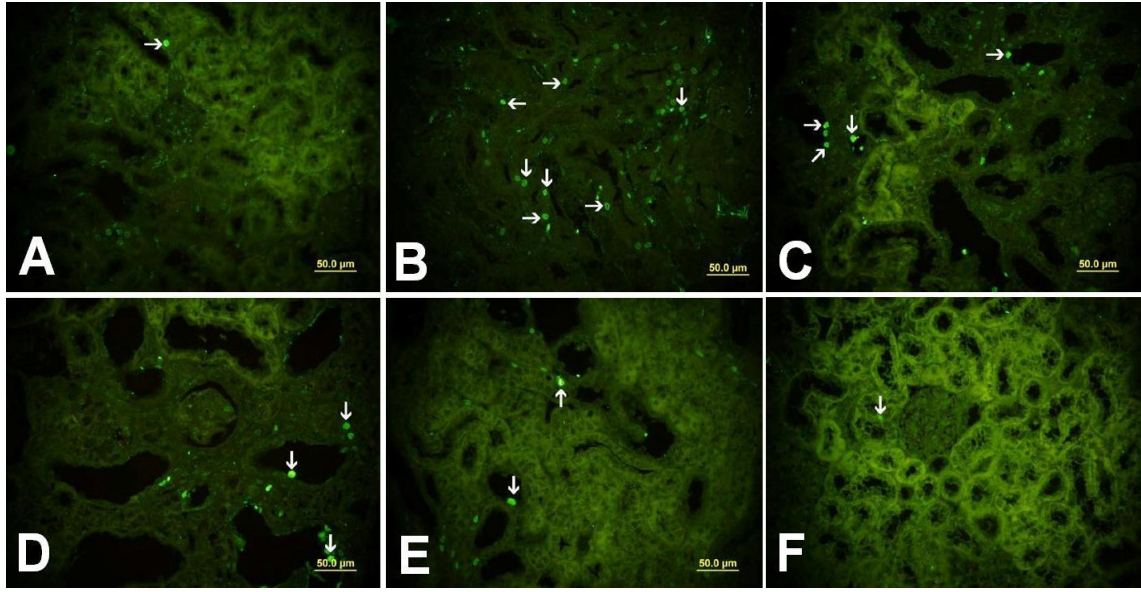


Şekil 11: ABY + 7 mg/kg etanersept grubu böbrek dokusuna ait histolojik görüntü.

Apoptosis bulguları

Dilate olmuş tübüllerin (d) sayısında azalma dikkati çekmekte. H&E. Ölçek çubuğu: 50µm

Böbrek dokusunda apoptotik hücreleri belirlemek için TUNEL boyama yapıldı. TUNEL pozitif hücrelerin sayılarak yapıldığı apoptotik indekste ABY grubunda apoptotik hücrelerin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı belirlendi. ABY oluşturulduktan sonra tedavi amaçlı etanersept verilen her üç grupta da apoptotik hücre sayısının deney grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı belirlendi (Şekil 12). Gruplara ait apoptotik indeks Tablo 17’de görülmektedir.



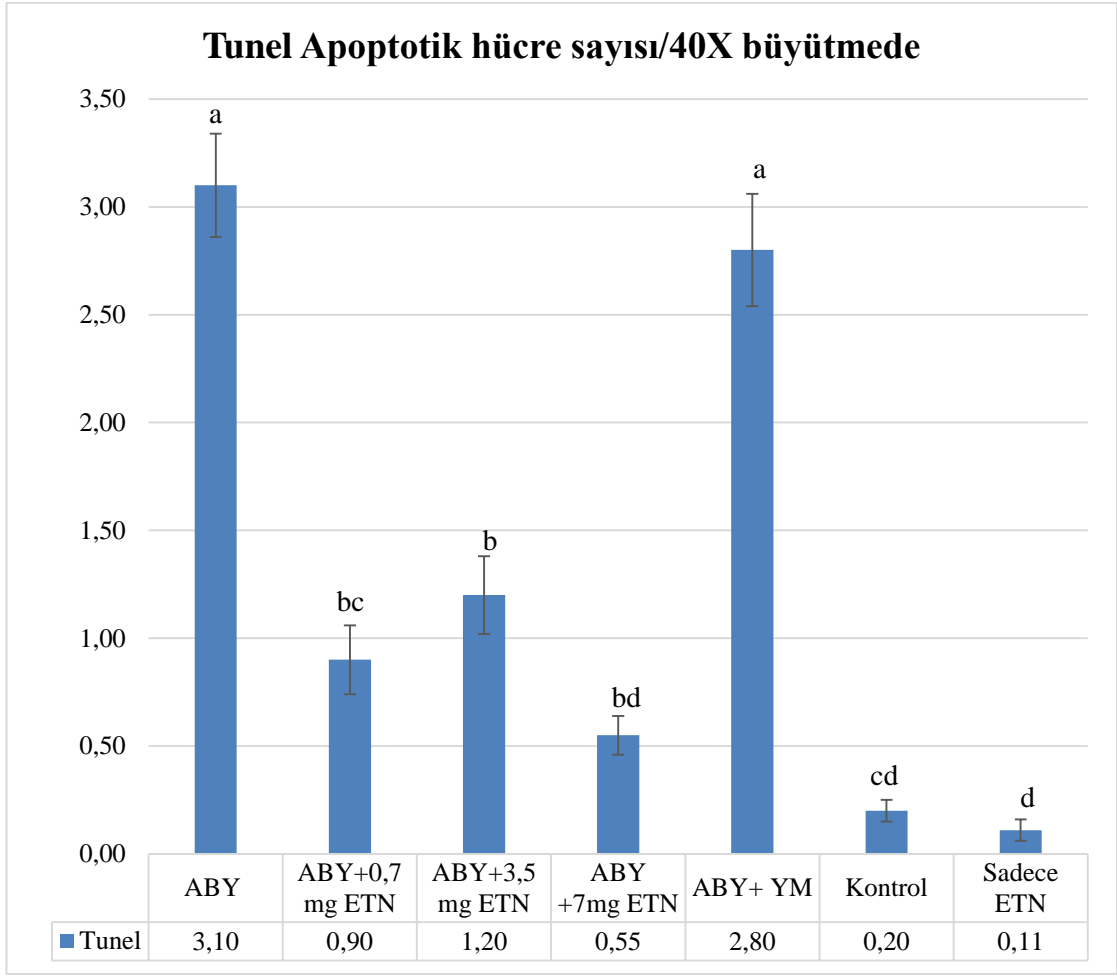
(A) Kontrol (B) ABY (C) ABY+yardımcı madde grubu (D) ABY+0.7 mg ETN grubu
(E) ABY+3,5 mg ETN grubu (F) ABY+7 mg ETN grubu Ölçek çubuğu: 50µm

Şekil 12: Tüm gruplara ait böbrek dokularındaki apoptotik hücreleri (ok) gösteren TUNEL boyama.

Tablo 17: Gruplara ait böbrek dokusundaki apoptotik indeks

Değişken	Gruplar							p
	ABY $\bar{x}\pm SH$	ABY+0,7 mg ETN $\bar{x}\pm SH$	ABY+3,5 mg ETN $\bar{x}\pm SH$	ABY+7mg ETN $\bar{x}\pm SH$	ABY+YM $\bar{x}\pm SH$	Kontrol $\bar{x}\pm SH$	Sadece ETN $\bar{x}\pm SH$	
Tunel	n=70 3.10±0.24 ^a	n=70 0.90±0.16 ^{bc}	n=70 1.20±0.18 ^b	n=70 0.55±0.09 ^{bd}	n=70 2.80±0.26 ^a	n=70 0.20±0.05 ^{cd}	n=70 0.11±0.05 ^d	< 0.001

Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder.



Şekil 13: Apoptotik indeks

Veriler aritmetik ortalama ile birlikte standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre (Tukey HSD) aynı harfler gruplar arası farkın anlamlı olmadığını, farklı harfler ise anlamlı olduğunu ifade eder ($p < 0.05$). ABY (250 mg/kg Folik Asit), ETN (Etanersept), YM: (Yardımcı Madde).

5. TARTIŞMA

ABY daha öncesinde böbrek hastalığı olmayan kişilerde çeşitli sebeplerle ortaya çıkabilmekle birlikte kronik böbrek yetmezliği (KBY) zemininde de gelişebilir. Yüksek seyredilen mortalite ve morbidite oranlarına sahip olan ABY yüksek riskli sayılabilecek hastaneye başvuru ve yatış endikasyonudur. Farklı çalışmalarda hastane yatışlarının %0.4 ile %1.9'unu, yoğun bakım yatışlarının ise %3 ile %25'inin ABY'den dolayı olduğu görülmektedir (101–103). ABY hastanede yatmakta olan hastaların yatış süresini, tedavi maliyetlerini ve mortalitelerini arttırmaktadır. Sunulan bu çalışmada etanerseptin ABY'de koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

Günümüzde çeşitli tekniklerle hayvan çalışmalarında ABY modelleri oluşturulabilmektedir. Bu çalışmada folik asitle oluşturulan ABY modeli uygulanmıştır. Yuan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada folik asitle oluşturulan ABY modelinin; böbrek tübülüsleri içerisinde hızla beliren folik asit kristallerini takiben gelişen apoptozis ve tübüler nekroz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada tübüler nekrozla beraber epitelyal rejenerasyon ve kortikal skar dokusu geliştiği gösterilmiştir (13).

Sebebine bağlı olarak ABY tekrarlayabilmekte ve kronik böbrek yetmezliğine de ilerleyebilmektedir (104). ABY'nin prognoz seyri ve tedavi seçimi; ABY sebebine, etkilenen nefron oranına ve birlikte görülebilen diğer sistem hastalıklarına bağlı olarak değişebilmektedir.

Sunulan bu çalışmada ABY modelinin deneysel olarak oluşturduğu, ABY grubunun kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucu, histolojik ve biyokimyasal olarak gösterilmiştir. BUN düzeyinin artması, H&E ve Tunel teknikleriyle elde edilen görüntüler ve sonuçlar literatürde daha önce bu çalışmada uygulanan ABY modelini içeren araştırmalar ile uyumlu olarak bulunmuştur (14,105–108).

Bu çalışma sırasında ABY modeli uygulanan gruplardaki bazı hayvanlar komplikasyonlara bağlı olarak öldü. Bu gruplarda görülen ölüm oranları aynı modeli uygulayan Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzer orandadır (106). ABY modeli oluşturulmayan diğer gruplarda ölen hayvan olmadı. Kontrol ve sadece etanersept verilen gruplarda ölüm olmaması; ölümlerin ABY zemininde gelişen komplikasyonlara bağlı olduğunun göstergesi sayılabilir.

Ayrıca yine aynı gruplarda (Grup 6 ve 7) 0. gün ile 7. gün arası ağırlık değişim farklarının ortalaması diğer gruplara oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha az gerçekleşmiştir. Kilo kaybının ABY grubu ile tedavi grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu tespit edilmiştir. Tedavi gruplarında ağırlık değişimi ve ölüm oranının iyileşmesinin dozla birlikte düzelebileceği gösterilmiştir.

BUN ölçümü farklı klinik amaçlarla da kullanılabilmeyle beraber özellikle böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan biyokimyasal bir testtir. Akut ve kronik böbrek yetmezliği durumlarında yüksekliği tespit edilir. Bu çalışmada BUN değerlerinin ABY grubu ile diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı derece yüksek olduğu tespit edildi. Sunulan bu çalışmada gerçekleştirilen ABY modelini uygulayan Wen ve arkadaşları ile Kumar ve arkadaşlarının yaptığı araştırmalarda da BUN ve kreatinin değerlerinin folik asit enjeksiyonunu takiben saatler içerisinde yükseldiği gösterilmiştir (14, 108). BUN ve kreatinin değerlerindeki yükselme ABY zeminine dayanmaktadır. ABY'nin bu kadar hızlı gelişmesi bu çalışmada belirlediğimiz ölümlerin folik asit enjeksiyonunu takiben 2. günde başlaması ile uyumludur. Wen ve arkadaşları ile Wan ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmalarda BUN düzeyleri ilk 24-48 saat içinde artış gösterdikten sonra 3. günden itibaren düşme eğilimine girdiği gösterilmiştir (14, 16). Sunulan bu çalışmada ise BUN düzeylerine 7. gün bakılmış ve ABY grubunda diğer gruplara oranla yüksek bulunmuştur. 7 mg/kg etanersept tedavi

grubunda BUN değerlerinin ABY grubuna oranla daha düşük olması etanerseptin ABY gelişiminde koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Dai ve arkadaşlarının aynı ABY modeli ile yaptıkları çalışmada 2. Gün artan kreatinin değerleri 6. gün normal sınırlara gerilemiştir (105). Bu bilgiler ile korelasyon gösterecek şekilde bu çalışmada ölçülen kreatinin değerleri arasında anlamlı fark görülememiştir. Bunun sebebini kan örneğinin 7. gün alınması olarak açıklayabiliriz.

Son yıllarda GFH ölçümü ve böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için sistatin-c düzeyinin kullanım sıklığı klinikte yaygınlaşmaktadır. Marwyne ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sistatin-c'nin, kreatinine göre vücut kitlesi değişikliklerinden daha az etkilendiğini göstermiştir (109). Chang ve arkadaşları sistatin-c'nin serum kreatininine oranla GFH değişikliğini göstermesi bakımından erken bir indikatör olduğunu göstermişlerdir (110).

Sunulan bu çalışmada yapılan sistatin-c ölçümleri sonucu ABY+yardımcı madde ile ABY+3,5 mg tedavi grupları dışında diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Bunun sebebi olarak serum değerlerinin 3. günden itibaren düzelme eğilimi göstermesi görülebilir. Wang ve arkadaşlarının aynı modeli uygulayarak yaptıkları çalışmada sistatin-c düzeyleri 3. günden itibaren azalma eğilimi göstermektedir (106).

Shimizu ve arkadaşları ile Olsen ve arkadaşlarının çalışmaları böbrek tübülüslerinde meydana gelen apoptozis ve nekrozun ABY gelişmesinde etkin rol alabileceğini göstermektedir (111, 112). Kaspaz (Cysteine aspartate specific protease) enzim sisteminin rol oynadığı süreçler neticesinde apoptozis gerçekleşir.

Böbrek tübülüslerinin endojen veya eksojen nefrotoksik maddelere maruz kalmaları sonucu hücre hasarına yol açan kompleks immün sistem sinyal yolları aktive olur. Devamında gelişen güçlü enflamatuvar yanıt böbrek doku hasarının kötüleşmesine yol açar (113).

Enflamasyonun merkezinde yer alan sitokinlerden TNF- α , akut faz reaksiyonunu uyaran bir proenflamatuvar sitokindir. Aktive makrofajlardan ve T hücrelerinden transmembran

proteini olarak sentezlenir. TNF- α apoptotik hücre ölümünü ve enflamasyonu indükler (80,114). TNF- β T-lenfositlerden salgılanır. TNF- β , TNF- α ya benzer biyolojik aktiviteye sahip sitotoksik proteindir. TNF- β ve TNF- α %30 oranında amino asit homolojisine sahiptirler (74) . TNF- α özellikle apoptozis ve Nükleer Faktör Kappa-B (NF-kB) sinyal yolağını aktive eder (76). Enflamatuar sitokinler olan IL1, IL6, TNF- α (kendi üretimini artırıcı etkisi vardır) ve granülosit makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF) başta olmak üzere çok sayıda interlökin ve kemokinlerin üretilmesine neden olur (115,116). TNF- α , TNFR-1 ve TNFR-2 üzerinden etki gösterir. TNFR-1’de ligant bağlanmasından sonra Kaspaz-8 sinyal yolağının aktivasyonu gerçekleşir. Aktifleşen kaspaz-8, pro-kaspaz-3 moleküllerini aktifleştirir ve apoptozis süreci aktive edilmiş olur. TNFR-1 üzerinden yayılan sinyaller Kaspaz-8 üzerinden hücre ölümüne sebep olur. TNF- α ’nın TNFR2’ye bağlanması sonucu TNFR-1 üzerinden oluşan sinyalden farklı bir yolak açılır. Burada, ligant bağlı TNFR-2’e ilk bağlanan proteinler TRAF1/2 (TNF-Receptor Associating Factor) kompleksidir. Bu sinyal yolağı sonucu NF-kB aktif hale gelir. TNFR-2 de apoptozis oluşumunu ve şiddetini artırır (117,118).

Gelişen enflamatuar yanıtın baskılanması hem koruyucu hemde ilerlemeyi durdurucu yönde etki gösterebilir. Sunulan bu çalışmada enflamasyon yanıtını kontrol edebilmek ve ABY’de koruyucu etkisini göstermek amacıyla rekombinant TNF- α reseptör füzyon proteini olan etanersept kullanılmıştır. Lee ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada doku hasarı sonrası TNF- α düzeyinin 1 saat içerisinde yükselmeye başladığı gösterilmiştir (119). Hayashi ve arkadaşlarının çalışmasında da ilk saatlerde TNF- α seviyelerinde hızlı bir artış olduğu saptanmıştır (120). Bu sonuçlar ile uyumlu olarak çalışmamızda etanersept dozu ABY modeli oluşturulmasını takiben ilk bir saat içerisinde uygulanmıştır. Etanersept klinikte (romatoid artrit, psoriatik artrit, ankilozan spondilit ve psöriazis’de) haftada iki defa (3-4 gün arayla) 2x25 mg veya haftada bir kez 1x50 mg dozlarında subkutan olarak uygulanmaktadır. Yani rutin kullanım dozu 70 kg erişkin birey için 0,7 mg/kg olmaktadır. Bu çalışmada artan dozlarda sırasıyla 0,7 – 3,5 ve 7 mg/kg etanersept kullanıldı.

Etanersept, TNF- α ve TNF- β ’nın hücre yüzey reseptörleri ile etkileşimine engel olur (100). Hücre içi sinyal yollarının aktive olmasını engelleyerek apoptozisi ve hücre ölümünü engeller. Sunulan bu çalışmada da etanerseptin ABY de koruyucu etki

gösterdiği tespit edilmiştir. Etanersept dozunun artmasıyla orantılı olarak apoptozis sayısı azalmıştır. Apoptozis sayısında azalmanın yanında glomerül ve tübüllerin histolojik normal görünümünün korunduğu da görülmüştür. Wan ve arkadaşları folik asid ile akut böbrek yetmezliği oluşturulan farelerde TNF- α 'yı bir nötralize edici antikor kullanarak inhibe etmişlerdir. Sunulan bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde araştırmacılar bu inhibisyonun ABY'nin önlenmesinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada folik asit uygulanmasını takiben 48 saat içinde kanda ve serumda TNF- α seviyelerinin arttığını ve TNF- α antikorunun uygulanması sonucu TNF- α seviyelerinin azaldığını göstermişlerdir. TNF- α seviyelerinin azalmasının apoptozisi önleyerek ABY'den koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir (16). Choi ve arkadaşları ise sunulan bu çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak iskemi reperfüzyon modeli ile böbrek hasarı oluşturulmuş sıçanlarda etanerseptin koruyucu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada iskemi reperfüzyon hasarı ile transplantasyon modeli böbrek yetmezliği oluşturulmuş ve ilk 24 saat sonrası etanersept uygulanan gruplarda BUN, kreatinin oranları daha düşük bulunmuştur. Ayrıca TNF- α ve apoptotik hücre sayılarının azaldığı gösterilmiştir (70).

Klinikte ABY'nin en sık sebeplerinden olan akut tübüler nekrozun temelinde tübülüs hücrelerinin ölümü ve apoptozis vardır. Bu çalışmada apoptozis rutin histolojik tekniklerle gösterilmiştir. Ayrıca apoptozisi tespit etmede daha hassas olan tunel boyama tekniği kullanılmıştır. Tunel boyama tekniği temelde apoptozisin göstergesi olarak DNA fragmentasyonunu göstermektedir. DNA parçacıklarının serbest 3'-OH uçları diaminobenzidine ile işaretlenir. İşaretli alanlar sayılarak apoptozis miktarı tespit edilir. Bu çalışmada tespit edilen tunel boyama görüntüleri aynı tekniği kullanan X. Wen ve arkadaşları ile Wan ve arkadaşlarının çalışmasında gösterdikleri bulgular ile uyumludur (14,16). Sunulan bu çalışmada tedavi grupları ile ABY grubunun, apoptozisi önlemesi bakımından tedavi gruplarında daha düşük apoptozis olacak şekilde anlamlı farklılık göstermesi etanerseptin koruyucu etkisini göstermektedir. Ayrıca tedavi grupları içinde doza bağımlı olarak anlamlı iyileşme olması dikkat çekicidir.

Daha önce değinildiği gibi sunulan bu çalışmada etanersept, klinikte kullanılan dozuna yaklaşık dozda (0.7 mg/kg) ve daha yüksek dozlarda kullanılmıştır. Kontrol grubu ile sadece etanersept (7mg/kg) verilen grubun arasında apoptozis sayısı, BUN ve kreatinin

düzeyleri, 7. ve 0. gün ağırlık farkları karşılaştırıldığında anlamlı fark olmaması etanerseptin çok yüksek dozlarda bile böbrek üzerinde toksik etkili olmadığını göstermektedir. Literatürde daha önce yapılan çalışmalarda bu çalışmada uygulanan etanersept dozunun üzerinde araştırmalar yapılmış ve toksik etki görülmemiştir (121–123).

6. SONUÇLAR

Sunulan bu çalışmada etanerseptin ABY gelişiminin önlenmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yüksek dozlarında bile herhangi bir nefrotoksik etki ortaya çıkmadığı görülmüştür. Bu bulgulardan yola çıkılarak etanerseptin ABY gelişme riski olan hastalarda kullanımının araştırılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Akcan-Arikan A, Zappitelli M, Loftis LL, Washburn KK, Jefferson LS, Goldstein SL. Modified RIFLE criteria in critically ill children with acute kidney injury. *Kidney Int.* 2007 May;71(10):1028-35. Epub 2007 Mar 28.
2. Vogt BA, Avner ED. Renal Failure. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 18 th edition. Philadelphia: WBSaunders, 2007; 2206-2209.
3. Schnellmann RG, Kelly KJ. Pathophysiology of nephrotoxic acute renal failure. In: Schrier RW, Berl T, Bonventre JV, editors. *Atlas of Diseases of the Kidney (volume one).* Philadelphia: Blackwell publishing, 1999; Chapter 15.
4. Brivet FG, Kleinknecht DJ, Loirat P, Landais PJ. Acute renal failure in intensive care units--causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality; a prospective, multicenter study. French Study Group on ARF. *Crit Care Med.* 1996 Feb;24(2):192-8.
5. Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT. Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. *Am J Med.* 1983 Feb;74(2):243-8.
6. Finn WF, Chevalier RL. Recovery from postischemic acute renal failure in the rat. *Kidney Int.* 1979;16(2):113-23.
7. Zager RA, Burkhart KM, Conrad DS, Gmur DJ, Iwata M. Phospholipase A2-induced cytoprotection of proximal tubules: potential determinants and specificity for ATP depletion mediated injury. *J Am Soc Nephrol.* 1996; 7: 64-72.
8. Sandborn W, Stephan R. *Biologic Therapy of Inflammatory Bowel Disease , Gastroenterology* 2002;122:1592-1608 Los Angeles, California USA.
9. Kayaalp. rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji 28. Yıl 11. Baskı sy. 861.
10. Michaela Lehnen, Tom Franckson, Andreas Korber, Stephan Grabbe and Joachim Dissemond. Etanercept Therapy of Psoriatic Arthritis in a Patient with Liver Cirrhosis . Department of Dermatology, University of Essen. 55, DE-45122. September 22, 2004.

11. Krueger G, Callis K. Potential of tumor necrosis factor inhibitors in psoriasis and psoriatic arthritis. *Arch Dermatol*. 2004 Feb;140(2):218-25.
12. Hai-Chun Yang, Yiqin Zuo, and Agnes B. Fogo. Models of chronic kidney disease. Dept. of Pathology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, TN, doi: 10.1016/j.ddmod.2010.08.002. *Drug Discov Today Dis Models*. 2010; 7(1-2): 13–19.
13. Yuan HT, Li XZ, Pitera JE, et al. Peritubular capillary loss after mouse acute nephrotoxicity correlates with down-regulation of vascular endothelial growth factor-A and hypoxia-inducible factor-1 alpha. *Am J Pathol*. 2003; 163:2289–2301.
14. Xiaoyan Wen, Zhiyong Peng, Yingjian Li, Hongzhi Wang, Jeffrey V. Bishop, Lisa R. Chedwick, Kai Singbartl and John A. Kellum One dose of cyclosporine A is protective at initiation of folic acid-induced acute kidney injury in mice *Nephrol Dial* 27: 3100–3109-12.
15. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ (2001). "The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology". *Cell* 104 (4): 487–501. doi:10.1016/S0092-8674(01)00237-9. PMID 11239407.
16. Wan B, Hao L, Qiu Y, Sun Z, Cao Q, Zhang Y, Zhu T, Wang H, Zhang Y. Blocking tumor necrosis factor-alpha inhibits folic acid-induced acute renal failure. *Exp Mol Pathol*. 2006 Dec;81(3):211-6. Epub 2006 Apr 3 .
17. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *N Engl J Med* 1996; 334:.
18. Keener, James; Sneyd, James (2004). "20: Renal Physiology". In Marsden, J.E. *Mathematical Physiology (Book)*. Interdisciplinary Mathematics. *Mathematical Biology Vol. 8*. Sirovich, Wiggins (1st ed.). New York, NY: Springer Science +Business Media LLC. s. 6.
19. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH et al. (May 2009). "A new equation to estimate glomerular filtration rate". *Annals of Internal Medicine* 150 (9): 604–12. doi:10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006. PMC 2763564. PMID 19414839.

20. Lameire N, Biesen WV, Vanholder R. The changing epidemiology of acuterenal failure. *Nat Clin Pract* 2006; 2: 364-377 .
21. Becker GJ, Fairley KF. Urinalysis. In Massry SG, Glassock RJ, ed. *Textbook of Nephrology*, 4th ed, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1765-1783.
22. Reiser IW, Porush JG. Evaluation of renal function. In Massry SG, Glassock RJ, ed. *Textbook of Nephrology*, 4th ed, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 1793-1802.
23. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS (June 2006). "Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate". *The New England Journal of Medicine* 354 (23): 2473–83. doi:10.1056/NEJMra054415.
24. Coll, E., Botey, A., Alvarez, L., Serum Cystatin-C as a New Marker for Non-invasive Estimation of Glomerular Filtration Rate and as a Marker for Early Renal Impairment, *Am. J. Kidney Dis.*, 36(1), p205-207, 2001.
25. *Günlük Nefroloji ve Böbrek Yetmezliğinde İlaç Kullanımı* 2006 3. Baskı Prof. Dr. Tekin AKPOLAT Prof. Dr. Cengiz UTAŞ, sy 10.
26. Anderson S. Proteinuria. In: Greenberg A, Coffman T, ed. *Primer on Kidney Diseases*. 3rd ed. San Diego, CA: Academic Press; 2001: 42-46.
27. Kasiske BL, Keane WF. Laboratory assessment of renal disease. In Brenner BM, ed. *The Kidney* 6th ed. Philadelphia, WB Saunders Co. 2000: 1129-1170.
28. Kallner A, Ayling PA, Khatami Z (2008). "Does eGFR improve the diagnostic capability of S-Creatinine concentration results? A retrospective population based study". *International Journal of Medical Sciences* 5 (1): 9–17. doi:10.7150/ijms.5.9. PMC 2204044. .
29. Lameire NH. The pathophysiology of acute renal failure. *Crit Care Clin* 2005;21:197-210.
30. Hoste EA, Clermont G, Kersten A et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care* 2006; 10: R73.

31. Singri N, Ahja SN, Levin ML. Acute renal failure. *JAMA* 2003; 289:747-51.
32. Needham E. Management of Acute Renal Failure. *American Family Physicin.* 2005; 72:.
33. Miller TR, Anderson RJ, Linas SL, Henrich WL, Berns AS, Gabow PA, Schrier RW. Urinary diagnostic indices in acute renal failure: a prospective study. *Ann Intern Med.* 1978 Jul;89(1):47-50.
34. Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet* 2005 365: 417-430.
35. Honda N, Hishida A. Pathophysiology of experimental nonoliguric acute renal failure. *Kidney Int.* 1993 Mar;43(3):513-21.
36. Khan IH, Catto GR, Edward N, et.al. Acute renal failure: factors influencing nephrology referral and outcome. *OJM* 1997 90:781-85.
37. Albright RC, Do J. Acute renal failure: A practical update. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 67-74.
38. Abernethy VE, Lieberthal W. Acute renal failure in the critically ill patient. *Crit Care Clin* 2002;18:203-222.
39. Nguyen MT, Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 2008; 23(12): 2151-7.
40. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG (December 2004). "Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease". *Annals of Internal Medicine* 141 (12): 929–37. doi:.
41. Ympa YP, Sakr Y, Reinhart K, Vincent JL. Has mortality from acute renal failure decreased? A systematic review of the literature. *Am J Med* 2005; 118:827-32.
42. Liu KD, Chertow GM. Acute Renal Failure In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J (eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine.* USA. Mc Graw Hill Medical 2008:1752-61.

43. Jafferson JA, Thurman JM, Schrier RW. Pathophysiology and etiology of acute kidney injury. In: Floege J, Jonhson RJ, Feehally J (eds). *Comprehensive Clinical Nephrology*. St. Louis, Missouri, USA. Elsevier 2010: 797-813.
44. Selcuk NY, Odabaş AR, Cetinkaya R ,Tonbul HZ, San A. Frequency and outcome of patients with acute renal failure have more causes than one in etiology. *Ren Fail* 2000; 22:459-64.
45. Brady HR, Brenner BM. Acute renal failure. In:Harrison's Principles os İnternal Medicine.2001 sayfa. 1541-51 Kasper DL BE, Fauci AS, Longo DL,.
46. Lameire N, Vanholder R. Pathophysiologic features and prevention of human and experimental acute tubular necrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2001 Feb;12 Suppl 17:S20-32.
47. Yang L, Bonventre JV. Diagnosis and clinical evaluation of acute kidney injury. In: Floege J, Jonhson RJ, Feehally J (eds). *Comprehensive Clinical Nephrology*. St. Louis, Missouri, USA. Elsevier 2010:821-9.
48. Horoz M, Özgür Ö. Akut Böbrek Yetmezliği. *Harran Üniv Tıp Fak Dergisi* 2004; 1(3): 48-63.
49. Feest TG1, Round A, Hamad S. Incidence of severe acute renal failure in adults: results of a community based study. *BMJ*. 1993 Feb 20;306(6876):481-3.
50. Gailiunas P Jr, Chawla R, Lazarus JM, Cohn L, Sanders J, Merrill JP. Acute renal failure following cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1980 Feb;79(2):241-3.
51. Lieberthal W. Biology of acute renal failure: Therapeutic implications. *Kidney Int* 1997;52:1102-15.Kaynak 2 : Molitoris BA, Marrs J. The role of cell adhesion molecules inischemic acute renal failure. *Am J Med* 1999;106:583-92.
52. Kelly KJ, Williams WW Jr, Colvin RB, Bonventre JV. Antibodyto intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney againstischemic injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:812-6. .
53. Nissenson, Acute Renal Failure: Definition and Pathogenesis, *Kidney Int*. 1998;53(66): 7-10.

54. Lameire NH, De Vriese AS, Vanholder R. Prevention and nondialytic treatment of acute renal failure. *Curr Opin Crit Care* 2003;9:481-90.
55. Venkataraman R. Can we prevent acute kidney injury? *Crit Care Med* 2008 (Suppl 4):166-71.
56. McCullough PA. Acute kidney injury with iodinated contrast. *Crit Care Med* 2008;36:204-11.
57. Solomon R, Werner C, Mann D, et.al. Effects of saline, mannitol, and furosemide to prevent acute decreases in renal function induced by radiocontrast agents. *N Engl J Med* 1994;331:1416-20.
58. Better OS, Rubinstein I. Management of shock and acute renal failure in casualties suffering from the crush syndrome. *Ren Fail* 1997;19:647-53.
59. Brady HR, Singer GG. Acute renal failure. *Lancet* 1995; 346:1533-1540.
60. Kellum JA. Use of diuretics in the acute care setting. *Kidney Int Suppl* 1998;66: 81-86.
61. Bataller R, Sort P, Ginès P, Arroyo V. Hepatorenal syndrome: definition, pathophysiology, clinical features and management. *Kidney Int Suppl.* 1998 May;66:S47-53.
62. Gines P, Arroyo V: Hepatorenal syndrome. *J Am Soc Nephro* 1999;10:1833–1839.
63. Koluman ve Dericci.Yoğun Bakım Ünitelerinde Akut Böbrek Yetmezliği ve tedavi yöntemleri-Genel Tıp Dergisi 2009;19(4) .
64. Brady HR, Clarkson MR, Lieberthal W. Acute Renal Failure. In: Brenner BM, editor. *Brenner and Rector's Kidney*.7th ed. Philadelphia: Saunders: 2004. sayfa. 1215-92.
65. Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N. Developing a consensus classification system for acute renal failure. *Curr Opin Crit Care.* 2002 Dec;8(6):509-14.
66. Bongard FS, Sue DY, Vintch JRE. *CURRENT Diagnosis and Treatment Critical Care, Third Edition LANGE CURRENT Series* 0071436571-978.

67. Zager RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int.* 1996 Feb;49(2):314-26.
68. Spiegel DM, Shanley PF, Molitoris BA. Mild ischemia predisposes the S3 segment to gentamicin toxicity. *Kidney Int.* 1990 Sep;38(3):459-64.
69. Fuller TF, Serkova N, Niemann CU, et al: Influence of donor pretreatment with N-acetylcysteine on ischemia/reperfusion injury in rat kidney grafts. *J Urol* 171:1296, 2004.
70. Choi DE1, Jeong JY, Lim BJ, Na KR, Shin YT, Lee KW.) Pretreatment with the tumor necrosis factor- α blocker etanercept attenuated ischemia-reperfusion renal injury. *Transplant Proc.* 2009 Nov;41(9):3590-6. doi: 10.1016/j.transproceed.2009.05.042.
71. Deng J1, Kohda Y, Chiao H, Wang Y, Hu X, Hewitt SM, Miyaji T, McLeroy P, Nibhanupudy B, Li S, Star RA. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney Int.* 2001 Dec;60(6):2118-28.
72. Güner İ, Özmen D, Bayındır O: Sitokinler. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*, 17:65-74, 1997.
73. Beutler B, Greenwald D, Hulmes JD, Chang M, Pan YC, Mathison J et al. (1985). "Identity of tumour necrosis factor and the macrophage-secreted factor cachectin". *Nature* 316 (6028): 552-4. Bibcode:1985Natur.316..552B.
74. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D, Goeddel DV, Gray PW. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res.* 1985 Sep 11;13(17):6361-73.
75. Kriegler M, Perez C, DeFay K, Albert I, Lu SD (1988). "A novel form of TNF/cachectin is a cell surface cytotoxic transmembrane protein: ramifications for the complex physiology of TNF". *Cell* 53 (1): 45-53.
76. Hsu H, Xiong J, Goeddel DV: The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF- κ B activation. *Cell*, 81(4):495-504, 1995.

77. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC et al. (December 1987). "Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia". *Nature* 330 (6149): 662–64.
78. Old LJ (1985). "Tumor necrosis factor (TNF)". *Science* 230 (4726): 630–2.
79. Tang P, Klostergaard J (1996). "Human pro-tumor necrosis factor is a homotrimer". *Biochemistry* 35 (25): 8216–25.
80. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, Peschon JJ, Slack JL, Wolfson MF et al. (1997). "A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- α from cells". *Nature* 385 (6618): 729–33.
81. Kılıçturgay K: İmmunolojiye Giriş. 3. baskı, Bursa: Güneş & Nobel Tıp Kitapevleri, s.128-37, 1994.
82. Palladino MA, Bahjat FR, Theodorakis EA, Moldawer LL (September 2003). "Anti-TNF- α therapies: the next generation". *Nature Reviews Drug Discovery* 2 (9): 736–46.
83. Bouwmeester T, Bauch A, Ruffner H, Angrand PO, Bergamini G, Croughton K et al. (February 2004). "A physical and functional map of the human TNF α /NF- κ B signal transduction pathway". *Nat. Cell Biol.* 6 (2): 97–105.
84. Olszewski MB, Groot AJ, Dastyh J, Knol EF (May 2007). "TNF trafficking to human mast cell granules: mature chain-dependent endocytosis". *J. Immunol.* 178 (9): 5701–9.
85. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- α production in humans" *FASEB J* 2003;17:884–886. .
86. Aydınтуğ O, Tokgöz G: Klinik immünoloji'de stokinler. 1. baskı, Ankara: Antıp A.Ş. Yayınları, s.85-100, 1997.
87. Aggarwal BB, Kohr WS, Hass PE: Human Tumor Necrosis Factor. *J Biol Chem.*, 260:2345-52, 1992.
88. Stark M, Jones SJ, Blake L: Tumor necrosis factor. *Lancet*, 345:468-73, 1995.

89. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P (2003). "Tumor necrosis factor signaling". *Cell Death Differ.* 10 (1): 45–65.
90. Gaur U, Aggarwal BB (2003). "Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily". *Biochem. Pharmacol.* 66 (8): 1403–8.
91. Hoste EA, Lameire NH, Vanholder RC, Benoit DD, Decruyenaere JM, Colardyn FA. Acute renal failure in patients with sepsis in a surgical ICU: predictive factors, incidence, comorbidity, and outcome. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Apr;14(4):1022-30.
92. Arai K, Lee F, Miyajima A, Miyatake S, Arai N, Yokota T: Cytokines: Coordinators of Immune and Inflammatory Responses. *Ann Rev Biochem.*, 59:783-836, 1990.
93. Clark IA (June–August 2007). "How TNF was recognized as a key mechanism of disease". *Cytokine Growth Factor Rev.* 18 (3–4): 335–343.
94. Graves DT, Cochran D: The contribution of IL-1 and tnf to periodontal tissue destruction. *J Periodontol*, 74(3): 391-401, 2003.
95. Chen G, Goeddel DV (2002). "TNF-R1 signaling: a beautiful pathway". *Science* 296 (5573): 1634–5.
96. Micheau O, Tschopp J (July 2003). "Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes". *Cell* 114 (2): 181–90.
97. Baykal Y. Antiinflammatuar sitokinler. *GATA Bülteni* 40:113-7, 1998.
98. Beutler BA: The role of tumor necrosis factor in health and disease. *J Rheumatol* 57:16-21, 1999.
99. Wallis RS. Tumour necrosis factor antagonists: structure, function, and tuberculosis risks. *Lancet Infect Dis* 2008;8:601-11.
100. Scallon B, Cai A, Solowski N, et al. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;301:418-26.

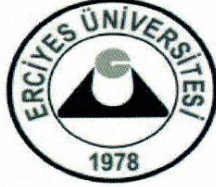
101. Ronco C1, Ricci Z. Renal replacement therapies: physiological review. *Intensive Care Med.* 2008 Dec;34(12):2139-46. doi: 10.1007/s00134-008-1258-6. Epub 2008 Sep 13.
102. Liaño F1, Pascual J. Epidemiology of acute renal failure: a prospective, multicenter, community-based study. Madrid Acute Renal Failure Study Group. *Kidney Int.* 1996 Sep;50(3):811-8.
103. Medve L1, Antek C, Paloczi B, Kocsi S, Gartner B, Marjanek Z, Bencsik G, Kanizsai P, Gondos T. Epidemiology of acute kidney injury in Hungarian intensive care units. *BMC Nephrol.* 2011 Sep 13;12:43. doi: 10.1186/1471-2369-12-43.
104. Bagshaw SM. The long-term outcome after acute renal failure. *Curr Opin Crit Care* 2006; 12:561–6.
105. Dai C, Yang J, Liu Y. Single injection of naked plasmid encoding hepatocyte growth factor prevents cell death and ameliorates acute renal failure in mice. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:411–22.
106. Hong-Zhi Wang, MD*, Zhi-Yong Peng, MD, PhD, Xiao-Yan Wen. N-acetylcysteine is effective for prevention but not for treatment of folic acid-induced acute kidney injury in mice. *Crit Care Med.* 2011 November;39(11): 2487–2494. doi:10.1097/CCM.0b013e31822575fc.
107. David A. Long, Adrian S. Woolf, Toshio Suda and Hai T. Yuan Increased Renal Angiotensin-1 Expression in Folic Acid-Induced Nephrotoxicity in Mice *J Am Soc Nephrol.* 2001 Dec;12(12):2721-31.
108. Dev Kumar, Surinder K. Singla, Veena Puri, S Puri. The Restraint Expression of NF- κ B in Renal Tissue Ameliorates Folic Acid Induced Acute Kidney Injury in Mice *PLoS ONE* 10(1): e115947. doi:10.1371/journal.pone.0115947.2015.
109. Marwyne MN, Loo CY, Halim AG, Norella K, Sulaiman T, Zaleha MI. Estimation of glomerular filtration rate using serum cystatin C in overweight and obese subjects. *Med J Malaysia* 2011; 66(4): 313-7.

110. Chang HR, Kuo WH, Hsieh YS, Yang SF, Lin CC, Lee ML, et al. Circulating matrix metalloproteinase-2 is associated with cystatin C level, posttransplant duration, and diabetes mellitus in kidney transplant recipients. *Translational Research* 2008; 151:217-23.
111. Shimizu A., Yamanaka N. Apoptosis and cell desquamation in repair process of ischemic tubular necrosis. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 64:171, 1993.
112. Olsen T.S., Olsen H.S., Hansen H.E. Tubular ultrastructure in acute renal failure in man: epithelial necrosis and regeneration. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 406:75, 1985.
113. Pabla N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008; 73: 994–1007.
114. Beutler B, Milsark IW, Cerami AC (August 1985). "Passive immunization against cachectin/tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin". *Science* 229 (4716): 869–71. Bibcode:1985Sci...229..869B.
115. Feldman M. Et al. Anti-TNF alpha Therapy is useful in Rheumatoid Arthritis and Crohn's disease: analysis of the mechanism of action predicts utility in other diseases *Transplant Proc.* 1998. 30(8): p. 4126-7.
116. Feldmann, Mark. Development of anti-TNF Therapy for Rheumatoid Arthritis. *Nature reviews/Immunology*, 2002. 2: p. 364-371.
117. David J. MacEwan TNF receptor subtype signalling: Differences and cellular consequences *Cellular Signalling Volume 14, Issue 6, June 2002, Sayfa 477–492.*
118. J. Frederick Harrington, Arthur A. Messier, April Levine, Joanna Szmydynger-Chodobska, and Adam Chodobski .Shedding of Tumor Necrosis Factor Type 1 Receptor after Experimental Spinal Cord Injury *JOURNAL OF Neurotrauma Volume 22, Number 8,2005 sayfa 919-928.*
119. Lee, Y.B., Yune, T.Y., Baik, S.Y., et al. (2000). Role of tumor necrosis factor- α in neuronal and glial apoptosis after spinal cord injury. *Exp. Neurol.* 166, 190–195.

120. Hayashi M, Ueyama T, Nemoto K, Tamaki T, and Senba E Sequential mRNA expression for immediate early genes, cytokines and neurotrophins in spinal cord injury. *J Neurotrauma* 2000;17:203–218.
121. Bettina Hjelm Clausen, Matilda Degn, Nellie Anne Martin, Yvonne Couch, Leena Karimi1, Maria Orm. Systemically administered anti-TNF therapy ameliorates functional outcomes after focal cerebral ischemia. *Journal of Neuroinflammation* 2014, 11:203.
122. Bindu Chandrasekharan, Sabrina Jeppsson, Stefan Pienkowski, Denise D Belsham. Tumor necrosis factor (TNF)-neuropeptide Y (NPY) crosstalk regulates inflammation, epithelial barrier functions and colonic motility. *Inflamm Bowel Dis.* 2013 ; 19(12).2535–2546.
123. Anne Chastre, Mireille Belanger, Elizabeth B, Bich N, Paul D., Roger F. B. Inflammatory Cascades Driven by TNF-Alpha Play a Major Role in the Progression of ALF and Its Neurological Complications. *PlusOne* November 2012, Volume 7, Issue 11 ,e49670.

EKLER

Ek-1 : Etik Kurul Onay Sayfası



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(EÜHADYEK)



Tarih: 11.06.2014

Toplantı Sayısı: 6

Karar No:14/105

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

11.06.2014 tarihinde Prof. Dr. Harun ÜLGER'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Ünvanı	Bölümü	İmza
Harun ÜLGER	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Abdullah İNCİ	Prof. Dr.	Veteriner Fak.	
Özlem CANÖZ	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fak.	
Betül AYGAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fak.	
Gökçen Yuvalı ÇELİK	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Servet KESİM	Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fak.	KATILMADI
Gökçen DİNÇ	Yrd. Doç. Dr.	DEKAM	
Serap ALTUNDAŞ EROĞLU	Av.	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	KATILMADI
Asiye GÖKBELEN	Yardım Sevenler Der. Başk.	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	KATILMADI

Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Doç. Dr. Hasan Basri ULUSOY tarafından sunulan "DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULMUŞ AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİNDE ETANERSEPT'İN KORUYUCU ETKİSİ" adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 11.06.2014

Etik kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER


İmza:


T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

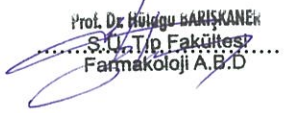
Dr. Mehmet Kara'ya ait "Deneysel Olarak Oluşturulmuş Akut Böbrek Yetmezliğinde Etanersept'in Koruyucu Etkisi" adlı çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 20/04/2015

İmza

Başkan : Prof.Dr. Hasan Berril Ulsay 

Üye : Prof.Dr. Aydın Erenmenekci 

Üye : Prof.Dr. Hilalcan Başkener 

Prof. Dr. Hilalcan BAŞKENER
S.Ü. Tıp Fakültesi
Farmakoloji A.B.D.