



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**APELİNİN SIÇANLARDA KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ
GELİŞİMİ, ENDOTEL DİSFONKSİYONU VE KARDİYAK
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

MEHMET KOÇ
DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF.DR. HIZIR KURTEL

2023-İSTANBUL



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**APELİNİN SIÇANLARDA KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİ
GELİŞİMİ, ENDOTEL DİSFONKSİYONU VE KARDİYAK
FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ**

MEHMET KOÇ
DOKTORA TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF.DR. HIZIR KURTEL

2023-İSTANBUL

BEYAN

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

Mehmet Koç

İmza

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her zaman ve her konuda desteğini gördüğüm, insani değerleri ile de daima örnek aldığım sevgili danışman hocam Prof. Dr. Hızır Kurtel'e,

Eğitimimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Berrak Yeğen ve ABD Başkanı Prof. Dr. Özgür Kasımay ve çok değerli öğretim üyeleri Prof Dr. Alper Yıldırım'a

Tez sürecimde her zaman desteğini ve bilgisini paylaşan Dr. Zarife Nigar Özdemir'e,

Deneysel çalışmamda çok emeği geçen Dr. Öğretim Üyesi Naziye Özkan'a,

Doktora çalışmalarım sırasında birlikte çalıştığım Fizyoloji ABD doktora öğrencisi arkadaşlarıma ve İç Hastalıları ABD'den Doktor Seçkin Akçay'a

Sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimle...

Mehmet KOÇ

İstanbul-2023

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-DRP-250416-0168 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR	i
ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
TABLO LİSTESİ	v
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER.....	6
4.1. Kronik Böbrek Hastalığı	6
4.2. Kronik Böbrek Hastalığı ve Kardiyovasküler Komplikasyonlar	6
4.3. Kronik Böbrek Hastalığında Kardiyak Problemler ve Patofizyolojisi.....	7
4.4. Kronik Böbrek Hastalığında Endotel Disfonksiyonu.....	8
4.5. Kronik Böbrek Hastalığında Kalp Hastalığı	9
4.5.1. Sol ventrikül hipertrofisi	10
4.5.2. KBH’da myokardiyal fibrosis	10
4.6. Deneysel Modellerde Kronik Böbrek Hastalığı	10
4.6.1. Toksik ajanlarla oluşturulan KBY modelleri	11
4.7. Artık Böbrek Modelinde KBH Patogenezi	19
4.7.1. Yapısal Adaptasyonlar	20
4.7.2. Fiziksel Güçlerin Rolü	20
4.7.3. Büyüme Faktörleri	23
4.8. Artık Modelinde Glomerülosklerozun ve Böbrek Yetmezliğinin Önlenmesi.....	24
4.9. Apelin Sistemi.	24
4.10. Apelin reseptörü.....	25
4.11. Apelin reseptör ligandları	25
4.12. Apelin ve kardiyak Etkileri	26
4.12.1. Kalp yetmezliği ve apelin sistemi	27
4.12.2. Miyokard enfarktüsü ve apelin sistemi	28
4.13. Apelin ve Böbrekler Üzerindeki Etkileri	28
4.13.1. Diyabetik böbrek hastalığı ve apelin sistemi	29
4.13.2. Sıvı homeostazı ve apelin sistemi	29

4.13.3. Polikistik böbrek hastalığı ve apelin sistemi.....	30
4.13.4. Apelin sistemi ve böbreklerde fibrozis üzerine etkileri	31
5. GEREÇ ve YÖNTEM	32
5.1. Deney Hayvanları.....	32
5.2. Deneysel Kronik Böbrek Yetmezliği Modeli.....	32
5.3. Deney Protokolü ve Grupları.....	32
5.4. İdrar Örneklerinin Toplanması	33
5.5. Kan ve Böbrek Doku Örneklerinin Alınması.....	33
5.6. Serum ve idrar örneklerinde biyokimyasal tetkikler	33
5.7. Böbrek Fonksiyonlarının Belirlenmesi	34
5.8. ELISA Tekniği ile Kollajen ve proinflatuar sitokin tespiti	34
5.9. Böbrek ve kalp dokusunda protein tayini.....	34
5.10. Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Ölçümü.....	35
5.10. Malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesi	35
5.11. Histolojik Değerlendirme	36
5.12. İmmünohistokimya Boyama Yöntemi.....	37
5.13. Endotel fonksiyonlarının organ banyosunda değerlendirilmesi	39
5.14. İstatistik değerlendirme.....	40
6. BULGULAR.....	41
6.1. Kan basıncı ölçümü değerlendirilmeleri	41
6.2. Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi	42
6.3. Böbrek dokusunda ve serumda proinflatuar sitokin değerlendirmeleri .	44
6.4. Böbrek ve kalp dokularında MPO, MDA ve GSH değerlendirmeleri.....	44
6.5. PAS boyanmasına ait bulgular	48
6.6. Gomori One Step Trikrom boyanmasına ait bulgular	48
6.7. Böbrek dokusunda Hematoksilen ve Eozin boyanmasına ait bulgular	49
6.8. Kalp ağırlığı ve kalp dokusunda Gomori One Step Trikrom boyanmasına ait bulgular.	57
6.9. Organ banyosunda torasik aort gevşeme yanıtlarının değerlendirilmesi	60
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	65
8. KAYNAKLAR	79
9. ÖZGEÇMİŞ	113
10. BİLİMSEL FALİYETLER.....	114
11. EKLER.....	120

KISALTMALAR

AA	: Aristolokolik asit
ADE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ADE-2	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-2
ADH	: Antidiüretik hormon
ADMA	: Asimetrik dimetil arjinin
AGE	: İleri glikolizasyon son ürünleri
AngII	: Anjiyotensin-2
APJ	: Apelin reseptör
APJ	: Apelin reseptör
AT-1	: Anjiyotensin II tip I
AT1R	: Anjiyotensin II reseptörü, tip 1
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
ColA1	: Kollajen, tip 1, alfa 1
DN	: Diyabetik nefropati
eGFH	: Tahmini Glomerül filtrasyon hızı
eNOS	: Endotelial nitrik oksit sentaz
FN	: Fibronektin
FSGS	: Fokal ve segmental glomerüloskleroz
GSH	: Glutasyon
HD	: Hemodiyaliz
ICAM-1	: İntersellüler adezyon proteini-1
IFN- γ	: İnterferon-gama
IL-17A	: İnterlökin-17A
IL-1 β	: İnterlökin-1 beta
IL-2	: İnterlökin-2
IL-6	: İnterlökin-6
IRH	: İskemi R
i.p	: İntraperitoneal
KBH	: Kronik böbrek hastalığı
KIM-1	: Böbrek hasar molekülü-1

KIMK	: Karotis intima media kalınlığı
MAPK	: Mitojen aktive protein kinaz
MCP1	: Monosit kemotaktik protein-1
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
NGAL	: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
PAN	: Püromisin aminonükleozid ile nefrozis
PAS	: Peryodik Asit Schiff
PDGF	: Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
PKC	: Protein kinaz-C
PVN	: Paraventriküler nükleus
RAAS	: Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
RAS	: Renin-anjiyotensin sistemi
SDBH	: Son dönem böbrek hastalığı
SF	: Serum fizyolojik
SON	: Supraoptik nükleus
TGF- β	: Transforme edici büyüme faktörü - β
TIMP-1	: Metaloproteinaz doku inhibitörü-1
TNGFH	: Tek nefron glomerüler filtrasyon hızı
TNHF	: Tek nefron hiperfiltrasyonu
VCAM-1	: Vasküler hücre adezyon proteini-1
ZO-1	: Zonula Okludens-1

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Deney gruplarında günlük idrar hacmi, böbrek fonksiyon ve idrarda protein atılım değerleri	43
Şekil 2. Böbrek dokusunda kollajen ve proinflamatuvar sitokin ölçüm sonuçları.....	45
Şekil 3. Böbrek ve kalp dokularında MPO, MDA, GSH ve ELISA yöntemi ile kollajen değerleri	47
Şekil 4. Böbrek dokusunun tübüler hasar, glomerüler ve interstisyel fibrosis ve apoptosis belirteci olarak kaspaz-3 ekspresyon skorlamalarının değerlendirilmesi....	50
Şekil 5. Taklit cerrahi grubunda normal glomerüler mezangiyum	51
Şekil 6. SF-KBH grubunda glomerülde mezangial matriks genişlemesi	51
Şekil 7. Apelin grubunda mezangial matriks. PAS boyası.	52
Şekil 8. Ala-Apelin grubunda mezangial matriks. PAS boyası.	52
Şekil 9. Taklit cerrahi grubunda normal glomerül (ok) ve tubulointerstisyel yapı ...	53
Şekil 10. SF_KBH grubunda glomerüler skleroz alanı ve tubulointerstisyel alanda kolajen artışı	53
Şekil 11. Apelin grubunda tubulointerstisyel alanda kolajen artışı	54
Şekil 12. Ala-Apelin grubunda tubulointerstisyel alanda hafif kolajen artışı.....	54
Şekil 13. Taklit cerrahi grubunda normal glomerüler ve düzenli tübüler yapı.....	55
Şekil 14. SF-KBH grubunda glomerüler hasar, tübüler dilatasyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu, tübüler epitel dejenerasyonu	55
Şekil 15. Apelin grubunda glomerüler ve tübüler hasarda gerileme.	56
Şekil 16. Ala-Apelin grubunda glomerüler ve tübüler hasar.	56
Şekil 17. Kalp dokusu sl ventrikül ağırlığı ve interstisyel fibrosis skorlamalarının değerlendirilmesi.....	58
Şekil 18. Kalp dokusu A) Taklit cerrahi grubunda normal yapıda kas lifleri, B) SF-KBH grubunda belirgin kolajen doku artışı, konjesyon , ödem ve kas liflerinde ayrılma C) Apelin ve D) Ala-Apelin gruplarında kolajen doku artışı ve konjesyon.....	59
Şekil 19. Deney gruplarının torasik aort segmentlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının L-NAME varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi.....	61

Şekil 20. Deney gruplarının torasik aort segmentlerinde apelin yanıtlarının L-NAME varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi. 63

Şekil 21. Deney gruplarının torasik aort segmentlerinde apelin yanıtlarının Ala-apelin varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi. 64



TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Deney gruplarında ortalama arterial kan basıncı (mmHg) değerleri 41



1. ÖZET

Öğrencinin Adı Soyadı : Mehmet KOÇ

Danışmanın Adı Soyadı : Prof. Dr. Hızır Kurtel

Programın Adı : Fizyoloji Doktora Programı

Tezin başlığı : Apelinin Sıçanlarda Kronik Böbrek Yetmezliği, Endotel Disfonksiyonu Gelişimi ve Kardiyak Fonksiyonlar Üzerine Etkileri

Amaç: Sıçanlarda oluşturulan kronik böbrek hastalığı (KBH) modelinde apelin reseptör (APJ) uyarımının böbrek fonksiyonları, böbrek ve kalp dokularındaki histopatolojik değişiklikler ile torasik aortanın (TA) endotel disfonksiyonu (ED) üzerine etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Erkek Sprague Dawley sıçanlar taklit cerrahi (TC) grubuna veya 5/6 nefrektomi ile oluşturulan KBH gruplarına randomize edildiler. TC ve SF-KBH grupları subkütan serum fizyolojik (SF) alırken Apelin-KBH grubu 100 mcg/gün Pyr-apelin13 ile Ala-apelin-KBH grubu da 100 mcg/gün ala-apelin ile 8 hafta boyunca tedavi edildiler. Tedavi sonunda böbrek, kalp, serum ve idrar numunelerinde biyokimyasal, histopatolojik ve analizler yapıldı. Torasik aortaların (TA) karbakol ve apeline olan gevşeme yanıtları değerlendirildi.

Bulgular: Ortalama arteriyel basınç, serum BUN ve kreatinin düzeyleri SF-KBH grubuna kıyasla apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarında; proteinüri miktarıda ala-apelin-KBH grubunda azaldı. Serum IL-1 β seviyeleri apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarında SF-KBH gruplarına kıyasla baskılandı. Histolojik değerlendirmelerde SF-KBH grubunda izlenen mezangial matriks ve inflamasyon skorlarındaki artış apelin ve ala-apelin tedavileri ile baskılandı. Torasik aortanın karbakol ve apeline olan gevşeme yanıtları SF-KBH grubunda bozulurken apelin ve ala-apelin-KBH gruplarında bu yanıtlar korundu. L-NAME ve ala-apelin pre-inkübasyonları ile bu yanıtlar bozulmakla birlikte apelin-KBH grubunda bozulmakla ala-apelin-KBH grubuna kıyasla daha iyi korunmuşlardı.

Sonuç: APJ uyarımı böbrek fonksiyonlarındaki, histolojideki değişiklikleri ve ED bozulmayı kan basıncı ve inflamatuvar yanıtı düzenleyerek korumuştur.

Anahtar Kelimeler: Kronik böbrek hastalığı, apelin, APJ, endotel disfonksiyonu

2. SUMMARY

Title of Thesis: Effects of Apelin on the Development of Chronic Kidney Disease, Endothelial Dysfunction and Cardiac Functions in Rats

Student Name, Surname: Mehmet KOÇ

Supervisor Name : Prof. Hızır Kurtel

Program Name : Physiology PhD Program

Objective: We investigated the effect of apelin receptor (APJ) stimulation on renal functions, histopathological changes in kidney and cardiac tissues and endothelial dysfunction (ED) of thoracic aorta (TA) in rats with chronic kidney disease (CKD).

Materials and Methods: Male Sprague Dawley rats were randomized to sham operation (SO) or chronic kidney disease (CKD) groups after 5/6 nephrectomy. While SO-group and S-CKD groups received 0.9% saline subcutaneously, Apelin-CKD and Ala-apelin-CKD groups received pyr-apelin-13 or ala-apelin (each group 100 mcg/day, s.c), respectively, for 8 weeks. Biochemical and histopathological analysis were performed on serum, urine, kidney and heart tissue samples. Vasorelaxation responses of TA to carbachol and apelin were evaluated.

Results: While mean arterial blood pressure (MAP), BUN and creatinine decreased in both apelin-CKD and ala-apelin-CKD groups, proteinuria decreased by only ala-apelin treatment compared to the S-CKD group. Serum IL-1 β levels were decreased in both apelin-CKD and ala-apelin-CKD groups compared to the S-CKD group. While mesangial matrix proliferation and inflammation scores of kidney tissues were decreased by both apelin and ala-apelin treatments, fibrosis scores of kidney and cardiac tissues were similar in all groups. Vasorelaxation responses of TA to carbachol and apelin were preserved in the apelin and ala-apelin-CKD groups compared to the S-CKD group. Although preincubation with L-NAME and ala-apelin attenuated vasodilatory responses to carbachol and apelin, these responses were much more preserved in the apelin-CKD group compared to the ala-apelin-CKD group.

Conclusion: Stimulation of APJ preserves impaired kidney functions, histopathological changes and ED through improvement of MAP and inflammatory responses.

Keywords: Chronic kidney disease, apelin, APJ, endothelial dysfunction

GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik böbrek hastalığı ilerleyici bir hastalıktır ve glomerüloskleroz ve/veya interstisyel fibrozis zemininde böbrek fonksiyonlarının sürekli kaybı ile karakterizedir. Glomerüllerin kaybına bağlı olarak geride kalan nefronların filtrasyon basıncı (tek nefron filtrasyon basıncı) artar. Bu süreç, glomerülosklerozun bir kısır döngü halinde artışı ile devam eder. Hastalığın prevalansı dünya genelinde %8-16 olarak (Coresh ve ark., 2017; Jha ve ark., 2013) rapor edilirken ülkemizde yapılan CREDIT çalışmasında bu oran %16 olarak rapor edilmiştir (Süleymanlar ve ark., 2011). Yine ülkemizde hemodiyaliz tedavisi alan hasta insidansı 150/milyon ve prevalansı da 993.5/milyon olarak rapor edilmiştir (Seyahi ve ark., 2018).

KBH evreleri ilerledikçe hipertansiyon, kardiyovasküler değişiklikler, metabolik asidoz, hiperkalemi gibi elektrolit bozuklukları, hipokalsemi, hipofosfatemi, hiperparatioidi gibi kalsiyum-fosfor kemik metabolizması bozuklukları gibi komplikasyonların sıklığı ve derinliği belirginleşir (Bello ve ark., 2017).

Kronik böbrek yetmezliğinde kardiyovasküler sistem yoğun bir şekilde etkilenir. KBH'larında kardiyovasküler mortalite ve morbidite genel topluma kıyasla 20 -1 20 kez artış göstermektedir (Foley ve ark., 1998). Kardiyovasküler problemlerin bu hasta grubunda artmasında hipertansiyon, hiperlipidemi gibi geleneksel risk faktörleri önemli rol oynarken, hipervolemi, artmış oksidatif stres, üremik toksinlerin endotel ve mononükleer hücreler üzerindeki olumsuz etkileri de katkıda bulunmaktadır (Menon ve ark., 2005). Kardiyovasküler sistem etkilenmesi endotel disfonksiyonundan başlayıp, sol ventrikül hipertrofisi, ateroskleroz, miyokard enfarküsü ve kalp yetmezliği gibi geniş bir spektrumu kapsar ve en önemli mortalite sebebidir. Özellikle endotel disfonksiyonu ateroskleroz, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, hipertansiyon gibi birçok kardiyovasküler komplikasyonların başlangıcını oluşturur (Endemann & Schiffrin, 2004; Kopel ve ark., 2017; Linden ve ark., 2008; Moody ve

ark., 2012; Mori-Kawabe ve ark., 2015) . Kronik böbrek hastalığında endotel disfonksiyonu gelişiminin çok sayıda faktöre bağımlı olduğu rapor edilmiştir. Bu faktörler arasında bozulmuş nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi en temel patolojidir (Zoccali, 2006).

Subtotal nefrektomi ya da 5/6 nefrektomi modeli ‘‘artık böbrek modeli’’ olarak da adlandırılır ve sıçanlarda en yaygın olarak kullanılan KBH modelidir. Glomerül kaybına bağılı olarak sürekli ve ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı izlenir.

Son yıllarda 5/6 nefrektomi ile oluşturulan kronik böbrek yetmezliği (KBY) modellerinde anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ADEİ) veya anjiotensin reseptör blokerleri (ARB) kullanılarak sistemik kan basıncının ve glomerül içi filtrasyon basıncının kontrolü ile proteinürinin, böbrek fonksiyonlarındaki ve damar yapılarındaki bozulmaların önlenildiği gösterilmiştir (Benigni ve ark., 1999).

Apelin sistemi apelin reseptöründen (APJ) ve bu reseptörün apelin ve elabela/todler (ELA; apelin reseptör ereken endojen ligandı) isimli iki adet ligandından oluşmaktadır. Apelin reseptör (APJ) geni ilk kez 1993 yılında klonlanmıştır (O'Dowd ve ark., 1993). Bir G protein eşleştirilmiş reseptör olup anjiotensin-II-tip-1 (AT1) reseptörü ile yüzde elliye varan bir benzerlik göstermekle birlikte anjiotensin-II'nin AT1 reseptörü üzerinden yaptığı etkilerinin tam tersi bir etkiye sahiptir (Ishida ve ark., 2004; Siddiquee ve ark., 2011). Apelinin AJP'ye bağlanarak NOS aktivitesini artırarak sistemik kan basıncını düşürdüğü gösterilmiştir (Tatemoto ve ark., 2001). Kardiyovasküler sistemde kuvvetli bir inotrop etki gösterir (Maguire ve ark., 2009). Kardiyak iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde de iskemik hasarı reaktif oksijen moleküllerini, lipid peroksidasyonunu NO üzerinden azaltıp, miyokard kapiller yoğunluğu ve arteriol yapımında artış, apoptoz inhibisyonu ile metabolik ve fonksiyonel düzelme sağladığı saptanmıştır (Chen ve ark., 2016).

Akut böbrek hasarı (ABH) modellerinde apelin ekspresyonu başlangıçta artarken hasar ilerledikçe azalmaktadır (H. Chen ve ark., 2015; Gholampour ve ark., 2020).

Böbrek iskemi reperfüzyon (IRH) modelinde apelin-13 uygulanmasının tübüler hasarını düzelttiği ve böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı da sınırlandırdığı gösterilmiştir (H. Chen ve ark., 2015). Bir başka APJ ligandı olan ELA'da İRH'nı önleyebilmektedir. ELA-32 yada ELA-11 ile tedavi yapıldığında inflamasyon, apoptosis ve fibrosis gelişimi önlenmiş, böbrek fonksiyonları da korunmuştur (Chen ve ark., 2017).

Bu çalışmada artık nefrektomi modeli ile oluşturulan KBH'da APJ uyarılmasının böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı önleyip önlemediği ve kardiyak morfoloji üzerine olumlu etkilerinin olup olmadığı, ve bu etkilerini hangi mekanizmalarla yaptığı incelenmiştir. Ayrıca KBH'lı sıçanlarda gelişmesi beklenen endotel disfonksiyonu üzerine olan etkileri de incelenmiştir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Kronik Böbrek Hastalığı

Kronik böbrek hastalığı (KBH) glomerüler filtrasyon hızının (GFH) 60 ml/dk/1.73 m² altında olması ya da böbrek fonksiyonları ne olursa olsun mikroalbüminüri, hematüri gibi böbrek hasarı bulgularının ya da polikistik böbrek gibi yapısal böbrek hasarı bulgularını en az 3 ay süreyle devam etmesi olarak tanımlamaktadır (Chen ve ark., 2019). KBH ilerleyici bir hastalık olup kardiyovasküler hastalıklarda ve bunlara bağlı mortalitede artış ile karakterizedir (Gansevoort ve ark., 2011). KBH'nın en sık sebebi diyabetes mellitus (DM) ve hipertansif nefropati olup glomerülonefritler, enfeksiyonlar, ürolitiazis, otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı, en önemli etiyolojiler olarak sayılabilir (Jha ve ark., 2013). Hastalığın prevalansı dünya genelinde %8-16 olarak (Coresh ve ark., 2017; Jha ve ark., 2013) rapor edilirken ülkemizde yapılan CREDIT çalışmasında bu oran %16 olarak rapor edilmiştir (Süleymanlar ve ark., 2011). Yine ülkemizde hemodiyaliz tedavisi alan hasta insidansı 150/milyon ve prevalansı da 993.5/milyon olarak rapor edilmiştir (SeyAhi ve ark., 2018).

KBH evreleri ilerledikçe hipertansiyon, kardiyovasküler değişiklikler, metabolik asidoz, hiperkalemi gibi elektrolit bozuklukları, hipokalsemi, hipofosfatemi, hiperparatioidi gibi kalsiyum-fosfor kemik metabolizması bozuklukları gibi komplikasyonların sıklığı ve derinliği belirginleşir.

4.2. Kronik Böbrek Hastalığı ve Kardiyovasküler Komplikasyonlar

KBH olanlarda en önemli morbidite ve mortalite sebebi kardiyovasküler hastalıklardır. KBH'lı hastaların yaklaşık %50'si SDBH tedavilerine ulaşmadan kaybedilmektedir. Bu kayıpların da yaklaşık yarısı kardiyovasküler hastalıklara bağlı gelişmektedir (Go

ve ark., 2005; Thompson ve ark., 2015). Örneğin KBH olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında koroner arter hastalığı olanlarda, akut myokard enfarktüsü geçirenlerde, kalp yetmezliği olanlarda, atrial fibrillasyonlularda ve serebrovasküler olay/geçici iskemik atak geçirelerde 2 yıllık mortalite oranları KBH'lılarda yaklaşık %10-15 daha fazla bulunmuştur (Saran ve ark., 2018).

4.3. Kronik Böbrek Hastalığında Kardiyak Problemler ve Patofizyolojisi

Kronik böbrek yetmezliğinde kardiyovasküler sistem yoğun bir şekilde etkilenir. Bu etkilenme endotel disfonksiyonundan başlayıp, sol ventrikül hipertrofisi, ateroskleroz, miyokard enfarktüsü ve kalp yetmezliği gibi geniş bir spektrumu kapsar ve en önemli mortalite sebebidir.

Bu konudaki ilk bulgular küçük böbrekli kişilerde kardiyak hipotrofiningözlenmesine dayanır (Bright, 1827). Sonraki yıllarda diyaliz tedavisinin klinik kullanıma girmesi ile özellikle genç hemodiyaliz hastalarında aterosklerozun artmış olduğu dikkati çekmiştir (Lindner ve ark., 1974). Otopsi çalışmalarında koroner arter hastalığı artmış olup yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş KBH'lılarda koroner arterlerde mediyal kalsifikasyonun daha belirgin olduğu rapor edilmiştir (Schwarz ve ark., 2000). Yine sağlıklı kişilere kıyasla karotis ve femoral arterlerdeki intima-media kalınlığının (KIMK) hemodiyaliz (HD) hastalarında belirgin olarak arttığı gösterilmiştir (Kawagishi ve ark., 1995). KIMK'nın daha erken evre KBH'larda da tahmini glomerüler filtrasyon hızına (eGFH) bağlı olarak arttığı da gösterilmiştir (Briet ve ark., 2006). Karotis IMK'nın KBH hastalarında KVH'lara bağlı mortalitenin de önemli bir tahmin edicisi olduğu gösterilmiştir (Benedetto ve ark., 2001; Nishizawa ve ark., 2003).

Arter duvarlarındaki kalınlaşmanın ilk bulgusu olan sertleşme (stiffening) ve nabız dalga hızında (PWV) yavaşlama ile tespit edilebilir. PWV de azalma HD hastalarında mortalite ile ilişkili bulunmuştur (Blacher ve ark., 1998).

4.4. Kronik Böbrek Hastalığında Endotel Disfonksiyonu

Kronik böbrek hastalığında endotel uyarılarına olan vasodilator yanıt bozulmuştur ve ateroskleroz, koroner arter hastalığı, kalp yetmezliği, hipertansiyon gibi birçok komplikasyonun da başlangıcını oluşturur (Endemann & Schiffrin, 2004; Kopel ve ark., 2017; Linden ve ark., 2008; Moody ve ark., 2012; Mori-Kawabe ve ark., 2015). Endotel disfonksiyonu ile karakterize bulgular ise endotel bağımlı gevşetici ve kasıcı yanıtlarda, bozulma, vasküler tonda ve arterial modellemede değişim, vasküler kalsifikasyon ve vasküler sertlik (stiffness) gelişimidir (Kajimoto ve ark., 2012; Marañón ve ark., 2013; Tsuprykov ve ark., 2016; Ulu ve ark., 2013). Kronik böbrek hastalığında endotel disfonksiyonu gelişiminin çok sayıda faktöre bağımlı olduğu rapor edilmiştir. Bu faktörler arasında bozulmuş Nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi (Zoccali, 2006) oksidatif stres ürünlerinin (Morena ve ark., 2002), inflamatuvar belirteçlerin (Ikizler, 2008), ileri glikan son ürünlerinin (Su ve ark., 2013) birikimi, asimetrik dimetil arjinin (MacAllister ve ark., 1994; Ulu ve ark., 2013), homosistein (Emsley ve ark., 1999), p-kresol (Gross ve ark., 2015), indoksil sülfat (Matsumoto ve ark., 2019), gibi üremik toksinlerde artış sayılabilir. Nitrik oksit üretimindeki azalma deneysel KBH modellerinde (Erdely ve ark., 2003), periton diyalizi (Schmidt, Yokota, ve ark., 1999) ve HD hastalarında (Schmidt, Domico, ve ark., 1999) bildirilmiştir. Ayrıca endotelial NOS (eNOS) sisteminde anormallikler de rapor edilmiştir. Bu anormallikler arasında eNOS ekspresyonunda azalma, NO sinyal ileti sisteminde bozulmalar, kofaktörlerde eksiklikler, asimetrik dimetil arjinin (ADMA), ileri glikolizasyon son ürünleri (AGE) gibi endojen NOS inhibitörlerinde artış sayılabilir (Pieper, 1997).

Nitrik oksit arterlerin istirahat anındaki tonusunu belirleyen en önemli vazoaaktif madde olup düz kas hücre proliferasyonu, platelet agregasyonu ve monosit adhezyonunu önleyerek arter hastalığının gelişmesini engellemektedir (Naseem, 2005). Nitrik oksit üretimi hipoksik koşullarda, artmış gerilim stresi (shear stress) varlığında veya lokal olarak salınan otokoidler (örn: asetil kolin) ile uyarılmaktadır.

4.5. Kronik Böbrek Hastalığında Kalp Hastalığı

KBH'larında kardiyovasküler mortalite ve morbidite genel topluma kıyasla 20 – 120 kez artış göstermektedir. (Foley ve ark., 1998). Kardiyovasküler problemlerin bu hasta grubunda artmasında hipertansiyon, hiperlipidemi gibi geleneksel risk faktörleri önemli rol oynarken, hipervolemi, artmış oksidatif stres, üremik toksinlerin endotel ve mononükleer hücreler üzerindeki olumsuz etkileri de katkıda bulunmaktadır.

Rambašek ve ark. ilk kez sıçanlarda nefrektomi ile KBH oluşturulması ile ortaya çıkan üremi ve hipertansiyonun hidralazin ve furosemid ile kontrol edilmesinden bağımsız olarak kalp ağırlığının arttığını göstermişlerdir (Rambašek ve ark., 1985). Kan basıncının lisinopril ile kontrol edilmesi de sol ventrikül ağırlığındaki büyümeyi engelleyememektedir (Fabris ve ark., 1995). Üremide kalp ağırlığındaki artış interstisyel boşluktaki hücresel artış ve kollajen depolanmasına bağlı olarak gelişmektedir (Mall ve ark., 1988). Histolojik olarak miyokard dokusu birimi başına düşen kapillerlerin uzunluğu ve luminal yüzey densitesi azalır, damar duvar kalınlığı, damar yüzey alanına oranla kan basıncından bağımsız olarak artar (Amann ve ark., 1995; Amann ve ark., 1992).

Üremik kardiyomyopatinin gelişiminde renin-anjiyotensin (RAS) sistemi önemli rol oynar. Ramipril kullanılması kalp duvar kalınlığındaki artışı önlemiş, interstisyel alanda gözlenen artışı engellemiştir (19). (19. Amann K, Gassmann P, Effects of ACE inhibition Kidney Int 2000). Oksidatif stresin artması ve nitrik oksit (NO) sentezinin üremide bozulması üremik kardiyomyopatide rol oynamaktadır (Amann ve ark., 2000; NoRIs ve ark., 1993).

Morfolojik değişikliklerin yanı sıra üremide fonksiyonel değişiklikler de gelişir. Kan basıncının kontrol edilmediği bir çalışmada nefrektomiden 4 hafta sonra kardiyak debinin azaldığı gösterilmiştir (Raine ve ark., 1993).

4.5.1. Sol ventrikül hipertrofisi

Ekokardiyografik çalışmalarda yapısal anormallikler sıklıkla saptanmaktadır. Sol ventrikül hipertrofisinin sıklığı böbrek fonksiyonlarının bozulmasına paralel olarak artar ve hemodiyaliz (HD) tedavisi uygulanan hastalarda bu oran %80 lere kadar ulaşır (Foley ve ark., 1995). Sol ventrikülde yeniden modellenme (remodelling) izlenir. Basınç yüklenmesine bağlı gelişen sol ventrikül duvar kalınlığının hakim olduğu hipertrofi (konsantrik hipertrofi) ve sıvı yüklenmesine bağlı sol ventrikül kavitesinde genişlemenin hakim olduğu hipertrofi (eksentrik hipertrofi) diyaliz tedavisine başlayan hastaların sırasıyla %44 ve %30'unda rapor edilmiştir (Foley ve ark., 1995; London, 2001). Başlangıçta bu değişiklikler adaptif olsa da zamanla diyastol sırasında azalmış dolum (diyastolik disfonksiyon), bozulmuş kasılma (sistolik disfonksiyon) gelişebilir (Hutchins, 1992). Myokardial fibrozis, kalsifikasyon (Gross & Ritz, 2008) ve valvüler kalsifikasyon da gelişmektedir (Leskinen ve ark., 2009).

Hipertrofiye uğrayan sol ventrikülde kapiller anjiogenezin artması gereklidir, KBH'nda kapiller anjiogenez bozulmuştur. Sıçan modellerinde kalp dokusunda kapillerin kaybı (rarefaction) 8 – 12. haftada izlenir, ilerleyici bir tablodur ve bu durum iskemik hasara yatkınlığı artırır (Amann ve ark., 1992).

4.5.2. KBH'da myokardiyal fibrosis

Miyokard yükündeki artış uzun dönemde hücre ölümüne ve fibrozise sebep olur (Gross & Ritz, 2008). Kapiller yoğunluk azaldığı için miyokard dokusunda hipoksi kolaylıkla gelişebilir (Amann ve ark., 1998). Miyokardı besleyen damarlardaki sertleşme nedeniyle özellikle diyastolde iskemi tetiklenebilir. Bu iskemik ataklar miyosit hasarını artırır (Burton ve ark., 2009). Tipik histolojik değişiklikler interstisyel fibrozisdir. Fibrozis artmış fibroblast growth faktör 23 ve renin anjiotensin system aktivasyonuna bağlı olarak da gelişir (Kennedy ve ark., 2006).

4.6. Deneyisel Modellerde Kronik Böbrek Hastalığı

İnsan hastalıklarını taklit eden hayvan modellerinin kısa sürede oluşturulabilmesi nedeniyle, hayvan modelleri insanlarda gözlenen hastalıkların patogenezlerinin aydınlatılması ve tedavi seçeneklerinin test edilebilmesi için en önemli seçeneklerden birisidir.

Günümüzde KBH insidansının artması nedeniyle, bu hastalığın birbirinden farklı patogenezinin ve tedavi seçeneklerinin aydınlatılması için yeni moleküler biyoloji tekniklerinin hayvan modellerinde uygulamaları yapılmaktadır. Sıçan ve farelerde oluşturulan diyabetik nefropati, 5/6 nefrektomi, tek taraflı üreter obstrüksiyonu gibi KBH modellerinin yanı sıra, genetik düzenlemelerle elde edilen canlılarda oluşturulan KBH modellerinde birbirinden farklı etiyolojilerinin patogenetik mekanizmalarını ortaya koymak olasıdır. Ayrıca, hastalığın ileri aşamalarında izlenen üreminin çeşitli dokulardaki (örneğin vasküler ya da kemik dokusu) etkilerini incelemek de mümkün olabilmektedir.

Maymunlar, köpekler, tavşanlar, sıçanlar ve fareler KBH gelişiminde kullanıla gelmiş iken son yıllarda yapılan çalışmalarda sıçanlar ve fareler daha sıklıkla kullanılmaktadır. KBH modelleri literatürde cerrahi modeller ve toksik modeller başlığı altında incelenebilir.

4.6.1. Toksik ajanlarla oluşturulan KBY modelleri

Birçok maddenin tek seferlik uygulanması akut böbrek yetmezliği yaparken, bazı maddelerin yüksek ve tekrarlayıcı dozlarda uygulanması kronik ilerleyici böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilir.

4.6.1.1. Puromisin aminonükleosid ve adriamisin

Nefrotik sendrom oluşturmak için puromisin aminonükleosid (PAN) ve adriamisin kullanılır. Tek doz kullanıldığına kısa süreli proteinüri oluşurken, bir kaç kez ardışık kullanıldığında proteinüri ile birlikte glomerüloskleroz ve fibrozis gelişir (Jones ve ark., 1992). Sıçanlarda puromisin, farelerde ise adriamisin ile deneyler gerçekleştirilmiştir (Pippin ve ark., 2009).

Bu modellerde birlikte nefrektomi de yapılarak KBH gelişiminin hızlandırılması da söz konusudur. Farklı doz ve aralıklarda PAN uygulaması ile model başarılı olabilmektedir. Sıçanlara (Munich Wistar) tek taraflı nefrektomiden sonra 100 mg/kg i.p dozunda PAN uygulanır. İkinci doz 4-6 hafta sonra 40 mg/kg i.p olarak tekrar verilir (Fogo ve ark., 1988). Bir başka çalışmada sağ nefrektominin ve PAN 150 mg/kg

i.p verilmiş, 43 mg/kg dozunda 20, 27 ve 34. günlerde tekrar edilmiştir (Jones ve ark., 1991). Adriamisin modelinde ise; adriamisin 3 hafta aralıklarla 2 mg/kg dozunda i.v olarak verilmektedir (Fogo ve ark., 1988).

Her iki modelde de benzer sonuçları alınmaktadır. vermektedir. Her iki ajanın kıyaslandığı bir çalışmada PAN alanlarda ise daha hafif glomerüler lezyonlar görülürken, adriamisin alan sıçanlarda mesangial proliferasyon, segmental hyalinozis ve glomerüler skleroz daha yaygın olarak izlenmiştir. PAN alanlarda kan basıncı ile üre ve kreatinin değerleri daha erken dönemde yükselirken (8. Haftada) aynı parametreler adriamisin grubunda 27 - 31 haftalar arasında tespit edilmiştir (Fogo ve ark., 1988).

4.6.1.2. Adenin

Kronik adenin uygulanması ile KBH oluşmaktadır. Bu model sıçanlarda denenmiştir. Sıçanlara standart % 0.75 adenin ihtiva eden yem verilir. Adenin metaboliti olan 2,8-dihydroxyadenin proksimal tübül epitel hücrelerinde kristalize olup, dejenerasyona neden olur. Sürekli olarak 4-6 haftalık adeninli diyet ile beslenme sonucu tübüller dilatasyon ve tübül bazal membranında kalsifikasyon, interstisyel hücre infiltrasyonu ve fibrozis, gelişir. Dört haftalık takip sonunda serum kreatinin seviyeleri yükselir (Shobeiri ve ark., 2010), ağır anemi, hipokalsemi, hiperfosfatemi, hiperparatiroidi ve medial kalsifikasyon gelişir (Hamada ve ark., 2008; Matsui ve ark., 2009).

4.6.1.3. Kalsinörin inhibitörleri

Transplant hastalarında kronik siklosporin ve takrolimus kullanımı sırasında gelişen vazokonstriksiyon ve buna bağlı gelişen renal hipoksi, renin–anjiotensin–aldosterone sisteminin aktivasyonu ve ‘transforming growth factor- β (TGF- β)’ uyarımı sonucu tübülointerstisyel fibrozis, tübüller atrofi, glomerüloskleroz ve böbrek yetmezliği gelişir (Capasso ve ark., 2008; Jenkins ve ark., 2001; Ling ve ark., 2003; Pichler ve ark., 1995). Kronik kalsinörün toksisitesi sıçanlarda ve farelerde uygulanabilmektedir. Bu modelde RAS aktivasyonu için düşük sodyumlu diyet uygulanmasından 1 hafta sonra siklosporin (i.p, 15-25 mg/kg/gün, 28 gün) ya da takrolimus (1 - 6 mg/kg/gün, 4 - 8 hafta) uygulanır. Farelerde ise yine deney süresince düşük sodyumlu diyetle ilaveten siklosporin 30 mg/kg/gün dozunda subkütan olarak 4

hafta süreyle uygulanır (Jenkins ve ark., 2001; Ling ve ark., 2003). Bu modelde böbrek fonksiyonları bozulur, tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon, nekroz, atrofi gelişir, apoptosis indeksi artar ve fibrozis izlenir. Damarlarda ise arteriolar hyalinozis gelişir (Capasso ve ark., 2008; Ling ve ark., 2003).

4.6.1.4. Sisplatin

Sisplatin daha çok akut böbrek hastalığı (ABH) geliştirmede kullanılsa da tekrarlanan uygulamaları sıçanlarda inflamasyon ve fibroze neden olur. Yamate ve ark. sisplatini haftada 2 mg/kg dozunda 7 - 10 hafta süreyle uyguladıklarında yedinci haftadan itibaren mononükleer hücre infiltrasyonunu, tübüler dilatasyon ve tübüler çevresinde fibrozis gelişimini gözlemlemişlerdir. On haftalık enjeksiyon sonunda bu bulgular daha da belirgin hale gelmiştir. Aktif enjeksiyonlar sona erdikten sonraki 6-8 haftalık dönemde tübüler dilatasyon kayboldu da interstisyel alandaki makrofaj ve miyofibroblast sayısı artmış, fibrozis daha da belirginleşmiştir. Kronik dönem sonunda kreatinin seviyeleri bazal değerlerine göre %50 oranında yüksek kalmıştır (Yamate ve ark., 1996).

4.6.1.5. Aristolokolik asit

Aristolokolik asit (AA)'in ilerleyici kronik interstisyel nefritin (Çin-bitkisel nefropatisi) sebebidir (Vanhaelen ve ark., 1994). Debelle ve ark. tanımladığı AA'e bağlı interstisyel nefrit modelinde sıçanlara düşük sodyumlu diyetle beslenirken 5 hafta süreyle günlük olarak 10 mg/kg dozunda AA enjeksiyonu yapmışlardır. Modelin 10 ve 35. günlerinde böbrek dokusunda lenfosit infiltrasyonu ile beraber tübüler atrofi, interstisyel fibrosis, glikozüri, proteinüri, serum kreatinin seviyelerinde yükselme, saptanmıştır (Debelle ve ark., 2002).

4.6.1.6. Folik asit

Folik asit nefropatisinde fare veya sıçanlara folik asit 250 mg/kg (i.p) tek doz olarak uygulanır (Ichimura ve ark., 2004; Ortega ve ark., 2006; Yuan ve ark., 2003). İki yada üç hafta sonunda tübül epitel hücrelerinde rejenerasyonla birlikte kronik yamalı interstisyel fibrozisin gelişmektedir (Ortega ve ark., 2006; Yuan ve ark., 2003).

4.6.1.7. Cerrahi Yöntemlerle Oluşturulan KBH Modelleri

Cerrahi modeller de subtotal nefrektomi (artık böbrek modeli) ve tek taraflı üreter obstrüksiyon modeli olarak iki başlıkta incelenebilir.

4.6.1.8. Subtotal nefrektomi veya enfarkt modeli (Artık böbrek modeli)

Subtotal nefrektomi ya da 5/6 nefrektomi modeli atık böbrek modeli olarak da adlandırılır ve en yaygın olarak kullanılan KBH modelidir. Sıklıkla sıçanlarda ve farelerde nadiren de tavşan, kedi, köpek, babun ve domuzlar üzerinde denenmiş bir modeldir. Glomerül kaybına bağlı olarak sürekli ve ilerleyici böbrek fonksiyon kaybı izlenir.

Nefron kitlesinin 5/6 sının uzaklaştırılması hedeflenir. Daha çok cerrahi olarak ablasyon tekniği uygulanır. Ablasyon tekniğinde sol böbreğe nefrektomi uygulanır. Sol nefrektomi uygulandıktan bir hafta sonra diğer böbreğin üst ve alt 1/3 kısmına rezeksiyon uygulanır. Toplamda nefron kitlesinin 5/6 sı uzaklaştırılmış olur. Ligasyon tekniğinde ise böbreğin birine total nefrektomi uygulandıktan 1-2 hafta sonra diğer böbreğin renal arterinin iki dalına ligasyon uygulanır. Bu böbreğin polar kısımlarında nekroz sonrası nefron kaybı ve sonrada ilerleyici kronik böbrek hasarı gelişir. Ablasyon tekniğinde deney hayvanlarında hipertansiyon gelişmez iken ligasyon tekniğinde hipertansiyon gelişebilir. Nefrektomi modelinde nefron kitlesinin yaklaşık 5/6 sının kaybı ile 4 hafta içerisinde kronik böbrek hastalığı gelişir (Hewitson ve ark., 2009).

Kren ve ark. incelemesinde farelere sağ nefrektominin ardından aynı seansta bir grup farenin sol renal arterinin 2 segmental dalına ligasyon yapılırken ikinci grup fareye ise sağ nefrektomiden sonra sol renal arterin 1 polar arterine ligasyon yapılmıştır. İki segmental dal ipek ile bağlandığında sol böbreğin %50-70'inde iskemi gelişirken bir segmental bağlandığında iskemik alan oranı % 20-30 civarında olmuştur. Birinci grupta kreatinin seviyesi 0.85 mg/dl'ye kadar artış gösterirken (kontrol grubunda 0.24 mg/dl) ikinci grupta kreatinin seviyesi 0.4 mg/dl'ye kadar çıkabilmiştir. Skleroz gelişen glomerül oranı, idrarda protein atılımı ve kan basıncı iki grupta da benzer bulunmuştur (Kren & Hostetter, 1999). Elektrokoter kullanarak 5/6 nefrektomi modeli

uygulamasında ise birinci böbreğin adrenal bezi ve hilusu korunarak korteksin 2/3 kadar kısmı elektrokoterize edilir, bir hafta sonra da diğer böbreğe nefrektomi uygulanır. Bu modelde % 80-90 oranında glomerüloskleroz, ve kan üre azotu seviyelerinde control grubuna kıyasla 1.5 – 4.8 misli yükselme rapor edilmiştir (Gagnon & Duguid, 1983).

Subtotal nefrektomi veya enfarkt modellerinde geride kalan glomerüllerde kompensatuar hipertrofi, glomerüloskleroz ve sonrasında KBH gelişir. Bu modelde yaygın ve ilerleyici glomerüoskleroz, HT ve proteinüri gelişir. Böbrek fonksiyonlarındaki değişim uzaklaştırılan dokuya ve zamana göre değiştiğinden, deneylerde gruplar arasında bazı parametrelerin istatistiksel eşleştirilmesine dikkat edilmelidir. Bu nedenle bu modelde deneye dahil edilen hayvan sayısının biraz daha fazla olması gerekebilmektedir. Bir çalışmada sıçanlarda 5/6 nefrektomi sonrası 50 hafta boyunca glomerüler değişiklikler belirli aralıklarla incelenmiştir. Onuncu hafta sonunda glomerüllerin belirgin derecede hipertrofiye uğradığı, daha sonraki dönemde ise hipertrofinin ilerlemediği gözlenmiştir. Glomerüler kapillerlerde dilatasyon gelişmiş ve bu dilatasyon 25. hafta sonuna kadar devam etmiştir. Glomerüler hyalinizasyon ise 25. haftada başlamış, 50. hafta sonuna kadar artarak devam etmiştir. Mesangial matriks artışı ise 30. haftadan itibaren izlenmeye başlamıştır. Viseral epitel hücreleri de hipertrofiye uğramış, elektron mikroskopik incelemede ise epitel hücre ayaksı çıkıntılarında füzyon izlenmiştir (Shimamura & Morrison, 1975). Chamberlain ve ark. ise artık böbrek modelinde fonksiyonel değişiklikleri operasyondan 16 ve 32 gün sonra incelemişlerdir. İki hafta sonra glomerül filtrasyon oranı, fraksiyone su, sodyum ve potasyum atılımları maksimal düzeyde artarken 32. hafta sonunda bu değerler bir miktar azalmakla birlikte tek taraflı nefrektomi yapılan sıçanlardan yüksek kalmıştır (Chamberlain & Shirley, 2007). Glomerüler filtrasyon oranı tek taraflı nefrektomi sonrası % 55 oranında artarken artık böbrek modelinde böbrek dokusunun toplamda % 70'i uzaklaştırıldığında kalan böbrek dokusunda bu artış % 140 olarak tespit edilmiştir (Kaufman ve ark., 1974). Bir derlemede 5/6 nefrektomi sonrası kreatinin düzeylerinin kontrollere kıyasla 2 misli yükseldiği bildirilmiştir (Shobeiri ve ark., 2010). Yine bu derlemede diyetteki fosfor miktarı % 0.9 – 1.2 arasında (Sıçanların diyetlerindeki fosfor miktarı normal şartlarda % 0.3'dür) tutulduğunda, 5/6 nefrektomi

modelinde serum fosfor seviyelerinin de kontrollere kıyasla yaklaşık 3 misli yükseldiği bildirilmektedir. Hiperparatiroidizm de nefrektomi modelinin bir özelliği olup parathormon seviyeleri 2.4 - 77 misli yükselmektedir. Ayrıca bu modellerde fosfordan zengin diyet uygulandığında (%1) vasküler kalsifikasyon da gelişebilmektedir (Shobeiri ve ark., 2010).

Nefrektomi modelinde kullanılan tekniğe göre farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Ligasyon tekniğinde renin seviyeleri ve KB yükselirken rezeksiyon tekniğinde plazma renin aktivitesi normal kalır, HT gelişmez (Hewitson ve ark., 2009). Enfarkt ile KBH oluşturulan Lewis ve Fisher 344 (F344) sıçanlarında enfarkt oluşturulduğunda, Lewis sıçanlarına kıyasla F344 sıçanlarda daha fazla glomerülde skleroz, HT ve proteinüri gelişir (Szabo ve ark., 2008).

Liu ve ark. sıçanlarda yaptıkları çalışmada rezeksiyon ve enfarkt teknikleri ile 5/6 nefrektomi uygulamasını karşılaştırmışlardır (Liu ve ark., 2003). Rezeksiyon modelinde adrenal bez korunarak sol böbreğin üst ve alt polleri eksizye edilmiş, 1 hafta sonra da sağ böbreğe nefrektomi uygulanmıştır. İnfarkt modelinde ise sol böbrek renal arter dalları ligate edilmiş ve işlem sırasında böbreğin %75'inin kanlanması kesildiğinden emin olunarak enfarkt gelişmesi sağlanmıştır. Bir hafta sonra ise sağ nefrektomi yapılmıştır. Enfarkt modelinde belirgin dalgalanma gösteren serum kreatinin seviyeleri rezeksiyon modelinde izlenmemiştir (Liu ve ark., 2003). “Sprague-Dawley” ve “Wistar” cinsi sıçanlarda bir gruba önce sağ nefrektomi ve ardından sol böbrekten rezeksiyonun (NX-R) bir gruba ise önce sol böbrekten rezeksiyon ve ardından da sağ nefrektominin (NX-F) kıyaslaması yapılmıştır. Böbrek fonksiyonları dişi ve erkek Wistar” sıçanlarda, Sprague-Dawley sıçanlardan daha fazla bozulurken sadece NX-F yapılan dişi “Wistar” sıçanlarda kan basıncı artmıştır. Kan basıncı iki cinsin de erkek sıçanlarında yükselme göstermemiştir. Proteinüri, iki türün de erkek ve dişilerinde 4. Haftadan itibaren artmaya başlamış, 10. hafta sonunda daha da artmıştır. Dişilerde daha fazla interstisyel fibrozis ve glomerüloskleroz gelişmiştir (Fleck ve ark., 2006).

Renal arterlere ligasyon uygulayarak KBH oluşturulması daha zor bir tekniktir. Arterlerin büyüteçli merceklerle gözlemlenerek ligate edilmesi gerekmektedir.

Rezeksiyon tekniğinde ise kanama ve mortalite riski fazladır. Renal kalikslerin hasarı ve idrarın periton boşluğuna sızıntısı da görülebilmektedir. Ligasyon tekniğinde serum kreatinin değerlerinin varyasyonunun olması nedeniyle renal parankimin ligate edilmesi ile KBH oluşturulması tekrar denenir olmuştur (Liu ve ark., 2003). Bu teknikte ‘sıçanlara ilk önce sağ nefrektomi yapılmış, bir hafta sonra ise sol böbreğin parankimine enfarkt uygulanmıştır. İnfarkt oluşturma işlemi sırasında, önce sol böbreğin üst polündeki bağ dokusu serbestleştirilerek adrenal bez korunmuş ardından sol böbreğin ana aksına dik olacak şekilde renal pediküle’ yakın bir yerden iki adet ipek iplik ile böbrek çepeçevre sarılmıştır ve parankimi kesmeden iplik sıkılarak parankimde iskemi oluşturulmuştur. Modelin oluşturulmasından 8 hafta sonra metabolik ve morfolojik incelemeler yapıldığında glomerüler hipertrofi izlenmiş, serum kreatinin seviyeleri kontrol grubuna kıyasla yaklaşık 2 misli yükselmiştir (Perez-Ruiz ve ark., 2006).

Farelerde gen susturulması (*knock-out*) ya da bazı moleküllerin fazla eksprese edilmesi mümkün olabildiğinden, bu farelerde KBH oluşturulduğu zaman üremide izlenen tabolalar hızlandırılabilir. Yağdan zengin diyetin böbrek fonksiyonları ve morfolojisine etkileri nedeniyle, apolipoprotein gen ‘*knock-out*’ farelerde atheroskleroz daha hızlı gelişebilmektedir (Massy ve ark., 2005).

Nefrektomi ile KBH oluşturulması diğer türlerde de tanımlanmıştır. Tavşanlarda bu modelle hiperkalsiüri ve taş oluşumu izlenmiştir. Köpeklerde ise glomerüloskleroz gelişmiş, orta derecede proteinüri ve yaygın HT izlenmiştir (Eddy ve ark., 1986; Robertson ve ark., 1986).

4.6.1.9. Tek taraflı (unilateral) üreter obstrüksiyon modeli

Kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir bir model olması temel avantajıdır. Bu yöntemde üreterlerden birine ipekle ligasyon işlemi yapılır. Farelerde ise genelde sol üretere 2.0 mersilenle dikiş konur (Vielhauer ve ark., 2001). Bağlantı farelerde 72 saat, sıçanlarda ise biraz daha uzun bir süre sonra ortadan kaldırıldığında böbrek fonksiyonu düzelmez. Birçok hayvan da uygulanılabilen bir methodur.

Bu model temel olarak birçok hastalığın temelinde rol oynayan fibrozis gelişimini incelemek ve tedavi seçeneklerini denemek amacıyla kullanılmaya çok uygundur (Grande & López-Novoa, 2009; Sakai ve ark., 2006; Vielhauer ve ark., 2001). Genetiği oynanmış (transjenik ya da *knock-out*) farelerde uygulanabilir olması bu amaçlara ulaşmayı denemek için bu modeli çok daha cazip hale getirmektedir. Başlangıçta renal pelviste dilatasyon izlenir. Dilatasyonla birlikte mekanik gerilme ile tübüler epitel hücrelerinden sitokinler (platelet kökenli büyüme faktörü, TGF- β gibi,) salgılanır, sitokinler ortama lökositleri, makrofajları ve fibroblast ve miyofibroblastları çeker. Epitel hücreleri epitelyal-mezankimal geçişle fibroblast benzeri hücrelere dönüşürler ve hücre dışı matriks sentezini tetikleyerek fibrozise sebep olurlar. İnterstisyel fibrozisin bütün aşamaları kompleks sinyal yolları tarafından kontrol edilir (Grande & López-Novoa, 2009). Bu modelde genelde 3. günden itibaren makrofaj infiltrasyonu başlar. Ardından tübüler dilatasyon ve tübüler apoptozis izlenir. Birinci haftanın sonundan itibaren hafif derecede fibrozis izlenmeye başlanır ve ikinci hafta sonunda daha belirgin interstisyel fibrozis oluşur (Grande & López-Novoa, 2009). Bu sebeple deneyler kısa sürede sonlandırılabilir. Böbrek fonksiyonlarında ise hafif bir bozulma ancak ikinci haftanın sonunda görülebilir.

Sonuç olarak deneylerde kullanılacak KBH modelleri seçilirken etiyolojinin veya patogenezin taklit edilmesi amaçlanır.

4.7. Artık Böbrek Modelinde KBH Patogenezi

Kronik böbrek hastalığında direkt glomerüler hasar ya da interstisyel bölgenin primer hastalığına bağlı olarak daha sonradan glomerüllerin etkilenmesi ve bunlara bağlı sürekli bir nefron kaybı söz konusudur. Süregelen nefron kaybı neticesinde kronik böbrek hastalarında bir dizi adaptif mekanizmalar geliştirilir. Böylelikle geride kalan nefronlar böbrek fonksiyonlarını kompanse ederler. Örneğin transplant için nefrektomi yapılan donörlerde GFR ve renal plazma akımı artış gösterir (Krohn Ag, Ogden Da JAMA 1966). Sıçan modellerinde ise afferent ve efferent arteriollerde vasküler direnç azalır böylelikle kapiller plazma akım hızı artar. Ancak afferent arteriolar dirençten efferent arteriolar dirençten daha fazla olduğundan dolayı glomerüler kapillerdeki hidrolik basınç artış gösterir, böylelikle intraglomerüler basınç, glomerüller kapiller hiperperfüzyon ve hipertansiyon geliştiği için tek nefron hiperfiltrasyonu (TNHF) gelişir (Meyer & Rennke, 1988).

Adaptif hiperfiltrasyonun en önemli belirteçlerinden glomerüler kapiller hipertansiyon glomerüllerde gelişen yapısal hasarın en önemli sebebidir. Hostetter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %85 nefrektomi uygulanan sıçanlarda tek nefron glomerüler filtrasyon hızı (TNGFH) hidrolik basınç ve afferent arterioldeki direnç artışına bağlı artmıştır. Bu hemodinamik değişiklikler bu sıçanların takibinde proteinüri ve yaygın fokal ve segmental glomerüloskleroza (FSGS) sebep olmuştur (Olson ve ark., 1982).

Sıçanlarda yapılan renal ablasyon çalışmalarında glomerüler hipertansiyonun kontrol edilmesinin koruyucu olduğu gösterilmiştir. Buna karşın antihipertansif tedavi sistemik kan basıncını düşürse bile intraglomerüler basıncı düşürmüyorsa böbrekleri koruyamamaktadır (Anderson ve ark., 1986). Renal kitlenin uzaklaştırılması sistemik hipertansiyona sebep olur (Hostetter ve ark., 1981) ve hipertansif renal hastalığı modellerinde hipertansiyonun sebep olduğu renal arter mekanizmaları gösterilmiştir. Otoregülatuar mekanizmaların bozulması sonucu sistemik kan basıncının glomerüller kapiller ağa iletilmesi kolaylaşır ve glomerüler hipertansiyon gelişir (Bidani ve ark., 1987).

Nefrektomiyle birlikte proteinüri gelişir. Bu proteinüri glomerüler perm selektivite özelliğinin (size selectivity and charge selectivity) bozulmasından kaynaklanır (Hakim ve ark., 1984; Yoshioka ve ark., 1988).

4.7.1. Yapısal Adaptasyonlar

Nefrektomiden sonra glomerüllerde büyüme olur ve glomerül yumağı hacmi %75 kadar artış gösterir (Dworkin ve ark., 1984). Glomerül endotel hücrelerinin, mezengial hücrelerin ve epitelyal hücrelerin sayısı tek taraflı nefrektomi sonrası artar (Olivetti ve ark., 1980). Glomerüler kapillerlerin uzunluğu ve çapı ve buna bağlı olarak da kapiller yüzey artış gösterir (Nyengaard, 1993). Renal ablasyon sonrası epitel hücrelerin ayaksa çıkıntılarının genişlediği gözlenmiştir (Shea ve ark., 1978). Glomerüler kapiller intaluminal basıncın ve kapiller çapın artışıyla glomerüller kapiller duvarındaki gerilim artar, kapiller duvar bütünlüğü bozulur, oluşan mekanik streslere bağlı bazı sinyal ileti yolları ve lokal humoral sistem aktif hale gelir.

Podositlerin strese yanıt olarak bölünme yetenekleri bulunmamaktadır. Nefrektomi sonrası bahsettiğimiz streslerle karşılaşan podositlerde fonksiyonel ve yapısal bozukluklar gelişir ve böylece FSGS gelişimi için zemin hazırlanmış olur (Fries ve ark., 1989; Kriz ve ark., 2013). Podositlerde proliferasyon olmadan glomerüllerdeki büyüme hücresel yapıların bozulmasına yalancı kistler oluşumuna ve ayrılmalara neden olur. Podosit kaybı FSGS gelişimi için en önemli faktördür (Kriz & LeHir, 2005).

4.7.2. Fiziksel Güçlerin Rolü

Artmış glomerüler kapiller basınç ve plazma akım hızları glomerüler hücrelerin gelişimlerini ve aktivitelerini değiştirir, sitokinlerin ve bazı mediatörlerin ekspresyonları indüklenir. Böylelikle mezengial matriks üretimi ve yapısal hasar artar. Gerim (Sheer) stresi veya kan akımındaki değişiklikler gibi hemodinamik faktörler endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin aktivitelerini değiştirir. Kapiller ve tübüler akımın artışı böbrek hücrelerinde bazı fizyolojik ve patofizyolojik cevaplara neden

olur. Böbrek içinde mekanotransluction ın arttığı invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Endotel, mezengial, tübüler hücreler veya podositlere ulaşan fiziksel uyarılar intarselüler sinyal ileti yolları yoluyla sitoplazmaya ve çekirdeğe iletilir. Böylelikle bazı olumsuz genlerin ekspresyonu indüklenir ve böylelikle farklı bir adaptasyon süreci başlamış olur (Chen ve ark., 2004; Katsumi ve ark., 2004). İntegrinler hücre adezyon molekülleri olmalarına rağmen hücre dışı uyarıları hücre içi ileti olaylarına dönüştürebilirler, vasküler sistemde de bulunan geçici (transian) reseptör potansiyelleri (trp) ailesi ile ilişkilendirilip mekanik/fiziksel değişimlere yanıt oluşturabilir, iyon kanallarını tetiklenerek hücre içi kalsiyum akışında değişiklikler meydana getirebilirler (Yin & Kuebler, 2010). Ayrıca gerilim stresine bağlı olarak endotel hücrelerinde yeni kaveoller oluşur ve bu kaveoller mekanosensör rolü oynayıp Ras-Raf ekstraselüler sinyal ileti kinaz (ERK) ve AKT Kinaz aktivasyonuna sebep olur (Boyd ve ark., 2003). Ayrıca bu mekanik değişiklikler vasküler hücrelerde mitojen aktive protein kinaz (MAPK) ailesini de uyarabilmektedir (Ingram ve ark., 1999). Bu yolların aktivasyonu mitojenik hücre cevabına, inflamatuvar sitokin aktivitesine, oksidatif strese, prosklerotik etkilere, ekstrasellüler matriks üretimine ve apoptozise neden olurlar (Gruden ve ark., 2000; Ohashi ve ark., 2004). Mekano-transdüksiyon uyarısı ile serin-treonin kinaz ailesinden protein kinaz-C (PKC) yolağı da aktive olur. Bu yolla hipertrofide rol alan faktörlerle vazoaaktif faktörler salgılanır (Ingram ve ark., 2000).

Glomerüler kapillerlerin ekspansiyonu ve mezengiumun gerilmesi mezengial matriks artışı oluşmasına sebep olur. Hücre kültürlerinde mezengial hücrelere döngüsel gerim (cyclic stretching) uygulandığında protein sentezi, total kollajen, kollajen 4, kollajen 1, laminin, fibronektin ve TGF- β sentezini uyarır (Riser ve ark., 1992). Mezengial hücrelerin pulsatil ortamlara maruz kalması durumunda anjiotensin 2 reseptörü uyarılır. Anjiotensinojen mRNA seviyeleri artar, protein kinaz C, kalsiyum girişi ve proto-onkogen ekspresyonu artar (Becker ve ark., 1998; Harris ve ark., 1992). Shankland ve arkadaşları uninefrektomi modelinde hipertansiyona bağlı glomerüler kapiller basıncın arttığını, TGF-beta ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) sekresyonunun arttığını göstermiştir (Shankland ve ark., 1994). Kapiller basıncın ACE inhibitörü ile azaltılması sonucunda TGF-beta ve PDGF azalmıştır.

Yetişkin podositlerin fiziksel stres uyarılarına karşı bölünme yetenekleri azalırken hipertrofiye uğrayabilirler. Mekanik stres podositlerdeki aktin yapılarının reorganizasyonuna sebep olur (Endlich ve ark., 2001). Gerim (Sheer) stresinin arttığı durumlarda podositlerdeki ‘‘zonula okludens-1’’ gibi fokal kontakt belirteçlerinin ekspresyonu azalır (Friedrich ve ark., 2006) ve hücre-hücre temas yapıları bozulur. Bu bozulmalar podosit ayrılmalarında/yırtılmalarında rol oynar.

Nefrektomi modellerinde RAS aktive olur, angiotensin-2 (AngII) düzeyleri artar, sistemik kan basıncı ve glomerüler efferent direnç artar (Baboolal & Meyer, 1994; Gilbert ve ark., 2008; Gilbert ve ark., 1999). Anjiotensin 2 protoonkogenleri, TGF-beta, PDGF gibi büyüme faktörlerini uyarır, NF-KB yolağını aktive eder. Monosit kemotaktik protein-1 (MCP1) uyarılır ve hücre dışı matriks proteinlerinin sentezini (fibronektin, kollajen, laminin, osteopontin) artırır veya profibrotik sitokinlerin (metaloproteinazlar, PAI-1) degradasyonlarını azaltır (Siragy & Carey, 2010).

Azaltılmış nefron kitlesi modelinde gelişen hemodinamik etkileri azaltmada NO iyi bir molekül olabilir ancak tek taraflı nefrektomi modellerinde NOS inhibisyonuna vazokonstriktör yanıtlar çok fazla olmaktadır (Valdivielso ve ark., 1999). Aynı zamanda 5/6 nefrektomi modelinde NOS izoformlarının enzimatik aktivitesi de azalmıştır (Vaziri ve ark., 1998). Azalmış NO seviyeleri nefronlarda oksidatif stresin artmasına da sebep olabilmektedir (Modlinger ve ark., 2004). Çalışmalarda NO’nın artık böbrek modelinde koruyucu etkileri gösterilmiştir. NO’nın kronik inhibisyonu ile böbrek hasarı hızlanırken L-arginin veya NO donorü olan mersidomin ile glomerüler kapiller basınç ve renal hasar azalmaktadır (Benigni ve ark., 1999; Katoh ve ark., 1994). Ayrıca NOS inhibitörü olan ADMA kronik böbrek hastalığında birikir, deneysel modellerde ADMA glomerül filtrasyon bariyerini bozar, hipertansiyonu tetikler, oksidatif stresi artırır, glomerüler ve vasküler fibrozisi kollajen1 mRNA ve TGF-B1 ekspresyonlarını artırır (Mihout ve ark., 2011; Sharma ve ark., 2009).

Prostaglandin E2, tromboksan A2 sentezi kronik böbrekte artar. COX-2 orijinli prostoglandinler afferent arteriollerde vazokonstriksiyon yapar, renin salgılanmasını uyarırlar (Ichihara ve ark., 1999; Nath ve ark., 1987; Sanchez ve ark., 1999). COX

yolağının bir ürünü olan tromboksanlar TGF-beta üretimini uyararak hasara sebep olurken vazoaaktif prostoglandin hormonları aktin steskeletan integritesini bozarak glomerüler permeabiliteyi arttırır, proteinüriye ve artmış kapiller basınca sebep olurlar (Wang ve ark., 1998).

Endotelin-1 (ET-1) vazokonstriktör etkileri nedeniyle iskemiye sebep olur. İn vitro şartlarda matriks üretimini arttırır, tübüler hücre proliferasyonunu arttırır, TGF-B'yı upregüle eder (Fligny ve ark., 2011; Kohan, 2010).

Renal ablasyon sonrası plazma atrial natriüretik peptid (ANP) seviyeleri de yükselir (Totsune ve ark., 1998). Afferent arterioplde vazodilatör etkisi nedeniyle hiperfiltrasyona sebep olur ve ANP antagonisti verildiğinde hiperfiltrasyon geriye döner (Zhang ve ark., 1994).

4.7.3. Büyüme Faktörleri

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) sıçanlarda renal perfüzyonu ve filtrasyonu arttırır (Hirschberg & Kopple, 1992). Tek taraflı nefrektomi sonrası IGF-1 inhibisyonu hiperfiltrasyonu önler (Haylor ve ark., 2000). Yine renal ablasyon modelinde IGF-1 antagonisti ile kompensatuar hipertrofi önlenememiştir (Oldroyd ve ark., 2006). Buna karşın bazı çalışmalarda IGF-1'in FSGS gelişimini önleyerek koruyucu olabileceği de rapor edilmiştir (Rogers ve ark., 1993).

Epidermal büyüme faktörü (EGF) arteriolar direnci arttırmaktadır (Harris ve ark., 1988). EGF reseptörünün fonksiyonunun inaktive edildiği nefrektomili farelerde tübülointerstisyel lezyon azalmıştır (Terzi ve ark., 2000).

Hepatosit büyüme faktörü (HGF) ise koruyucu rol oynayabilmektedir. Anti-HGF antikor tedavileri ile renal fibrozis ve GFR kaybı hızlanmaktadır (Liu ve ark., 2000).

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) nefrektomi sonrası glomerüler hipertrofiyi önleyebilir (259 Flyvberg A, Tilton RG, AJP 2002) ancak peritübüler kapiller kaybını azaltarak nefron kaybını azaltabilir (Kang DH, Joly AH, JASN 2001).

Platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF) potent bir mitojen olup (Huwiler ve ark., 1995) salgılanması Ang II tarafından uyarılır (Johnson ve ark., 1992). Renal ablasyon sonrası böbrekte sekresyonu uyarılır, renal fibrozis gelişiminde önemli rol oynar (Isaka ve ark., 1993).

Transforming growth faktör-beta (TGF- β) fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynayan bir faktördür. Birçok sinyal ileti yolağı üzerinden KBH'ında rol oynar.

4.8. Artık Modelinde Glomerülosklerozun ve Böbrek Yetmezliğinin

Önlenmesi:

Birçok böbrek hastalığında lökositler parankimi infiltre eder, inflamatuvar medyatörler salgılanır. Oluşan inflamatuvar yanıt tübül epitel hücrelerde dejenerasyonu ve nekrozu, apoptozisi, matriks sentezini ve fibrozisi tetikler (Vielhauer ve ark., 2001). Artık modelinde nefron kitlesinin azalmasına bağlı olarak KBH gelişir. Burada temel faktör sistemik hipertansiyonun yanısıra glomerüler basıncın artmasına bağlı glomerüloskleroz gelişmesidir. Yapılan birçok klinik çalışma ile sistemik kan basıncının azaltılması sıçanlarda KBH'na ilerlemeyi yavaşlattığı gösterilmiştir. Anderson ve ark. tek başına anjiyotensin dönüştürücü enzim (ADE) inhibisyonu yapılan sıçanlarda KBH ilerlemesinin beta bloker, tiyazid diüretik ve reserpin kombinasyonu ile kan basıncı düzenlenen gruptan daha yavaş bozulduğunu göstermişlerdir (Anderson ve ark., 1986). ACE inhibitörlerinin daha anlamlı etkileri sistemik kan basıncını kontrol etmelerinin ötesinde glomerüler kapiller hidrostatik basıncı azaltmasına bağlıdır (Anderson ve ark., 1986). ADE inhibitörlerinin bu modeldeki koruyucu etkileri Ang II bağımlı mezangial hücre proliferasyonunu ve bu hücrelerden matriks sentezini baskılamaları ile de ilişkilidir.

4.9. Apelin Sistemi.

Apelin sistemi apelin reseptöründen ve bu reseptörün apelin ve elabela/todler (ELA; apelin reseptör erken endojen ligandı) isimli iki adet ligandından oluşmaktadır.

4.10. Apelin reseptörü

Apelin reseptör (APJ) geni ilk kez 1993 yılında klonlanmıştır (O'Dowd ve ark., 1993). Bir G protein eşleştirilmiş reseptör olup tip-1 anjiotensin II reseptörü ile yüzde elliye varan bir benzerlik gösterir. Ancak anjiotensin II'nin AT-1 reseptörü üzerinden yaptığı etkilerinin tersi bir etki gösterir (Ishida ve ark., 2004; Siddiquee ve ark., 2011).

Apelin reseptörü, anjiotensin-1 (AT1) reseptörü ile %50 ye varan benzerlik göstermesine rağmen anjiotensin-II'yi bağlamaz (Tatemoto ve ark., 1998). APJ reseptörü yedi transmembran domaininden oluşan 380 amino asit uzunluğunda bir peptiddir. Bir G reseptörü tipi reseptörüdür ve intraselüler yolları aktive eder (Lee ve ark., 2004). Apelinin APJ reseptörüne bağlanması intraselüler yollardan mitojenle aktive olan protein kinazı (MAPK), fosfatidil inositol 3 kinazı (PI3K)/AKT aktive eder (Bai ve ark., 2008; Lee ve ark., 2005; Masri ve ark., 2004).

4.11. Apelin reseptör ligandları

İki farklı genin ürünleri olan iki endojen apelin reseptör ligandı tanımlanmıştır. Birincisi 1998 yılında tanımlanan apelin olup ikincisi de 2013 yılında tanımlanan ELA'dır (Chng ve ark., 2013; Tatemoto ve ark., 1998). Apelin peptidi; 77 amino asitlik pre-pro apelininden üretilir. Dolaşımda apelin-36, apelin-17 ve apelin-13 olarak bulunurlar ve APJ reseptörünü aktive ederler. Apelin izoformları kısaltıldıkça daha büyük bağlanma afinitesi ve biyolojik etki gösterir. En etkili form, aktif biyolojik ligandı temsil edebilen piroglutamatlanmış apelin-13 (Pyr-apelin) formudur (Maguire ve ark., 2009; Yang ve ark., 2017).

Normal vasküler gelişim için apelinin zorunlu olduğu gösterilmiştir (Apelin knock out embriyolarda damarlar kalibreleri küçük olarak gelişmektedir (Cox ve ark., 2006; Kidoya ve ark., 2008). Daha sonraki dönemlerde uygulanan vazodilatörler bu gelişim geriliğini kurtarabilmektedir. Ancak apelin susturulmuş (knock out) farelerde retinal damarlardaki gelişim geriliği daha sonraları tedaviyle kurtarılamamaktadır (Kasai ve ark., 2008). Angiogenezi artırıcı bu etkinin endotel hücrelerinin proliferasyon ve migrasyonunu sağlayan hücre transdüksiyon yollarını olan ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK), Akt ve p70S6 kinaz fosforilasyonunu

indükleyerek meydana geldiği bildirilmiştir (Masri ve ark., 2002; Saint-Geniez ve ark., 2002). Hipoksi aApelin gen ekspresyonu uyarır. Hipoksinin uyardığı endotel hücre proliferasyonu apelin sisteminin antagonize edilmesi ile önlenir (Eyries ve ark., 2008). İskemik inme sonrasında sıçanlara intranazal yoldan uygulanan apelin-13 molekülü, inme sonrası 9-14 gün içerisinde, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve matriks metalloproteinazların (MMP) düzeyini arttırmıştır (D. Chen ve ark., 2015).

4.12. Apelin ve kardiyak etkileri

Apelin bilinen en kuvvetli endojen inotrop ajandır (Maguire ve ark., 2009; Perjés ve ark., 2014; Szokodi ve ark., 2002; Wang ve ark., 2008). İzole perfüze sıçan kalbinde apelin uygulanması, doza bağlı olarak sarkomerlerde kısalmayı belirginleştirerek kardiyomiyositlerde kontraktileti artırılmaktadır (Farkasfalvi ve ark., 2007; Szokodi ve ark., 2002; Wang ve ark., 2008). Farelerde in vivo Pyr-apelin-13 infüzyonu kardiyak debiyi arttırmıştır (Ashley ve ark., 2005). İnsanlarda apelin-36 bolus uygulamaları ve Pyr-apelin-13 infüzyonu da kardiyak debiyi arttırmıştır (Japp ve ark., 2010; Maguire ve ark., 2009; Yang ve ark., 2017). Apelin sıçanlarda fosfolipaz C, protein kinaz-C ve sarkolemma $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ ve $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ transport sistemini aktive kardiyak kontraktileti kuvvetlendirir.

Kalp üzerinde çalışılan iskemi-reperfüzyon modellerinde, reperfüzyonun apelin ve apelin reseptörlerini arttırarak, reaktif oksijen moleküllerini, lipid peroksidasyonunu NO üzerinden azaltıp, miyokard kapiller yoğunluğu ve arteriol yapımında artış, apoptoz inhibisyonu ile metabolik ve fonksiyonel düzelme sağladığı saptanmıştır (Chen ve ark., 2016). On iki haftalık 51 sıçan üzerinde yapılan bir çalışmada, akut miyokard infarktüsü sonrasında apelin-13 infüzyonu verilen sıçanlar, almayan grup ile karşılaştırıldığında, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonlarının 9. haftaya kadar korunduğu, infarkt ve skar alanlarında ise azalma tespit edildiği bildirilmiştir. Bu bölgelerde aktif mitozu gösteren belirteçlerin düzeyinde de artış saptanmıştır (Chung ve ark., 2016). Atriyal dokuda, ventriküllere göre 200 kat fazla apelin konsantrasyonu mevcuttur (Pitkin ve ark., 2010). Apelin, renin anjiotensin aldosteron (RAA) mekanizmasını, anjiotensin II'yi antagonize ederek düzenler. Apelin, Anjiotensin II reseptör- 1(ATR1)'in anjiotensin II ile ilişkisini azaltarak, apelin reseptörlerinin

ATR1'e göre, düzeyini arttırır. Ayrıca, anjiotensin II 'yi anjiotensin 1-7 'ye dönüştüren ADE tip 2'yi (ADE-2) indükleyerek RAA mekanizmasını baskılar. Çünkü anjiotensin 1-7 molekülü, anjiotensin II molekülünün tersi etki yapmaktadır (Ishida ve ark., 2004; Sato ve ark., 2013; Siddiquee ve ark., 2013).

4.12.1. Kalp yetmezliği ve apelin sistemi

Elde edilen veriler kalp yetmezliğinde apelin sisteminin uyarıldığını hastalık ilerledikçe ise baskılanmaya başladığını göstermektedir (Japp & Newby, 2008). Apelin sistemi ile RAS sistemi arasında karşılıklı bir etkileşim vardır. Ang II infüzyonu ile kardiyak apelin mRNA düzeyleri azalmakta ve ARB verilmesi ile bu etki ortadan kalkmaktadır (Fukushima ve ark., 2010). Apelinin inotropik etkisi, göz önüne alındığında kalp yetmezliği tedavisinde kullanılabileceğini düşündürmektedir. Kalp yetmezliği olan hastalar sistemik Pyr1-apelin-13 infüzyonu ile kan basıncı ve sistemik vasküler direnç azalmış, kardiyak indeks te %10 kadar artmıştır (Japp ve ark., 2010). Yapılan başka bir çalışmada apelin agonistlerinin, su kısıtlanmış farelerde sistemik vazopressin salınımını inhibe ettiği, normotansif sıçanlarda i.v uygulanması ile idrar çıkışını arttırdığı ve arter kan basıncını güçlü ve kalıcı şekilde düşürdüğü gösterilmiştir. Böylece, diürezi indükleyen, kardiyak kontraktiletiyi arttıran ve vasküler rezistansı düşüren etkileri ile, kalp yetmezliği gibi su tutulumu ve hiponatremi ile giden hastalıkların tedavisi açısından faydalı bir molekül olabileceği düşünülmüştür (Gerbier ve ark., 2017). Apelin ve apelin reseptörünün, miyokard hücrelerinde azalmasının, özellikle kalp yetmezliği olan hastalarda, kalpteki fonksiyonel ve yapısal değişikliklerden sorumlu olduğu bildirilmiştir (Ashley ve ark., 2005; Berry ve ark., 2004). Iwanaga ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise sol ventrikül disfonksiyonu ve kalp yetmezliği olan sıçanlarda, apelin reseptörlerinin azalırken, ADE2 enziminde artış gözlenmiş, tedavi amaçlı ADE2 inhibitörü, MMP inhibitörü ve β -bloker verilen sıçanların herbirinde fonksiyonel iyileşme gözlemlendiği, ancak sadece ADE2 inhibitörlerinin apelin reseptör düzeyini arttırdığı bildirilmiştir (Iwanaga ve ark., 2006).

4.12.2. Miyokard enfarktüsü ve apelin sistemi

Apelin knock out farelerde iskemik miyokard hasarına karşı artmış bir hassasiyet söz konusudur. Bu farelerde daha büyük enfarkt alanı, artmış ventriküler dilatasyon ve mortalite izlenmiştir (Wang ve ark., 2013). Apelin verilen miyokard enfarktüsü modellerinde ise enfarkt büyüklüğü azalmış ve kardiyak fonksiyonlar daha iyi korunmuştur (Azizi ve ark., 2013; Wang ve ark., 2013). İskemiye yanıt olarak HIF1 α uyarısı ile apelin ekspresyonu artar, apelin eksik farelerde IRH yanıt olarak anjiyojenik cevap bozulmaktadır (Ronkainen ve ark., 2007; Wang ve ark., 2013).

4.13. Apelin ve böbrekler üzerindeki etkileri

Apelin reseptörünün böbrek dokusunda dağılımını incelendiğinde; apelin mRNA'sının medullanın en fazla iç katmanında daha sonra da sırasıyla medullanın dış katmanında, iç medulla ve kortekse doğru gitikçe azalarak eksprese olduğunu göstermişlerdir. Glomerülde de yoğun apelin mRNA ekspresyonu tespit edilmiştir (Hus-Citharel ve ark., 2008). Aynı çalışmada apelinin fonksiyonel etkilerini böbrek damarlarında incelediklerinde ise anjiyotensin II ile jukstamedüller glomerüler afferent arteriyollerde oluşturulan konstriksiyonun apelin ile gerilediğini göstermişlerdir. Apelinin bu etkileri L-NAME ile antagonize olmuştur. Endoteli çıkartılmış afferent arteriyollerde apelin etkisiz kalmıştır. Bu durum apelinin etkilerini endotel hücreleri varlığında NOS aktivasyonu ile yaptığını düşündürmüştür. (Hus-Citharel ve ark., 2008).

Apelin sisteminin böbrek hastalıklarındaki rolü ile ilgili çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Akut böbrek hasarı (ABH) modellerinde apelin ekspresyonu başlangıçta artarken hasar ilerledikçe azalmaktadır (H. Chen ve ark., 2015; Gholampour ve ark., 2020). Böbrek iskemisi reperfüzyon (IRH) modelinde apelin-13 uygulanmasının tübüler hasarını düzelttiği ve böbrek fonksiyonlarındaki bozulmayı da sınırlandırdığı gösterilmiştir (H. Chen ve ark., 2015). Bu modelde apelin mRNA'da izlenen azalma ve HIF1 α ve TGF- β 'da izlenen upregülasyon önlenmiştir (H. Chen ve ark., 2015). İRH öncesinde apelin uygulaması da koruyucu etki gösterebilmektedir (SAĞIROĞLU ve ark., 2012). Ayrıca ELA'da İRH'nı önleyebilmektedir. ELA-32 yada ELA-11 ile tedavi yapıldığında inflamasyon, apoptosis ve fibrosis gelişimi önlenmiş, böbrek

fonksiyonları da korunmuştur. ELA'nın koruyucu etkilerinin hücre içi cAMP düzeylerinde değişiklik olmadan sağlanması nedeniyle apelinin farklı bir mekanizma ile gerçekleştirildiği düşünülmektedir (Chen ve ark., 2017). Rodentlerde yapılan hipertansiyon modellemesinde ise iskemik böbrekte apelin düzeylerinin azaldığı ancak, apelin-13 'ün uygulanması ile sistolik ve diastolik tansiyonda anlamlı ölçüde düşüş tespit edildiği bildirilmiştir (Najafipour ve ark., 2012).

4.13.1. Diyabetik böbrek hastalığı ve apelin sistemi

Diyabetik böbrek hastalığında da apelin sisteminde değişiklikler gelişmektedir. Yüksek glikoz ile kültüre edilen podositlerde apelin reseptör mRNA ekspresyonu azalırken (Müller ve ark., 2018) reseptör ekspresyonu ise artmıştır (Guo ve ark., 2015). Hayvanlarda oluşturulan diyabet modellerinde apelin reseptörü ve pro-preapelin düzeylerinin azaldığını yada tam tersine arttığını gösteren yayınlar bulunmaktadır (Day ve ark., 2013; Müller ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2013). Fare podositleri hiperglisemik ortamlarda kültüre edildiğinde apelin-13 anti-apoptotik etki göstermektedir (Müller ve ark., 2018). Akita farelerinde oluşturulan tip-1 DM modelinde apelin-13 ile tedavi sonrası proteinüri azalmış, renal inflamasyon önlenmiştir (Chen ve ark., 2014). Buna karşın KK-Ay farelerinde oluşturulan tip-2 DM modelinde apelin kan akımında, podosit apoptozisinde ve otofajide bozulmalara sebep olarak albuminüri ve kreatinin klirensini kötüleştirmiştir (Guo ve ark., 2015; Liu ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2018). Yine bu modelde apelin antagonisti olan F13A (ala-apelin) ise koruyucu olmuştur. Ancak F13A'nın gerçek bir apelin antagonisti olmayabileceği de düşünülmektedir.

4.13.2. Sıvı homeostazi ve apelin sistemi

Apelin sistemi sıvı homeostazında da rol almaktadır. Apelin reseptörleri, beyinde özellikle supraoptik ve paraventriküler nükleusta vazopressin reseptörü ile ko-lokalize olarak bulunur.

Sağlıklı insanlarda plazma ozmolaritesindeki değişiklikler karşılıklı (resiprokal) olarak vazopressin ve apelin düzeylerini değiştirmiştir (Azizi ve ark., 2008). Apelinin

ve ELA'nın santral enjeksiyonları ile, vazopressin salgılayan nöronlarda elektriksel aktivite azalmış, vazopressin düzeylerinde azalma tespit edilmiş, ve diürez de indüklenmiştir (De Mota ve ark., 2004; Deng ve ark., 2015; Hus-Citharel ve ark., 2014; Hus-Citharel ve ark., 2008; Reaux ve ark., 2001). Ayrıca apelin tübül epitel hücrelerinde direk etki ile sodyum ve potasyum metabolizmasını etkilemeden aquaretik etki göstermektedir (Hus-Citharel ve ark., 2014; Hus-Citharel ve ark., 2008). Bu etkiler aquaporin-2 kanallarının toplayıcı tübül (collecting duct) apikal plazma membranına insersiyonu sonucu oluşmaktadır (Boulkeroua ve ark., 2019; Hus-Citharel ve ark., 2014).

Sıvı homeostazı bozukluklarında ise apelin ile vazopressin arasındaki ilişki bozulmuştur. Uygunsuz anti-diüretik hormon sendromunda (SIADH) vazopressin fazlalığına bağlı olarak sıvı retansiyonu söz konusudur. SIADH'li hastalarda plazma vazopressin seviyeleri artarken plazma apelin düzeylerinde orta derecede artış izlenir. Plazma vazopressin düzeyini belirlemede plazma kopeptin düzeyleri kullanılmaktadır. Apelin – kopeptin oranı SIADH'li hastaların yaklaşık %90'ında beklenilenden düşüktür (Blanchard ve ark., 2013). Kraniyal diyabetes ve primer polidipsi sendromlarında plazma apelin ve kopeptin seviyeleri azalırken nefrojenik diyabetes insipidusda artışlar izlenir (Urwyler ve ark., 2016).

4.13.3. Polikistik böbrek hastalığı ve apelin sistemi

Otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ADPKBH) olan hastalarda plazma kopeptin ve apelin seviyeleri azalmaktadır (Lacquaniti ve ark., 2013). Ayrıca, ADPKBH larında böbrek fonksiyonları bozuldukça plazma apelin konsantrasyonları azalır ve apelin düzeyleri TGFB1 ile negative korelasyon gösterir (Kocer ve ark., 2016; Lacquaniti ve ark., 2013). Apelinin aquaporin-2 kanallarının toplayıcı tübüllerde yerleşmesini önleyici etkileri olduğu düşünüldüğünde bu hastaların tedavisinde apelin bir alternatif olabilir (Boulkeroua ve ark., 2019; Hus-Citharel ve ark., 2014).

4.13.4 Apelin sistemi ve böbreklerde fibrozis üzerine etkileri

Böbrek hasarının erken dönemlerinde inflamatuvar ve pro-fibrotik faktörler artarlar. RAS sistemi de aktive olur ve AT1 reseptörü üzerinde Ang II fibrozise sebep olur. RAS sisteminin blokajı KBH'nda koruyucu etki gösterir (Maschio ve ark., 1996;

Nogueira ve ark., 2017; Wang ve ark., 2017). Apelin sistemi intrarenal RAS sistemini düzenlemektedir. Toplayıcı tübül orijinli M1 hücrelerinde prorenin reseptörü, prorenin ve renin ekspresyonu ELA-32 tarafından baskılanmaktadır(Xu ve ark., 2020). Tuza hassas Dahl sıçanlarında ELA-32 infüzyonu yüksek tuz alımına bağlı renin, AT1 ve AT2 reseptör mRNA ekspresyonunu artışlarını önlemiştir (Xu ve ark., 2020). Yine tuz hassas sıçanlarda ELA-32 infüzyonu renal fibrozisi ve inflamasyonu önlemektedir (A Schreiber ve ark., 2016; Xu ve ark., 2020).

Apelin, NO sentezini artırarak (Desmoulière ve ark., 2005) tek taraflı üreter obstrüksiyon (UUO) modelinde potansiyel olarak fibrozisi azaltıcı etki gösterebilir. Ayrıca ateroskleroz modelinde gözlenen anjiotensin II aracılı patofizyolojik etkileri baskılayarak damarlarda yeniden yapılanma (vasküler remodeling) ile UUO modelinde gelişen fibrozisi önleyebilir (H. Chun ve ark., 2008; Wu ve ark., 2010).

Siroz ve inflamatuvar barsak hastalığı modellerinde apelin ekspresyonunun inflamatuvar sitokinler tarafından artırıldığı gösterilmiştir (Daviaud ve ark., 2006; Han ve ark., 2008). Diğer taraftan aort anevrizma modelinde apelin infüzyonu ile inflamatuvar cevap baskılanmış ve anevrizma gelişimi önlenmiştir (Leeper ve ark., 2009). Dolayısıyla apelin inflamatuvar cevabı baskılayarak da koruyucu etki gösteriyor olabilir.

5. GEREÇ ve YÖNTEM

“Apelinin Sıçanlarda Kronik Böbrek Yetmezliği Gelişimi, Endotel Disfonksiyonu ve Kardiak Fonksiyonlar Üzerine Etkileri” adlı çalışmanın Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onayı alındı (Ref no: 65.2015.mar.). Çalışmamız Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAPKO- proje no: SAG-CDRP-250416-0168) tarafından desteklenmiştir.

5.1. Deney hayvanları

Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DEHAMER) temini gerçekleştirilen 12 haftalık (3 aylık) erkek (250-300 gr) Sprague Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanlarının kafesleri, barınma ortamları, oda sıcaklıkları, yem ve su miktarları ile gün ışığı siklusu ayarlandı. Deney süresince haftalık vücut ağırlığı takipleri gerçekleştirilen hayvanların genel durumlarında bozukluk, aşırı kilo kaybı, inflamasyon görüldüğünde gruptan çıkarılmışlardır.

5.2. Deneyssel kronik böbrek yetmezliği modeli

KBH modeli oluşturulurken 5/6 nefrektomi modeli kullanıldı. Bu modelde KBH grubuna dahil edilen sıçanların önce sol böbreklerinin alt ve üst 1/3 kısımları eksize edildi, 1 hafta sonra da sağ böbreklerine total nefrektomi yapıldı. Bu ikinci cerrahinin ertesi günü sıçanlar tedavi gruplarına randomize edildiler. Taklit cerrahi grubundaki sıçanların ise flank bölgelerine insizyon yapıp, dikişleri atıldı.

5.3. Deney protokolü ve grupları

Kronik böbrek grubundaki sıçanlar ikinci cerrahi işlemlerin bitiminden başlamak üzere 8 hafta süreyle tuzlu su (SF-KBH grubu, n=8), apelin (Apelin-KBH grubu, n=8), ala-apelin (Ala-apelin-KBH grubu, n=8) gruplarına randomize edildiler. Her grupta Kontrol grubundaki sıçanlara tuzlu su (1 ml/kg/gün i.p), Apelin-KBH grubundaki sıçanlara Pyr-apelin-13 (100 mcg/kg/gün i.p), Ala-apelin-KBH grubundaki sıçanlara ise Ala-apelin (100 mcg/kg/gün i.p) ikinci ameliyattan (sol nefrektomi) hemen sonra verilmeye başlandı ve ilaç tedavisi tüm gruplarda toplam 8 hafta süreyle devam etti.

Cerrahi işlem öncesi sıçanların kan basınçları (KB) Kuyruk- manşon (tail-cuf) metodu kullanılarak (Biopac Systems, Goleta, CA, USA) ölçüldüler. Bu amaçla sıçanlar KB ölçümünden önce KB ölçüm kafesine iki kez 5'er dakika konularak bu ortama alışmaları sağlandı ve daha sonra KB'ları ölçüldü. KB ölçümleri cerrahi işlemlerin yapılmasından 4 ve 8. Hafta sonra tekrarlandı. Deneyin sonunda, sıçanlar metabolik kafese konularak 24 saatlik idrarları toplandı; idrarda albümin, protein atılımları ve kreatinin klirensleri hesaplandı. Sıçanlar 8. haftanın sonunda dekapite edilerek kalp ve böbrek dokuları çıkartılıp bir kısmı formole konuldu bir kısmı da -80°C de saklandı. Sol ventrikül ağırlıkları kaydedildi. Torasik aortadan alınan örnekler kontraktıl yanıtları ölçülmek üzere hemen organ banyosuna alındı. Bir kısım aort dokusu da %4 formol içinde fikse edildi. Alınan kan örneklerinden serumlar ayrıldı.

5.4. İdrar örneklerinin toplanması

Sıçanlar kontrast madde enjeksiyonunun 48.saatinde 24 saatlik idrarları toplanmak üzere metabolik kafeslere konuldu. 24 saat süre ile metabolik kafeste idrarları toplandı. 72. saatte toplanan idrarlar santrifüj edilerek -80 °C'de saklandı.

5.5. Kan ve böbrek doku örneklerinin alınması

Sıçanlar metabolik kafeste 24 saatlik idrarlarının toplanmasının ardından (kontrast uygulanması sonrası 48.saatte) eter anestezisi ile sedatize edildikten sonra intrakardiyak kanları alındı, sağ ve sol böbrekleri çıkartıldı. Böbrekler uygun parçalara bölündükten sonra bir kısmı %10 formol içinde saklanıp, daha sonra parafin blokları içine gömüldü, bir kısmı da direkt olarak -80 °C'de dondurularak saklandı. Eter anestezi ile sedatize edilen sıçanlardan alınan intrakardiyak kanlardan elde edilen serumlar -80 °C'de saklandı.

5.6. Serum ve idrar örneklerinde biyokimyasal tetkikler

Serumda BUN, kreatinin ve idrarda kreatinin, albümin ve protein ölçümleri, MÜTF Biyokimya Laboratuvarı'nda Beckman Coulter, AU680 marka otoanalizörde rutin hazır kitler kullanılarak yapıldı.

5.7. Böbrek fonksiyonlarının belirlenmesi

Tüm gruplardan kan örnekleri, heparinle yıkanmış enjektör aracılığıyla herhangi bir katkı maddesi içermeyen polipropilen boş tüplere alındı. Soğuk zincir protokolünde nakil ve santrifüj işlemlerinden geçirildikten sonra elde edilen plazmanın bir kısmı serum BUN ve serum kreatinin ölçümleri için kullanıldı.

Serum BUN, serum kreatinin ve idrar kreatinin ölçümleri, MÜTF Biyokimya Laboratuvarı'nda Beckman Coulter, AU680 marka otoanalizörde rutin hazır kitler kullanılarak yapıldı. Kontrast nefropatisi modeli, kontrol grubuna kıyasla kontrast grubundaki serum kreatinin düzeyinde en az 0.5 mg/dl veya %30'luk artış olarak kabul edildi.

5.8. ELISA tekniği ile kollajen ve proinflatuar sitokin tespiti

Serum, böbrek ve kalp doku homojenatı örneklerinde TNF- α ve IL-1 β ölçümleri Rat TNF- α Platinum ELISA (katolog no: BMS622, eBioscience, Austria) ” ve “ Rat IL-1 β Platinum ELISA (katolog no: BMS630, eBioscience, Austria) ” kitleri kullanılarak yapıldı. Doku homojenatlarında protein konsantrasyonu BCA kiti (katalog no: 23225, Pierce, USA) kullanılarak belirlendi. TNF- α ve IL-1 β değerleri pg/ml veya pg/mg protein cinsinden hesaplandı.

5.9. Böbrek ve kalp dokusunda protein tayini

Kalp ve aort dokularının proteinleri alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyona sokuldu ve fosfomolibdik - fosfotungstik asit reaktifi (folin) ile indirgendi. Yaklaşık 100'er mg alınan doku parçaları tüp içerisine koyulup 0,5 ml SF (% 0,9 NaCl) ilavesi yapılarak buz içerisinde 1 dk bekletildikten sonra homojenize edilerek (Haidolph Instruments, Silent Crusher M, D-91126, 24.000 RMP'de 40 sn (kalp) – 20 sn (aort)) hazırlanan doku homojenatları + 4 °C'de 10.000 RPM'de 20 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı protein tayini yapılmak üzere kullanıldı. Öncelikle %5'lik, 10'luk ve 15'lik bovine serum albümin kullanılarak standartlar hazırlandı. Tüm deney tüplerine 3 ml 100/1 oranında 0,1N NaOH'da çözülmüş %2 Na₂CO₃ ve % 0,16 Na-tartarat'da çözülmüş %4 CuSO₄.5H₂O çözeltileri karışımından koyuldu. Deney tüplerinde 10 ml süpernatant ve sadece SF içeren bütün tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra oda

sıcaklığında 30 dakika bekletildi. Tüplere 300 µL Folin-Fenol reaktifi vorteksenerek eklendi ve 45 dakika daha oda sıcaklığında beklendikten sonra absorbansları 500 nm’de köre karşı okundu. Standart grafiği çizildi ve doku protein miktarı (mg protein/g doku) cinsinden hesaplandı (Lowry ve ark., 1951).

5.10. Myeloperoksidaz (MPO) Aktivitesi Ölçümü

Dokular ilk önce 20 Mm K_2HPO_4 (pH=7.4) çözeltisi ile sulandırılıp Ultra Turrax T25 doku homojenizatöründe (Janke&Kunkel, IKA-Labortechnik) homojenize edildikten sonra 12.000 devirde 10 dakika süreyle 4 °C’de santrifüje edildi. Pellet, aynı hacimde %0.5’lik heksadesiltrimetilamonyum hidroksit içeren 50 mM K_2HPO_4 ile yeniden homojenize edildi. MPO aktivitesi, o-dianizidin 2HCl’nin H_2O_2 ’e bağımlı oksidasyonunun spektrofotometrik ölçülmesi ile saptandı. Bir ünite enzim aktivitesi, 460 nm’de 3 dakika boyunca absorbansta değişikliğe neden olan MPO miktarı olarak tanımlandı. MPO aktivitesi Ünite/gram olarak ifade edildi. (Aykaç ve ark)

5.11. Malondialdehid (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesi

MDA tayini için böbrek ve kalp dokusu örnekleri (100–150 mg) trikloroasetik asit (TCA; % 10) eklendikten sonra homojenize (Ultra Turrax T10, Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik) edildi. Homojenatlar (dakikada 3000 devirde, 4 °C’de) 15 dakika santrifüje edildikten sonra süpernatantlar başka bir tüpe alınarak (dakikada 15.000 devirde, 4°C’de) 8 dakika süre ile tekrar santrifüj edildi. Süpernatant örnekleri % 0,67’lik tiyobarbitürik asit (TBA) ile 100°C’deki su banyosunda 15 dakika kaynatıldı ve absorbans değerleri 535 nm dalga boyunda köre karşı spektrofotometrede okundu. Lipit peroksidasyon düzeyi nmol MDA/gr doku şeklinde ifade edildi (Aykaç ve ark., 1985; Buege & Aust, 1978).

Glutatyon (GSH) tayini: Glutatyonun düzeyinin ölçümü için lipid peroksidasyonu ölçümünde elde edilen süpernatantlar kullanıldı. Aynı süpernatant örneklerine 0.3 M Na_2HPO_4 ve Ellman ayırıcı (sodyum sitrat tamponunda 5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoic Acid (DTNB, pH 8.0) eklendi. Karanlıkta 10 dakika bekletilen tüpler

spektrofotometrede 412 nm dalga 42 boyunda köre karşı okundu. Sonuçlar nmol GSH/gr doku şeklinde ifade edildi (Aykaç ve ark., 1985).

5.12. Histolojik değerlendirme

Böbrek ve kalp dokuları %10'luk formalin ile fikse edildi ve rutin parafine gömme protokolü sonrası alınan kesitlerde böbrek ve kalp ve aort dokuları hematoxilen ve eosin (H ve E) ile boyanarak fotomikroskopta (Olympus BX51, Japonya) değerlendirildi. Aort dokularının kesitleri aynı zamanda immunohistokimyasal değerlendirme yapılmak üzere pozitif şarjlı lamlara alındı ve gerekli prosedürlere tabii tutuldu. Her deney grubunda 6-8 preparat ve her preparatta da rastgele seçilen 5 alan x40 büyütmede değerlendirildi.

Formaldehidde tespit edilen dokular alkol ile kurutuldu, tolüen ile temizlenip parafine gömüldü. Beş mikronmetre kalınlığında kesitler alınıp hematoxilen ve eosin (H&E) ve trikrom ile boyandı. Bir fotomikroskopun digital kamerası ile değerlendirilip fotoğrafları alındı (Olympus BX51, Japan). Böbrek dokusunda tübüler epitel hücre dejenerasyonu, tübüler dilatasyon, konjesyon, interstisyel ödem, nötrofil infiltrasyonu ve glomerüler dejenerasyon skorları 20 alanda değerlendirildi. Bu parametrelerin her biri 0: yok; 1: hafif; 2: orta derecede; ve 3: ağır olarak semî kantitatif olarak değerlendirildi. Tüm parametreler için elde edilenskorların toplamı ile toplam hasar skoru elde edildi (Thomas ve ark., 1998).

Mezangial proliferasyon skorlaması Raij ve ark. tanımlamasına göre yapıldı (Raij ve ark., 1984). Yarıkantititatif skorlama sistemine göre her örnekte en az 20 glomerül incelendi. Glomerüllerdeki hasar 0 – 4 arasında derecelendirildi. Buna göre +1 lezyonu glomerülün %25'inin tutulumunu ifade ederken +4 lezyon ise glomerüllerin %100'ünün tutulduğunu göstermekteydi. Ardından bir hasar skoru hesaplandı. Hasarın derecesi (0 ile 4 arası) ile aynı hasar derecesinde etkilenen glomerülün yüzdeleri çarpıldı. Örneğin 20 glomerülden 5 tanesi +1, 5 tanesi +3 lezyonu var ise bu örnekteki hasar skoru: $(1 \times 5/20) + (3 \times 5/20) \times 100 = 100$ olacaktır (Raij ve ark., 1984).

Böbrek dokusunda, trikrom boyaması ile de 12'şer alanda glomerüler skleroz ve interstisyel fibrozis skoru hesaplandı. Bu skorlamada glomerülün normal olması (skor=0), glomerüler yumağın <%25 skleroz olması (skor=1), glomerüler yumakta %25-50 skleroz olması (skor=2), glomerüler yumağın >%50 skleroz olması (skor=3) olarak değerlendirildi. Benzer şekilde böbrek dokusunda interstisyel fibrozis skorlamasında normal tübülointerstisyel olması (skor=0), incelenen alanda hafif tübüler atrofi ve interstisyel ödem ile <%25 fibrozis olması (skor=1), orta derecede tübülointerstisyel fibrosis olması ve alanın %25-50'sinde fibrozis olması (skor=2), ağır tübülointerstisyel fibrosis olması ve alanın >%50 fibrozis olması (skor=3) olarak değerlendirildi (Thomas ve ark., 1998).

Kalp dokusunda da fibrozis skorlamasında fibrozis olmaması (skor=0), kesit alanının %25'inden azında fibrozis olması (skor=1), kesitteki alanın %25- 50'sinde fibrozis olması (skor=2) ve kesitteki alanın %50'sinden fazlasında fibrozis olması (skor=3) olarak değerlendirildi (Çetin ve ark., 2013).

5.13. İmmünohistokimya boyama yöntemi

Böbrek dokusunda, Caspase-3 ekspresyonunu değerlendirmek amacıyla, peroksidaz konjuge polimerik immünohistokimya boyama yöntemi kullanıldı.

Bu yöntemde; parafine gömülü dokulardan, pozitif şarjlı lamlara 3 µm kalınlığında kesitler alınarak 37° C' de 1 gece deparafinize edildi. Kesitler 3 ayrı ksilende 5'er dakika ve iki ayrı %96 etanolde 10'ar dakika bekletilerek hidrate edildi. Endojen peroksidaz aktivitesi metanolde hazırlanmış %3 hidrojen peroksit ile 20 dakika süreyle baskılandı. Maskelenen antijenleri açığa çıkarmak amacıyla, kesitlere mikrodalga fırında 200 W güçte sitrat tampon çözeltisi (pH 6.0) ile 20 dakika ön işlem uygulandı. Oda ısısında soğutulan lamlar iki ayrı fosfat tampon çözeltisinde (PBS) 5'er dakika yıkandı. Nonspesifik boyanmayı engellemek amacıyla dokulara protein blokaj çözeltisi damlatıldı ve 10 dakika bekletildi. Blokajın ardından kesitlere Caspase-3 primer antikoru (CST 9664T, CELL SIGNALING Danvers, MA – USA) 1:500 dilüsyon ile damlatıldı ve 92 dakika inkübe edildi. Süre sonunda iki ayrı PBS ile yıkanan kesitlere Post Primer (Novolink™ Polymer Detection System; RE7140-K, Leica Byosistems, UK) damlatıldı ve 30 dakika inkübe edildi. Tekrar iki ayrı PBS ile 5'er dakika yıkanan kesitlere Novolink™ Polymer (Novolink™ Polymer Detection System; RE7140-K, Leica Byosistems, UK) damlatıldı ve 30 dakika bekletildi.

Süre sonunda 5'er dakikalık iki ayrı PBS ile yıkamanın ardından sekonder görüntüleme için ROCHE/ UltraView Universal DAB Detection Kit ile Standart UltraView IHC Protokolü uygulandı. Mayer Hematoksilen ile yapılan 2 dakikalık nükleer zıt boyamanın ardından lamlar %96 'lık etanol ile dehidrate edildi ve kapama maddesi ile kapatıldı.

Boyanmanın spesifikliğini test etmek amacıyla tüm antikorlar için pozitif ve negatif kontrol dokuları da boyandı. Pozitif kontrol dokularında yukarıdaki yöntem değişiklik yapılmadan uygulanırken, negatif kontrol dokularında primer antikor aşaması atlandı.

Her preperatta farklı alanlarda kahverenkli sitoplazmik boyama alanları belirlendi. Yarıkantitatif skorelama yapıldı. Bu sistemde negatif, zayıf (+1), orta (+2) ve kuvvetli (+3) boyanmaya göre skorelama yapıldı (Aydogan ve ark., 2014).

5.14. Endotel fonksiyonlarının organ banyosunda değerlendirilmesi

Torasik aortalardan alınan 2-3 mm'lik halka kesitler organ banyosuna transfer edildiler ve endotel fonksiyonları değerlendirilmek üzere aşağıdaki protokole tabi tutuldular.

Dekapitasyondan hemen sonra %95 O₂ ve %5 CO₂ ile gazlandırılan KREBS (mmol/L: 119 NaCl, 4.7 KCl, 1.2 KH₂PO₄, 1.2 MgSO₄·7H₂O, 25 NaHCO₃, 2.5 CaCl₂, ve 11 glikoz) çözeltisine her bir sıçandan hazırlanan aort halkaları 20 ml'lik izole organ banyolarının kanallarına asıldı. 37° C'ye ısıtılmış ve sürekli olarak %95 O₂ - %5 CO₂ ile gazlandırılan organ banyosunun içindeki aort preparatlarına 500–1000 miligramlık gerilim uygulanarak dokular 40 dakika dinlenmeye bırakıldı.

- Bu süre zarfında 20 dakikada bir KREBS solüsyonu yenilendi.
- 40 dakika sonunda sırasıyla aort halkalarının bulunduğu banyolardaki KREBS çözeltisi boşaltılarak 20'şer ml 124 mM'lık önceden su banyosunda 37° C'ye kadar ısıtılmış KCl eklenip maksimum kasılma yanıtları kaydedildi.
- En az 3 kez yıkanan banyolardaki dokular 30 dakikalık dinlenmeye bırakıldılar.
- Damarlar maksimum doz elde edilene kadar kümülatif olarak logaritmik olarak artırılan fenilefrin (FE, 3×10^{-8} – 10^{-4} M) kasılmalarına tabi tutulup maksimum düz kas kasılma cevabının elde edildiği dozun bir düşüğü submaksimal yanıt olarak kaydedildi.
- Bu seri kasılmalarından sonra FE içeren banyolar KREBS ile en az 3 defa yıkanarak segmentler tekrar 30 dakika dinlenmeye bırakıldı. Ayrıca banyo içindeki solüsyon dinlenme boyunca 10 dakika arayla yenilendi.
- Submaksimal FE dozu ile gerçekleştirilen ön kasılmayı takiben endotele bağımlı gevşeme cevaplarını göstermek üzere segmentlere kümülatif olarak arttırılan dozlarda karbakol (CCh, 10^{-8} - 10^{-4} M) uygulandı.
- Yıkama serileri ile dokudan CCh uzaklaştırıldıktan sonra 30 dakikalık dinlenme periyodunu takiben banyoya tek doz submaksimal FE ilavesi ardından tek doz L-name (10^{-5} M) eklenmesi gerçekleştirildi ve 20. dk. inkübasyondan sonra kümülatif olarak arttırılan dozlarda (10^{-8} - 10^{-4} M) CCh uygulandı.

- Yıkama ve dinlenme periyodu ardından banyolara submaksimal FE ilavesi ile maksimal kasılma yanıtı elde edildikten sonra kümülatif dozlarda apelin (10^{-9} – 3×10^{-5} M) ilavesi ile damar yanıtları kaydedildi, benzer kayıtlar L-name (10^{-5} M) inkübasyonu sonrasında da alındı.
- Yıkama ve dinlenme süreci sonrası son olarak submaksimal FE ile kasılan damarların yanıtları apelin antagonisti olan Ala-apelin'in (10^{-5} M) banyoya tek doz ilavesi sonrası kümülatif apelin (10^{-9} – 3×10^{-5} M) ilavelerine verilen cevaplar şeklinde kayıt altına alındı.

5.15. İstatistik değerlendirme

Analizler GraphPad Prism 9 paket programı ile yapıldı. Sayısal veriler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde ifade edildi. Sürekli verilerin iki grup arasındaki karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, çoklu karşılaştırılmalarında ANOVA testi kullanıldı. Post hoc düzeltmeler Tukey testi ile yapıldı. Torasik aort halkalarındaki tüm protokollerin gevşeme yanıtını sunmak için fenilefrin (PE) kasılmasının (L-NAME ile veya L-NAME olmadan) yüzde olarak tersine çevrilmesi esas alındı. Maksimal gevşeme tepkisi (E_{max}), maksimal tepkinin %50 sini oluşturan konsantrasyon, vazoaaktif ajanlara yanıtta EC_{50} olarak sunuldu ve $pD_2 = -\log EC_{50}$ verilerinin belirlenmesi duyarlılık olarak ifade edildi. Tüm veriler ortalama $\pm$ S.E.M. olarak ifade edildi. Veri grupları tel yönlü ANOVA ve ardından Tukey'in çoklu karşılaştırma testleri veya seçili doz yanıtları Student t testi kullanılarak analiz edildi. P değeri 0,05'den küçük ise anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Kan basıncı ölçümü değerlendirilmeleri

Kan basınçları incelendiğinde taklit cerrahi grubunda 4. haftada 129 ± 4 mmHg olan ortalama arteriyel kan basıncı (OAB) 8. hafta sonunda 138 ± 3 mmHg'ya olmak üzere bazale göre anlamlı olarak yükseldi ($p<0.05$). KBH-SF grubunda ise taklit cerrahi grubuna kıyasla 4. haftada (128 ± 8 mmHg, $p=NS$) ve 8. hafta sonunda (135 ± 4 mmHg) benzerdi. Apelin-KBH grubunda ise bu değerler 4. haftada (133 ± 4 mmHg) taklit cerrahi grubu ile benzer iken 8. hafta sonunda (108 ± 2 mmHg) taklit cerrahi ($p<0.05$) ve SF-KBH grubundan ($p<0.05$) anlamlı olarak düşüktü. Benzer şekilde Ala-apelin-KBH grubunda da bu değerler 4. haftada (128 ± 4 mmHg) taklit cerrahi grubu ile benzer iken 8. hafta sonunda (102 ± 2 mmHg) taklit cerrahi ($p<0.05$) ve SF-KBH gruplarından ($p<0.05$) anlamlı olarak düşüktü. Apelin-KBH ve Ala-apelin-KBH gruplarındaki OAB değerleri çalışma boyunca benzerdi (Tablo 1).

Tablo 1. Deney gruplarında ortalama arterial kan basıncı (mmHg) değerleri

	0. hafta (bazal)	4. hafta	8. hafta
Taklit cerrahi grubu	100 ± 7	129 ± 4	138 ± 3
SF-KBH grubu	93 ± 4	128 ± 8	$135 \pm 4^*$
Apelin-KBH grubu	83 ± 2	133 ± 4	$108 \pm 2^{*+}$
Ala-apelin-KBH grubu	81 ± 3	128 ± 4	$102 \pm 2^{*+}$

Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak verilmiştir. * $p<0.05$ Taklit cerrahi; + $p<0.05$ SF grubuna göre

6.2. Böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesi çalışmaları

Sekiz haftalık tedavi süresi sonunda idrar hacimleri taklit cerrahi grubuna kıyasla her üç KBH grubunda da anlamlı olarak yükselmekle birlikte idrar hacimleri KBH grupları arasında benzerdi (Şekil 1A).

Taklit cerrahi grubunda SF-KBH grubuna kıyasla BUN ve kreatinin değerlerinin yükselip kreatinin klirensinin azaldı. Bu durum modelimizin başarılı olduğunu göstermektedir (Şekil 1B-D).

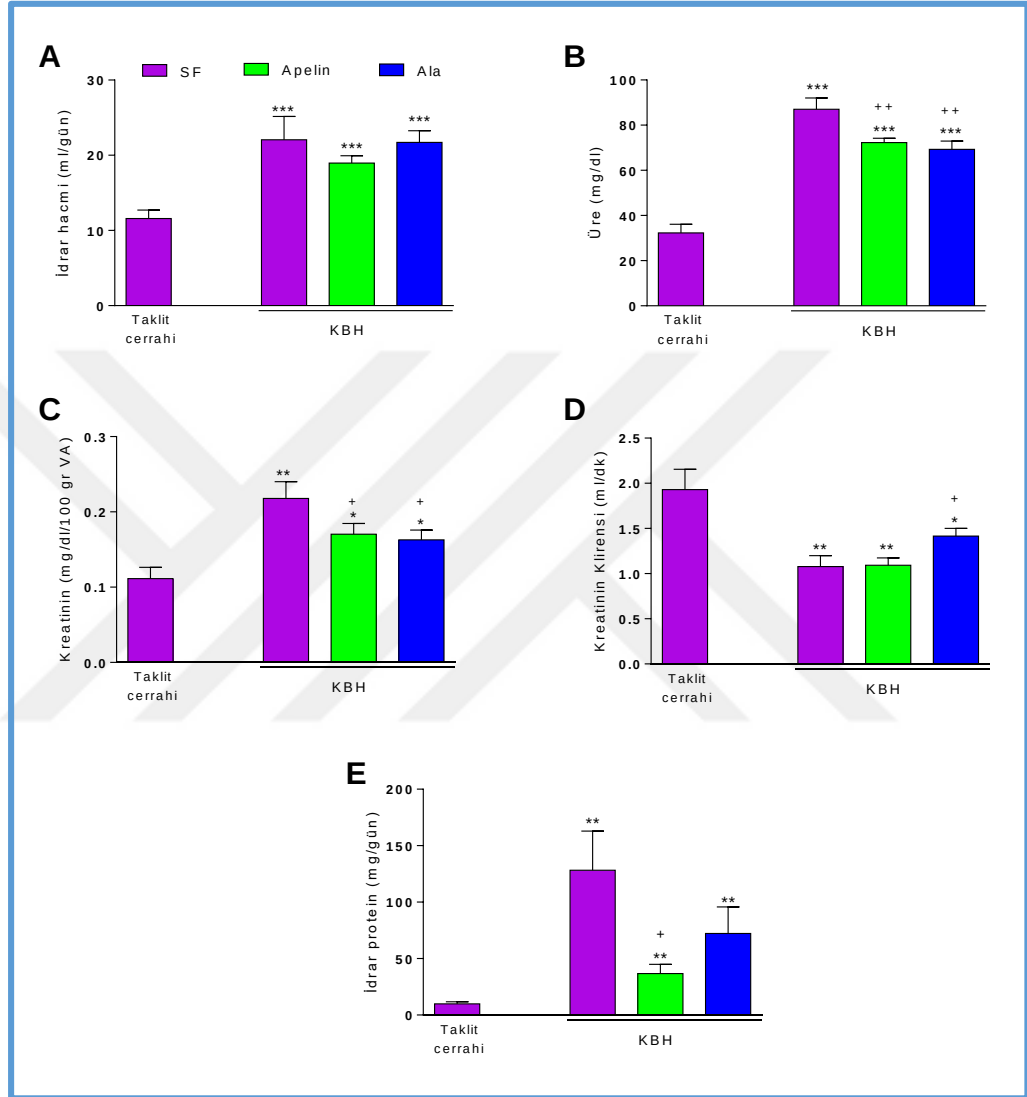
Sekiz haftalık takip sonucunda, kan üre azotu (BUN) taklit cerrahi grubuna (32.3 ± 3.8 mg/dl) kıyasla KBH gruplarında (tüm gruplar için $p < 0.01$) olarak arttı (Şekil 1B). Kan üre azotu değerleri SF-KBH grubuna göre (87.0 ± 5.0 mg/dl) hem apelin-KBH (72.3 ± 5.5 mg/dl) hem de ala-apelin-KBH (69.3 ± 3.7 mg/dl) gruplarında anlamlı olarak düşüktü (her iki grup için $p < 0.01$) (Şekil 1B).

Serum kreatinin değerleri taklit cerrahi grubuna (0.11 ± 0.02 mg/dl/100 gr VA) göre SF-KBH (0.22 ± 0.07 mg/dl/100 gr VA), apelin-KBH (0.17 ± 0.14 mg/dl/100 gr VA) ve ala-apelin-KBH (0.16 ± 0.13 mg/dl/100 gr VA) gruplarında anlamlı olarak yükseldi (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$) (Şekil 1C). Serum kreatinin değerleri SF-KBH grubuna kıyasla (0.22 ± 0.07 mg/dl/100 gr VA) ve apelin-KBH (0.17 ± 0.14 mg/dl/100 gr VA) ve ala-apelin-KBH (0.16 ± 0.13 mg/dl/100 gr VA) gruplarında anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$) (Şekil 1C).

Kreatinin klirensindeki değişiklikler incelendiğinde; taklit cerrahi grubuna kıyasla (1.93 ± 0.22 ml/dk) SF-KBH (1.07 ± 0.12 ml/dk), apelin (1.09 ± 0.08 ml/dk) ve ala-apelin-KBH (1.41 ± 0.09 ml/dk) gruplarında anlamlı bozulma izlendi (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.01$ ve $p < 0.05$). Apelin-KBH grubunun kreatinin klirensi değeri (1.09 ± 0.08 ml/dk) SF-KBH grubu ile benzerdi, ala-apelin tedavisi alan grupta ise (1.41 ± 0.09 ml/dk) SF-KBH grubuna (1.07 ± 0.12 ml/dk) kıyasla anlamlı korunma izlendi ($p < 0.05$) (Şekil 1D).

Toplam proteinüri miktarı incelendiğinde ise SF-KBH (115.6 ± 33.1 mg/gün), apelin-KBH (36.7 ± 8.1 mg/gün) ve ala-apelin-KBH (72.2 ± 23.4 mg/gün) grubunda taklit

cerrahi grubuna (9.9 ± 1.8 mg/gün) göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0.01$). Tedavi uygulanan gruplarda ise apelin-KBH grubundaki SF-KBH grubuna göre anlamlı azalma izlendi ($p<0.05$, Şekil 1E).



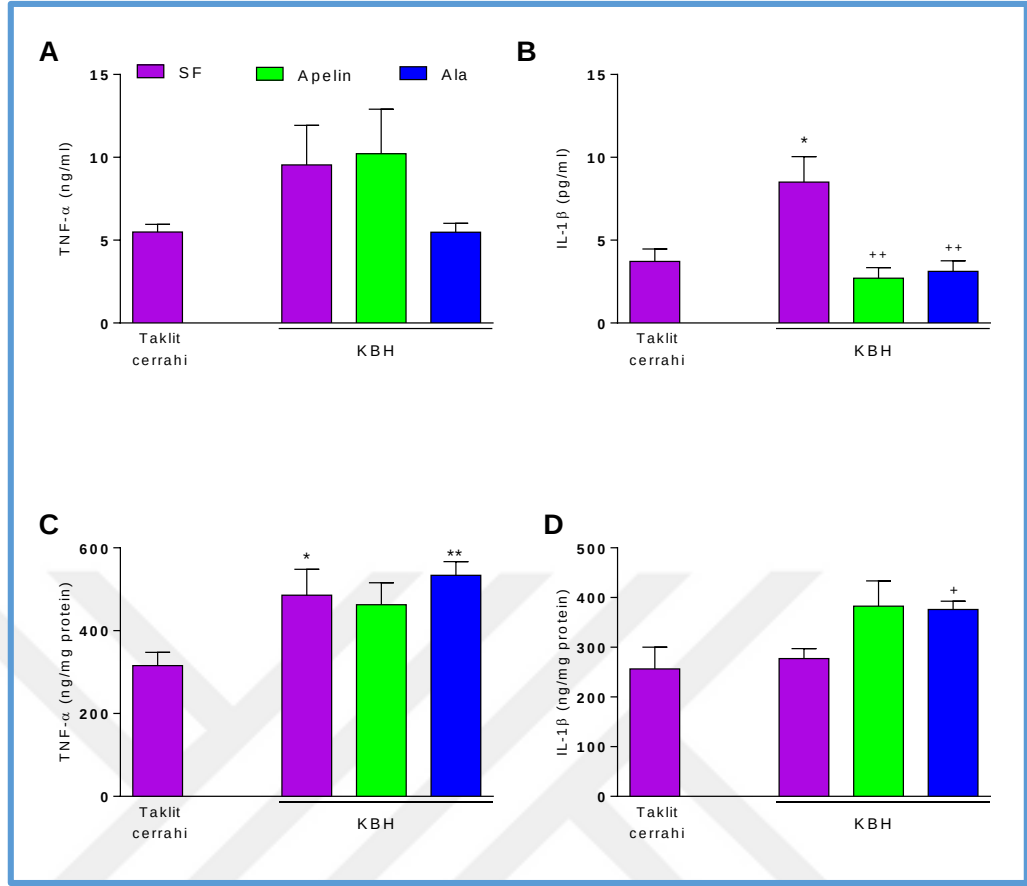
Şekil 1. Deney gruplarında böbrek fonksiyon değerlendirmeleri. A) günlük idrar hacmi, B) üre, C) kreatinin, D) kreatinin klirensi ve E) idrarda protein atılım değerleri. * $p<0.05$, ** $p<0.01$ taklit cerrahi grubuna, + $p<0.05$ SF grubuna göre, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ taklit cerrahi grubuna göre.

6.3. Böbrek dokusunda ve serumda proinflamatuar sitokin değerlendirmeleri

Proinflamatuar parametrelerden serum TNF- α tüm gruplar arasında benzerdi (Şekil 2A). IL-1 β seviyeleri ise SF-KBH grubunda (8.5 ± 1.5) taklit cerrahi (3.7 ± 0.8) grubuna kıyasla anlamlı olarak yükseldi ($p<0.05$). Apelin-KBH (2.7 ± 0.6) ve ala-apelin-KBH (3.1 ± 1.9) tedavi gruplarında SF-KBH grubuna kıyasla anlamlı azalma izlendi (her iki grup için $p<0.01$) (Şekil 2B). Apelin-KBH ve Ala-apelin-KBH gruplarının IL-1 β düzeyleri taklit cerrahi grubu ile benzer bulundu (Şekil 2B).

Böbrek dokusu lizatında ELISA yöntemi ile bakılan proinflamatuar sitokinlerden TNF- α düzeyleri taklit cerrahi grubuna kıyasla SF-KBH ($p<0.05$) ve ala-apelin-KBH ($p<0.01$) gruplarında yükselirken, apelin-KBH grubunda anlamlı yükselme izlenmedi (Şekil 2C). Apelin ve ala-apelin tedavileri TNF- α düzeylerinde SF-KBH grubuna kıyasla azalma izlenmedi.

Doku lizatlarında IL-1 β düzeyleri taklit cerrahi grubu ile SF-KBH, apelin-KBH ve ala-apelin-KBH grupları arasında benzer iken ala-apelin tedavisi alan grupta SF-KBH grubuna kıyasla anlamlı yükselme izlendi ($p<0.05$) (Şekil 2D).



Şekil 2. Böbrek dokusunda kollajen ve proinflatuar sitokin ölçüm sonuçları. A) Serum TNF- α , B) Serum IL-1 β , C) Böbrek dokusu TNF- α , D) Böbrek dokusu IL-1 β . *p<0.05, ** p<0.01 taklit cerrahi grubuna göre, + p<0.05 SF grubuna göre.

6.4 Böbrek ve kalp dokularında MPO, MDA ve GSH değerlendirmeleri

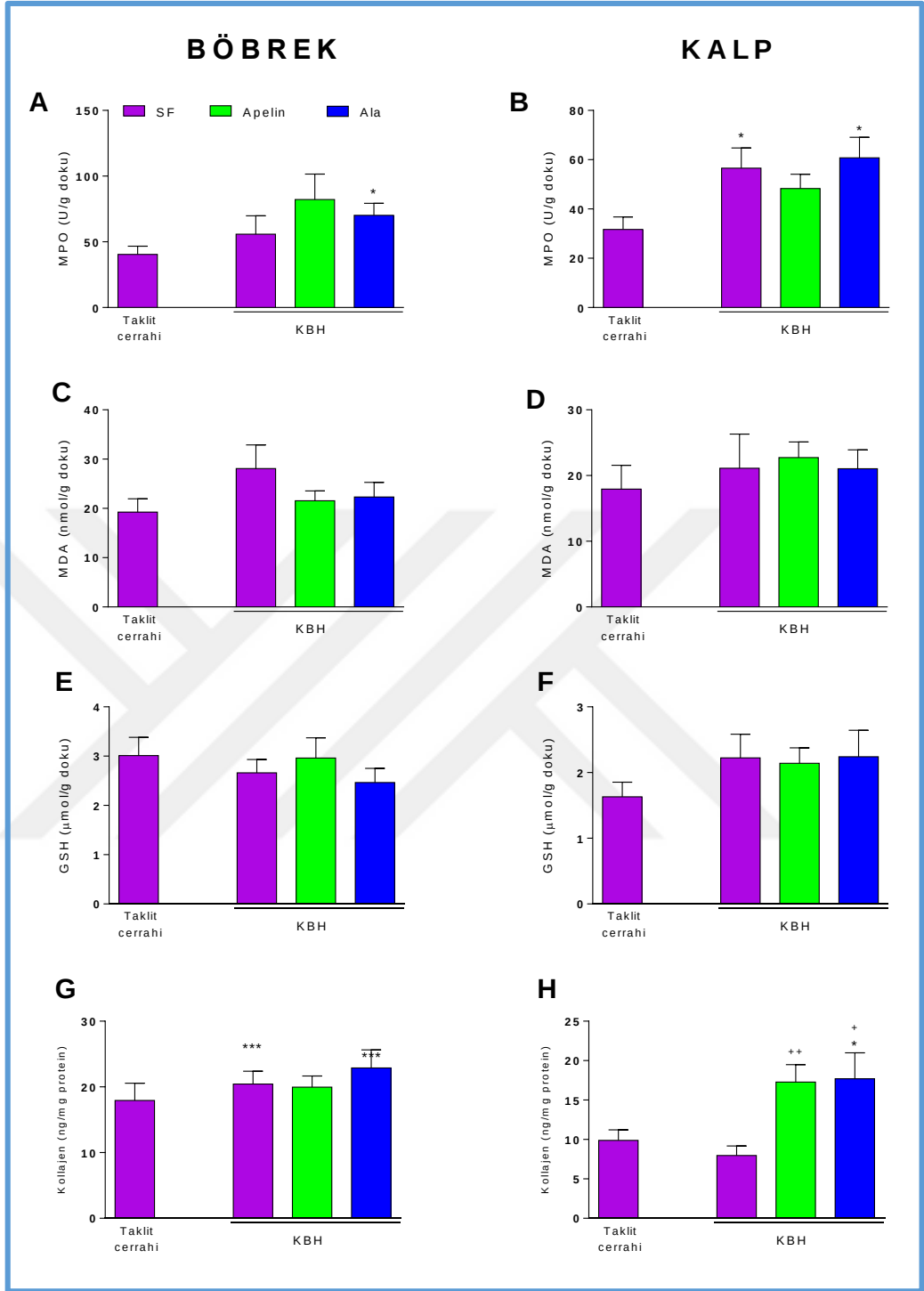
Böbrek dokusu lizatlarında nötrofil-makrofaj infiltrasyon belirteci olarak incelediğimiz MPO düzeyleri ala-apelin-KBH grubunda taklit cerrahi grubuna kıyasla anlamlı olarak yükselme gösterdi (p<0.05). MPO değerleri diğer gruplar arasında benzerdi (Şekil 3A).

Kalp dokusu lizatlarında incelediğimiz MPO düzeyleri taklit cerrahi grubuna (31.7 $\pm$ 5.1 U/gr doku) kıyasla, SF-KBH (56.5 $\pm$ 8.2 U/gr doku) ve ala-apelin-KBH (60.7 $\pm$ 8.3 U/gr doku) grubunda anlamlı olarak yükselme gösterdi (her iki grup için p<0.05). Apelin-KBH grubunun MPO değerleri (48.3 $\pm$ 5.8 U/gr doku) ise diğer grupların MPO değerleri ile benzerdi (Şekil 3B).

Oksidatif stress belirteci olarak membran lipid oksidasyonunu MDA ölçümü ile belirledik. Böbrek dokusunda MDA düzeyleri gruplar arasında benzerdi (Şekil 3C). Kalp dokusu MDA düzeyleri de tüm gruplar ile arasında benzer bulundu (Şekil 3D).

Anti-oksidan belirteç olarak baktığımız böbrek dokusu GSH düzeyleri gruplar arasında benzerdi (Şekil 3E). Benzer şekilde kalp dokusu GSH düzeyleri de tüm gruplar arasında benzerdi (Şekil 3F).

Böbrek dokusu lizatında ELISA yöntemi ile bakılan kollajen-3 düzeyi tüm gruplar arasında benzerdi (Şekil 3G). Kalp dokusu kollajen-3 miktarı incelendiğinde taklit cerrahi grubuna (9.9 ± 1.3 ng/mg protein) göre SF-KBH grubunda (8.0 ± 1.2 ng/mg protein) anlamlı bir değişim izlenmezken apelin-KBH (17.3 ± 2.2 ng/mg protein) ve ala-apelin-KBH (17.7 ± 3.3 ng/mg protein) gruplarında anlamlı artış (her iki grup için $p<0.05$) gösterdi. Bu artışlar SF-KBH grubu ile kıyaslandığında ala-apelin-KBH grubunda anlamlı idi ($p<0.05$) (Şekil 3H).



Şekil 3. Böbrek ve kalp dokularında A-B) Myeloperoksidaz (MPO), C-D) Malondialdehit (MDA), E-F) Glutasyon (GSH) ve G-H) Kollajen değerleri. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ taklit cerrahi grubuna, + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$, SF-KBH, grubuna göre.

6.5. Böbrek dokusunda PAS boyanmasına ait bulgular

PAS boyası ile yapılan glomerüller incelemelerde mesangial matriks artışı değerlendirildi. Taklit cerrahi grubunda normal yapıda glomerüller izlendi (Şekil 5). SF-KBH grubunda mesangial matriksin belirgin olarak arttığı görüldü, bazı glomerüllerde skleroz izlendi (Şekil 6). Apelin ve Ala-Apelin gruplarında glomerüller skleroz ve mesangial matriks artışında gerileme görüldü (Şekil 7-8).

PAS boyaması ile yapılan mesangial matriks artışı skorlamasında; taklit cerrahi grubuna (159 ± 37) kıyasla SF-KBH grubunda (265 ± 20) belirgin artış olduğu ($p < 0.05$) görüldü. Mezangial matriks artışı hem apelin-KBH (116 ± 16) hem de ala-apelin-KBH (143 ± 23) gruplarında SF-KBH grubundan kıyasla anlamlı olarak ($p < 0.01$ ve $p < 0.001$) azalmış ve taklit cerrahi grubuna benzer kalmıştı (Şekil 4A).

6.6. Böbrek dokusunda Gomori One Step Trikrom boyanmasına ait bulgular

Glomerül ve tubulointerstisyel alanda kolajen artışı Gomori One Step Trikrom boyası ile değerlendirildi. Işık mikroskobu incelemelerinde taklit cerrahi grubunda hem glomerüllerde hem tubulointerstisyel alanda kolajen artışı izlenmedi (Resim 9). SF-KBH grubunda taklit cerrahi grubuna kıyasla glomerüllerde skleroz alanları ve tubulointerstisyel fibrosis belirgin olarak görüldü (Şekil 10). Apelin ve Ala-Apelin gruplarında glomerüllerde ve tubulointerstisyel alanda kolajen artışının SF-KBH grubu ile karşılaştırıldığında azaldığı gözlemlendi (Şekil 11-12).

Trikrom boyamaları ile yapılan fibrosis skorlamalarında mesangial proliferasyonun bir sonraki basamağı olarak değerlendirilebilecek glomerüller sklerozun taklit cerrahi grubuna kıyasla; SF-KBH ($p < 0.05$) ve apelin-KBH gruplarında ($p < 0.01$) anlamlı olarak arttığı görüldü. Ala-apelin-KBH grubunda ise skorlama SF-KBH grubuna göre anlamlı bir farklılık olmamakla birlikte azalmıştı ve taklit cerrahi grubu ile istatistiksel olarak benzerdi (Şekil 4B).

İnterstisyel fibrozis skorlamasının ise taklit cerrahi grubuna SF-KBH ($p<0.001$), apelin-KBH ($p<0.001$) ve ala-apelin-KBH ($p<0.01$) gruplarında anlamlı olarak arttığı görüldü. İnterstisyel fibrozis skoru SF-KBH, apelin-KBH ve ala-apelin-KBH grupları arasında ise benzerdi (Şekil 4C).

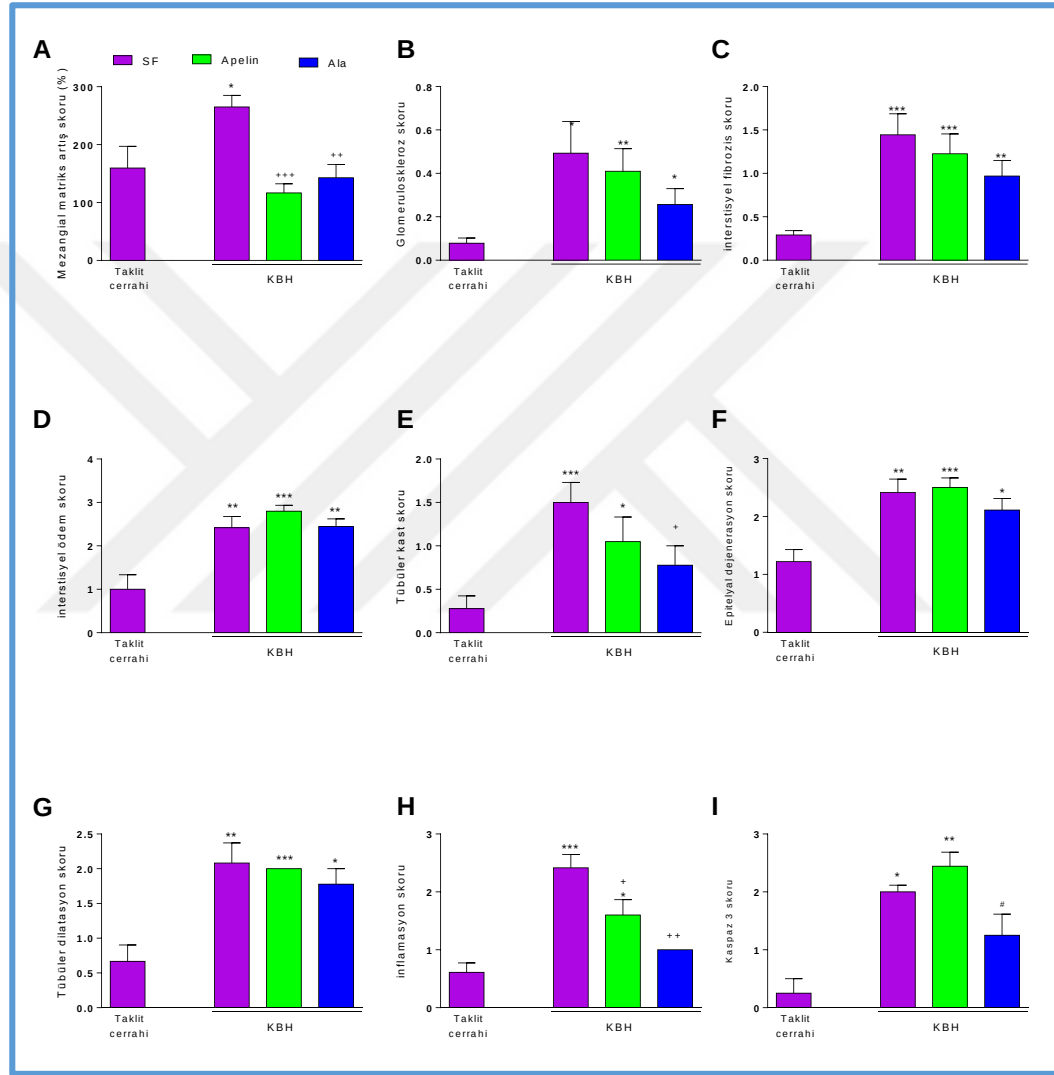
6.7. Böbrek dokusunda Hematoksilen ve Eozin boyanmasına ait bulgular

Tüm sıçan böbrek dokularında korteks ve tübüler alanlar ışık mikroskopunda incelendi. Hematoksilen-Eosin boyası ile interstisyel ödem, tübüler kast oluşumu, tübüler epitel dejenerasyonu, dilatasyon, konjesyon ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu incelenerek semikantitatif değerlendirme yapıldı.

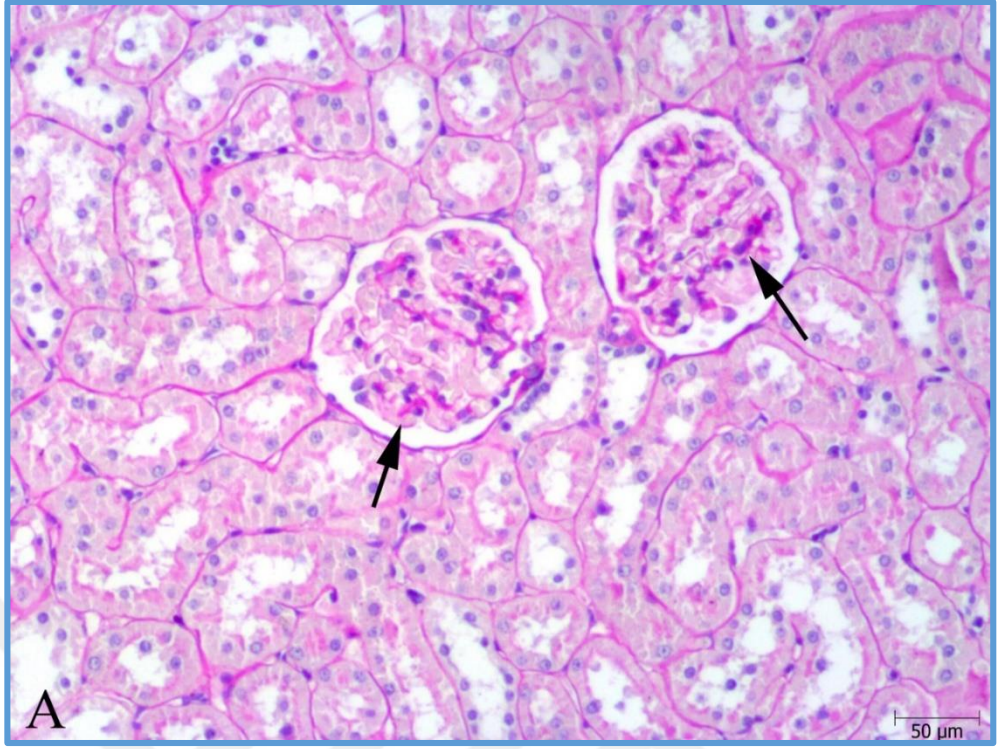
Işık mikroskobu incelemelerinde taklit cerrahi grubunda düzenli glomerüller ve tübüler yapı izlendi (Şekil 13). SF-KBH grubunda glomerüllerde Bowman kapsülünde yapışma, kapiller lümende daralma ve mezangial matriks artışı şeklinde glomerüller hasar, tübüler alanda ise yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu, interstisyel ödem, tübüler kast oluşumu, tübüler dilatasyon ve tübüler epitel dökülmesi görüldü (Şekil 14). Apelin ve Ala-Apelin gruplarında SF-KBH grubuna kıyasla her iki grupta glomerüller hasarda gerileme, tübüler alanda ise özellikle inflamatuvar hücre infiltrasyonunda belirgin azalma izlendi. Apelin grubunda, interstisyel ödem, tübüler dilatasyon, kast oluşumu, tübüler epitel dejenerasyonu gibi diğer parametrelerde ise SF-KBH grubuna benzer ya da hasarda minimal azalma, Ala-Apelin grubunda ise azalmanın daha belirgin olduğu görüldü (Şekil 15-16).

Hematoksilen-Eosin boyasında, tüm deney gruplarında yapılan tübüler hasar skorlamasında; taklit cerrahi grubuna kıyasla SF-KBH grubunda interstisyel ödem, tübüler kast, tübüler epitelyal dejenerasyon, tübüler dilatasyon ve inflamasyon skorları anlamlı olarak bozulduğu izlendi ($p<0.01 - 0.001$) (Şekil 4D-4H). Tüm bu skorlamalar apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarında da taklit cerrahi grubundan anlamlı olarak yüksekti ve SF-KBH grubu ile kıyaslandığında hem apelin-KBH ($p<0.05$) hem de ala-apelin-KBH ($p<0.01$) tedavilerinin inflamasyon skorunu anlamlı olarak baskıladığı görüldü (Şekil 4H).

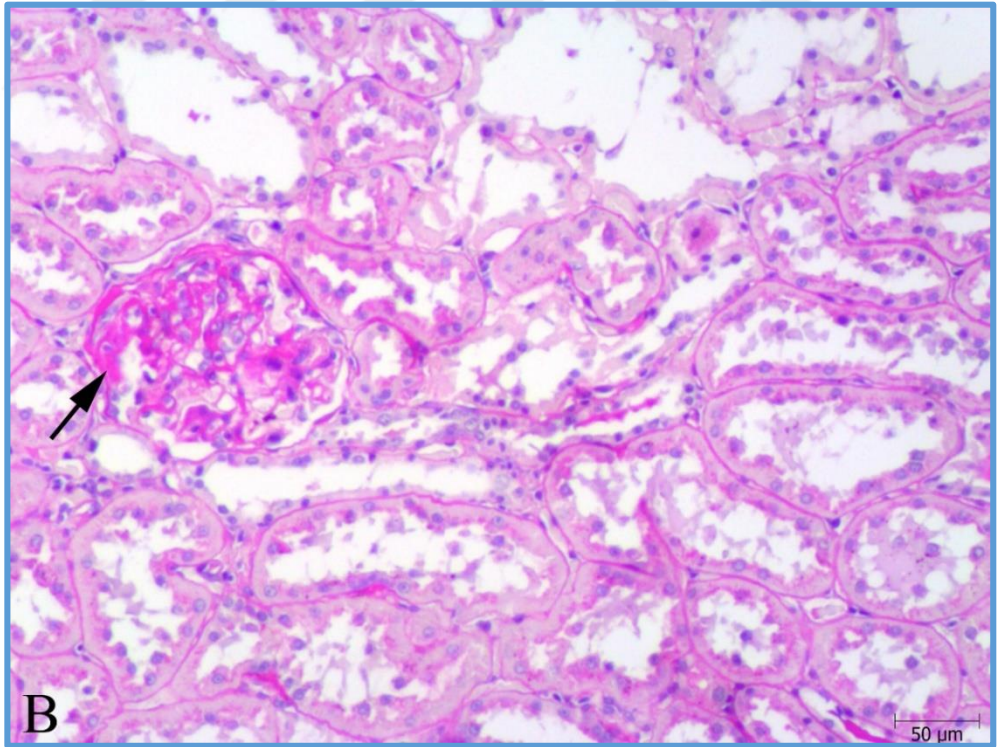
Apoptozis belirteci olarak böbrek dokusunda kaspaz-3 ekspresyonu incelendiğinde taklit cerrahi grubuna göre SF-KBH ($p<0.05$) ve apelin-KBH gruplarında ($p<0.01$) apoptozis skoru belirgin olarak yükseldi. Ala-apelin-KBH grubunda ise apoptozis skoru taklit cerrahi ve SF-KBH grupları ile benzer iken apelin-KBH grubundan ($p<0.05$) anlamlı olarak düşüktü (Şekil 4I).



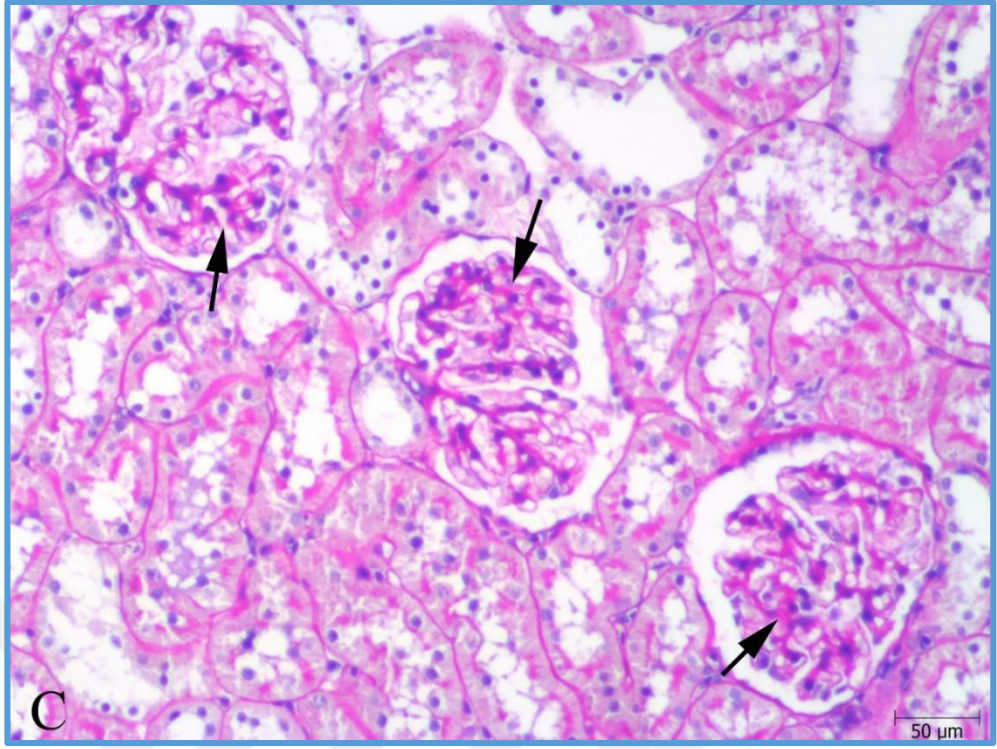
Şekil 4. Böbrek dokusunda A) Mezangial matriks artış skoru, B) Glomeruloskleroz skoru, C) İnterstisyel fibrozis skoru, D) İnterstisyel ödem skoru, E) Tübüler kast skoru, F) Epitelyal dejenerasyon skoru, G) Tübüler dilatasyon skoru, H) İnflamasyon skoru, I) Kaspaz 3 skoru değerlendirmeleri. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.01$ taklit cerrahi, + $p<0.05$, ++ $p<0.01$ SF-KBH, # $p<0.05$ apelin grubuna göre.



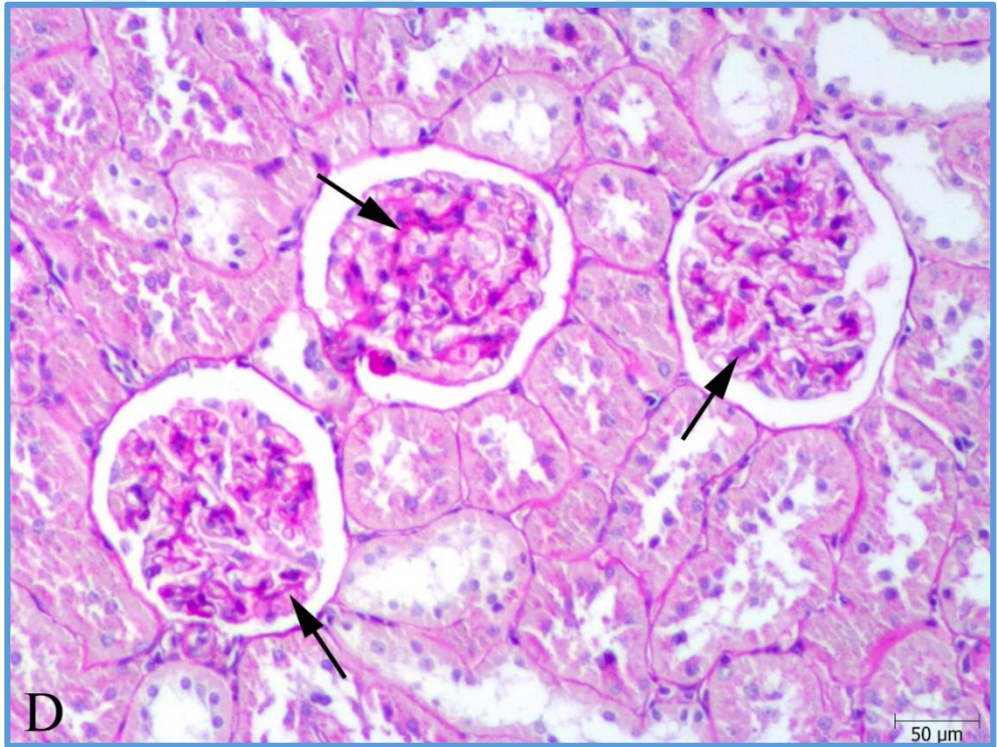
Şekil 5. Taklit cerrahi grubunda normal glomerüler mezangiyum (ok). PAS boyası.



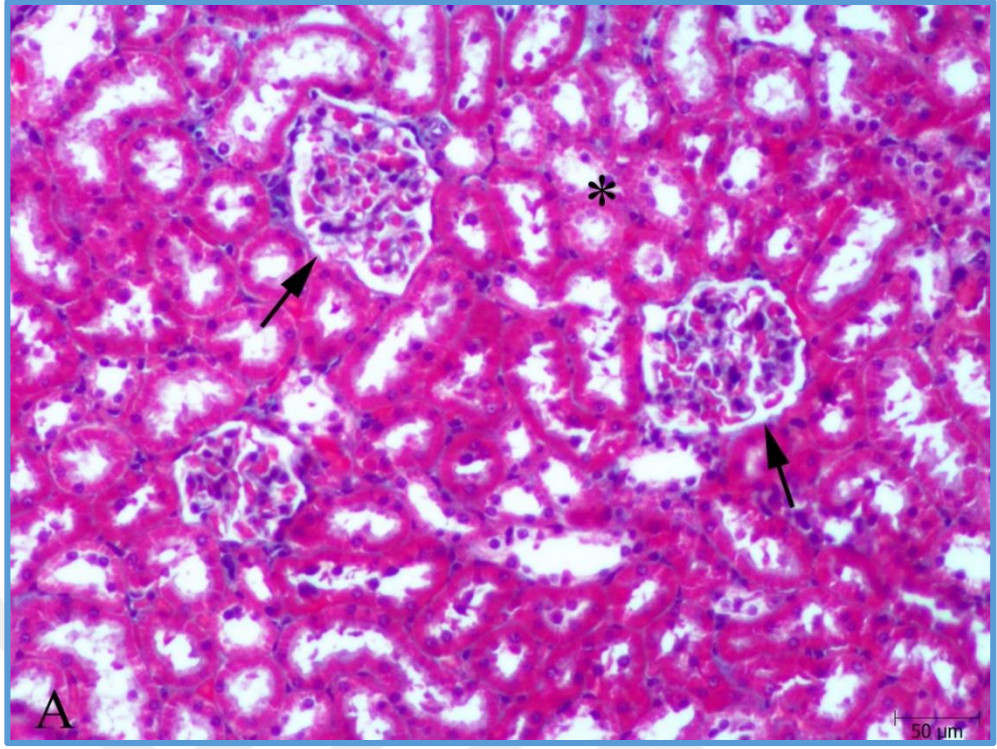
Şekil 6. SF-KBH grubunda glomerülde mezangial matriks genişlemesi (ok). PAS boyası.



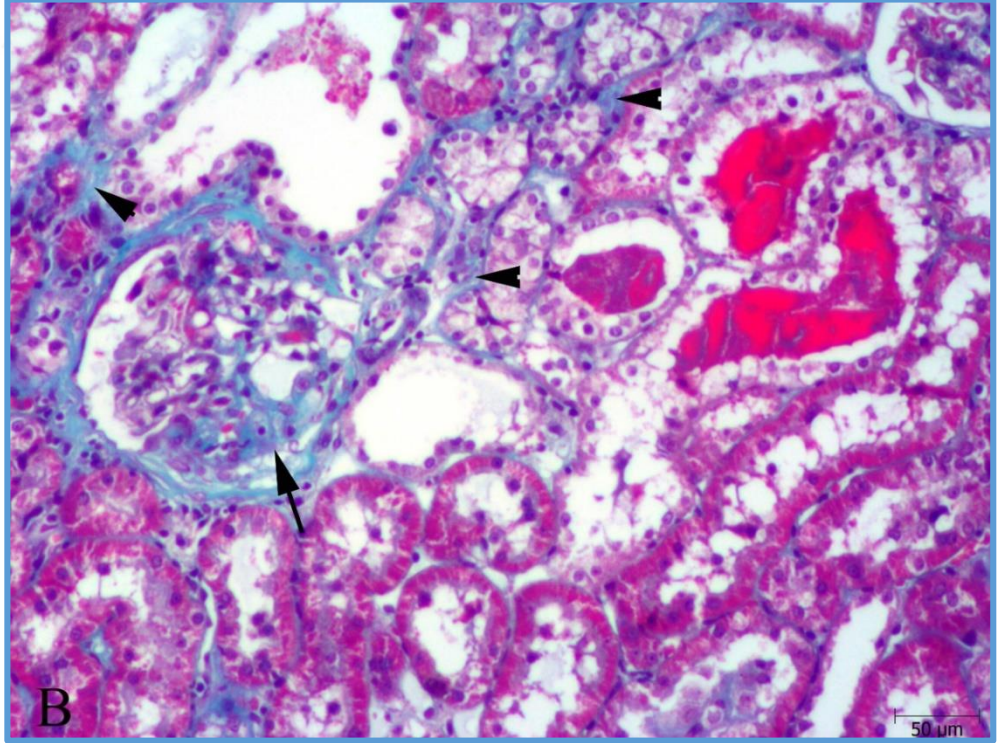
Şekil 7. Apelin grubunda mezangial matriks (ok). PAS boyası.



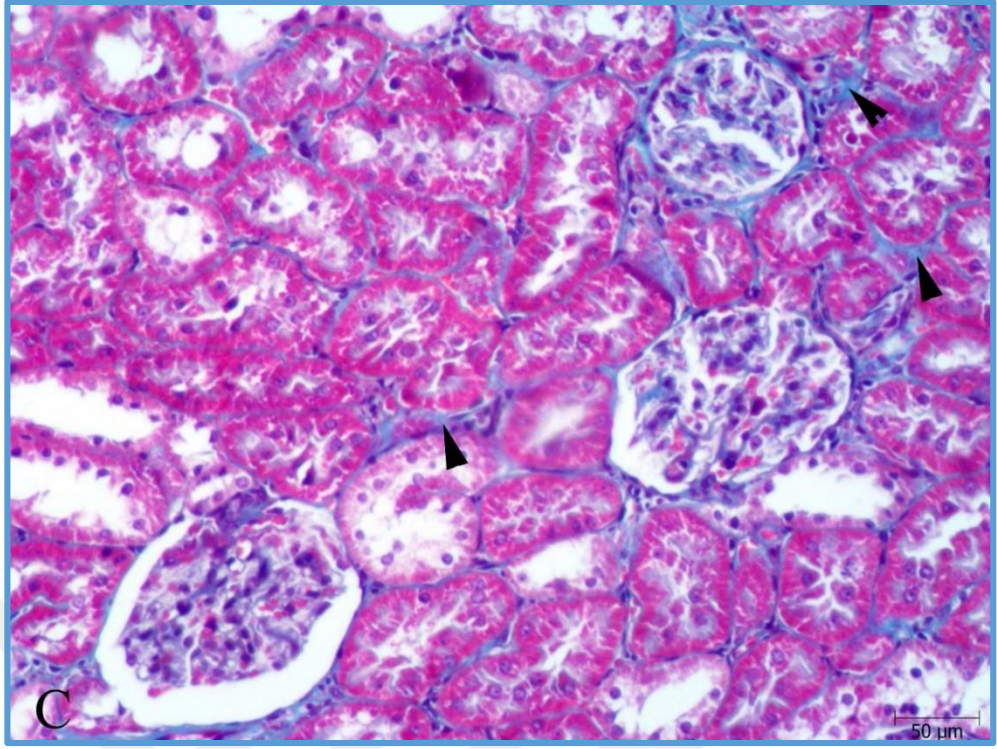
Şekil 8. Ala-Apelin grubunda mezangial matriks (ok). PAS boyası.



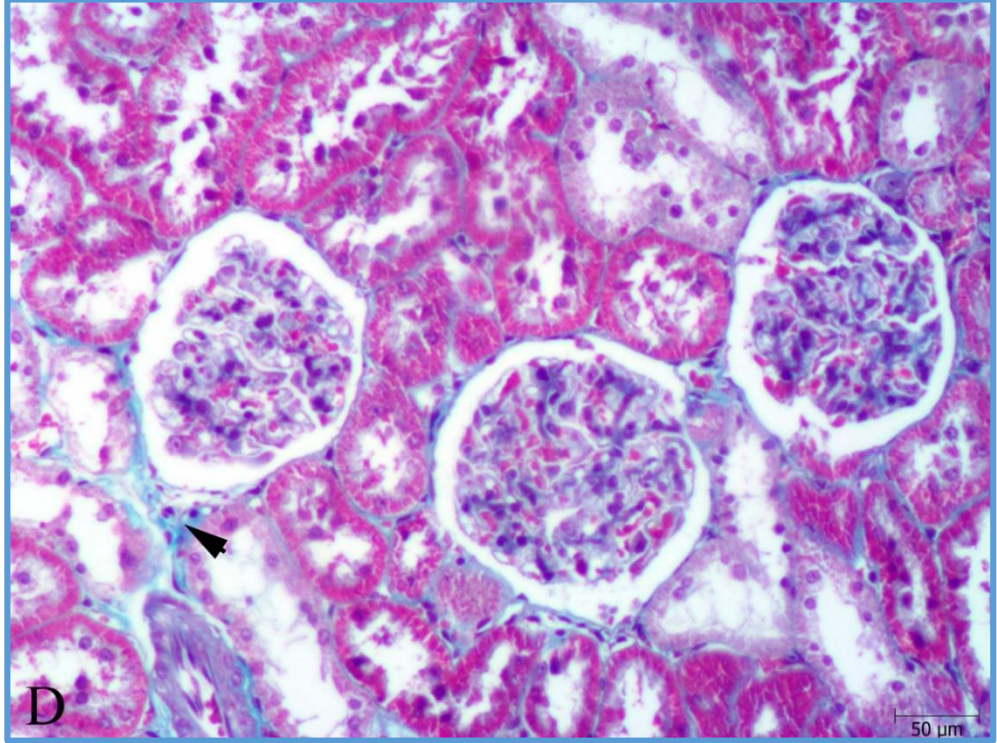
Şekil 9. Taklit cerrahi grubunda normal glomerül (ok) ve tubulointerstisyel yapı (*). Gomori One Step Trikrom boyası



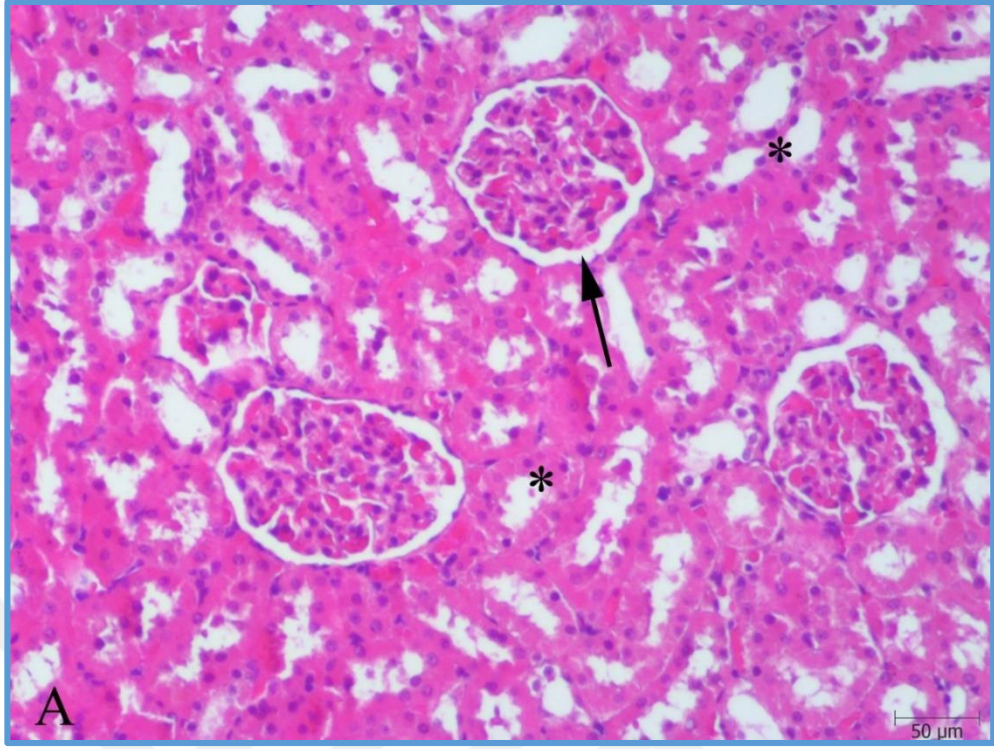
Şekil 10. SF_KBH grubunda glomerüler skleroz alanı (ok) ve tubulointerstisyel alanda kolajen artışı (ok başı). Gomori One Step Trikrom boyası



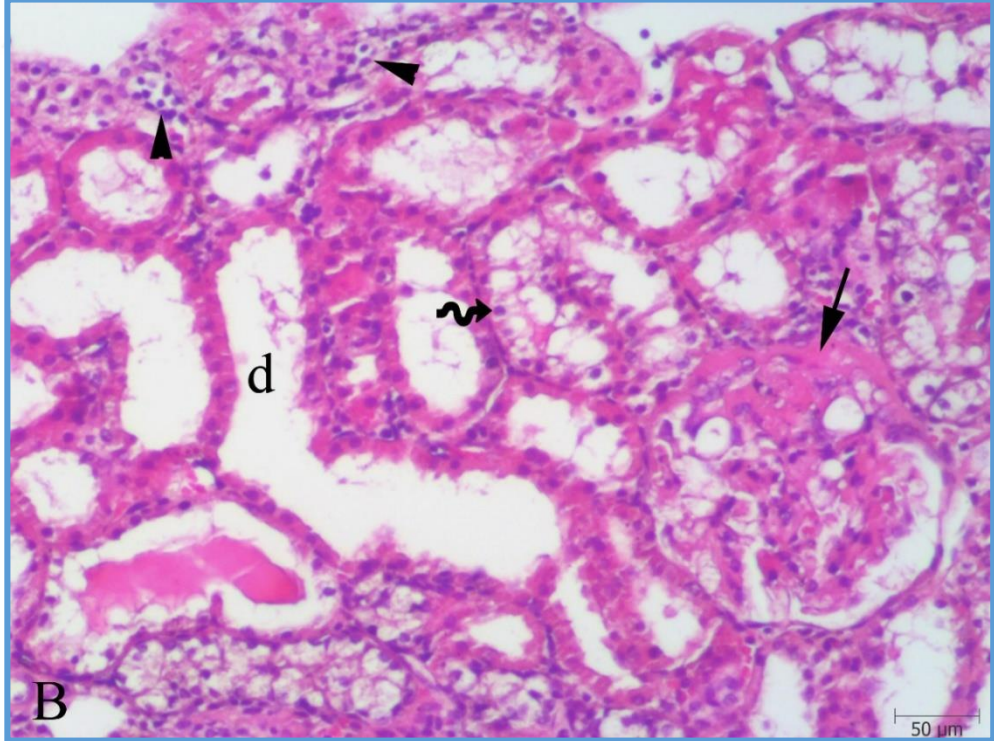
Şekil 11. Apelin grubunda tubulointerstisyel alanda kolajen artışı (*). Gomori One Step Trikrom boyası



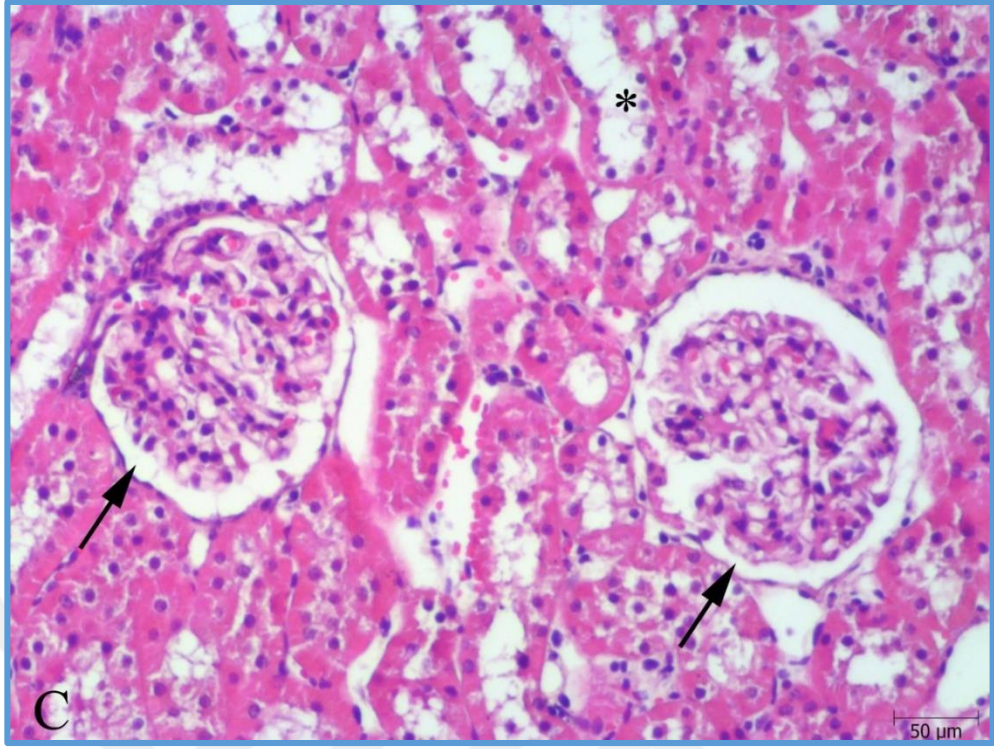
Şekil 12. Ala-Apelin grubunda tubulointerstisyel alanda hafif kolajen artışı (*). Gomori One Step Trikrom boyası



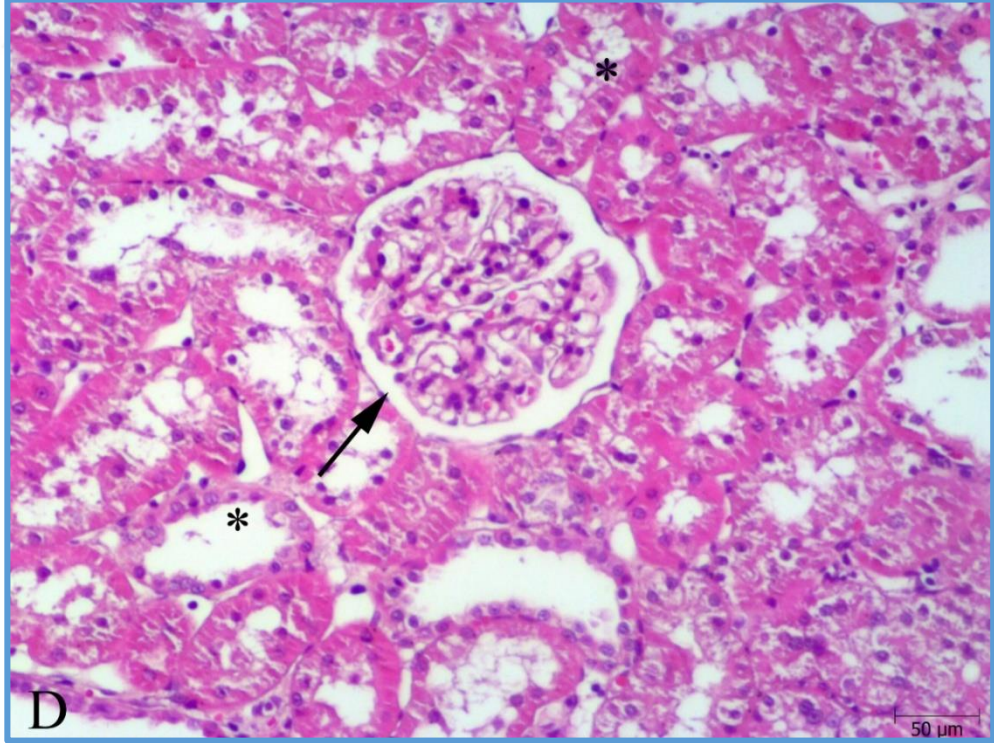
Şekil 13. Taklit cerrahi grubunda normal glomerüller (ok) ve düzenli tübüler yapı (*). H&E boyası.



Şekil 14. SF-KBH grubunda glomerüller hasar (ok), tübüler dilatasyon (d), inflamatuvar hücre infiltrasyonu (ok başı), tübüler epitel dejenerasyonu (dalgalı ok). H&E boyası.



Şekil 15. Apelin grubunda glomerüller (ok) ve tübüler (*) hasarda gerileme. H&E boyası.

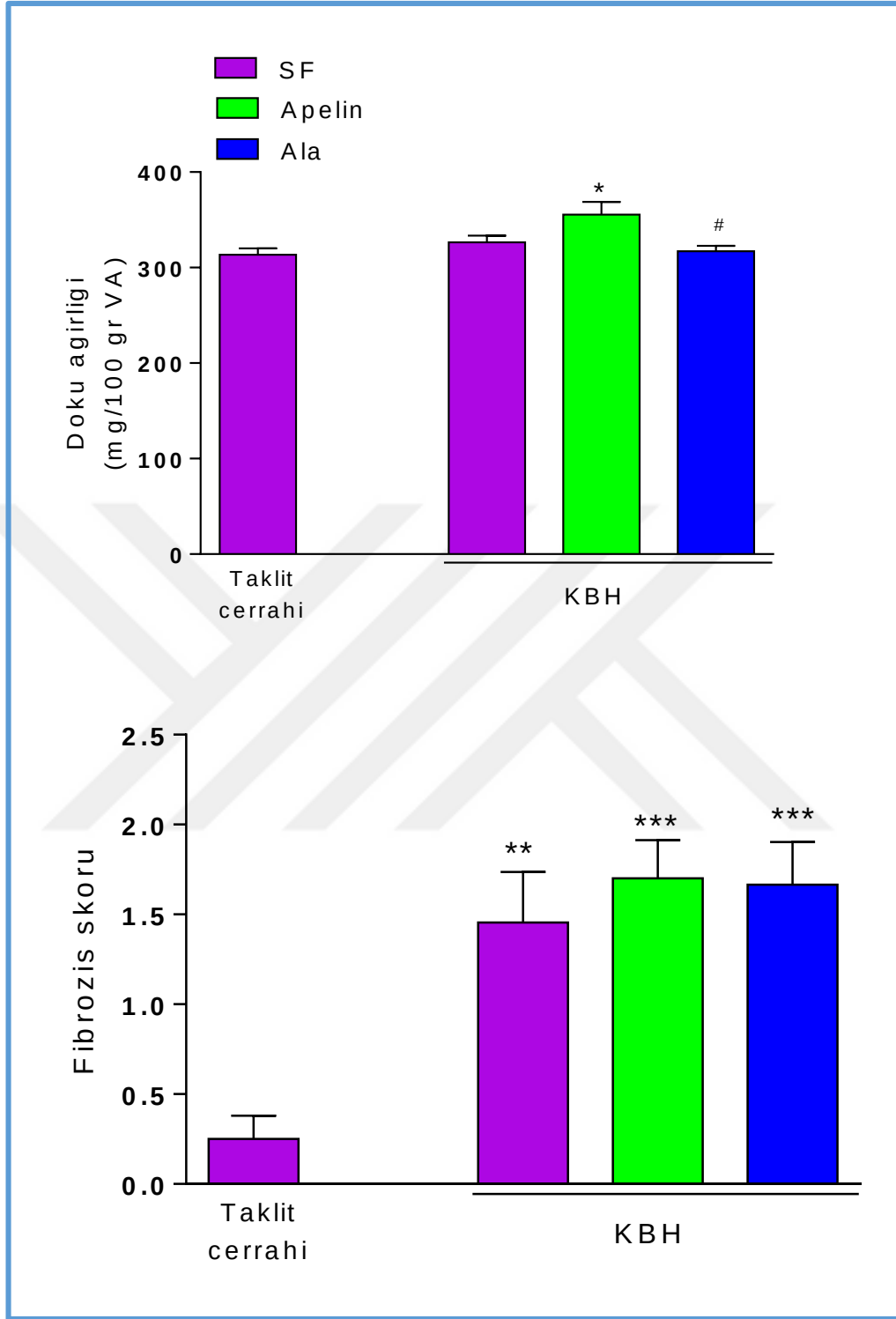


Şekil 16. Ala-Apelin grubunda glomerüller (ok) ve tübüler (*) hasarda gerileme. H&E boyası.

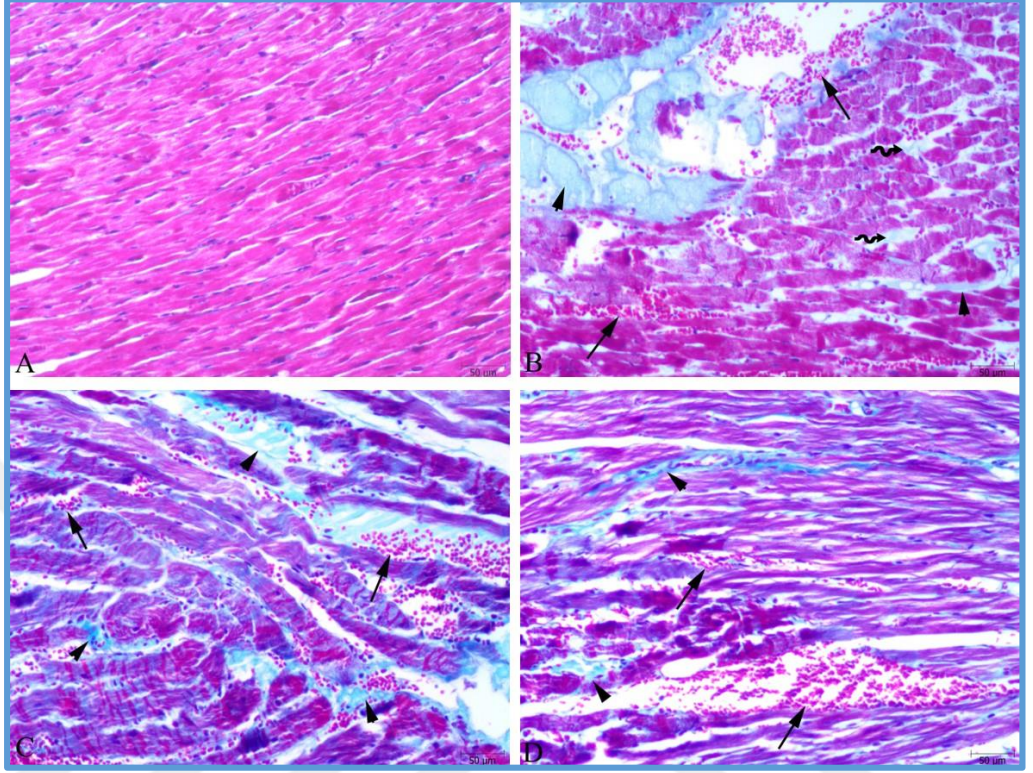
6.9. Kalp ağırlığı ve kalp dokusunda Gomori One Step Trikrom boyanmasına ait bulgular

Kalp ağırlığı; taklit cerrahi grubuna (313.5 ± 6.5 mg/100 gr VA) göre SF-KBH grubunda (326.6 ± 6.8 mg/100 gr VA) anlamlı bir değişim göstermedi. Apelin-KBH grubunun kalp ağırlığı ise (355.4 ± 13.3 mg/100 gr VA) taklit cerrahi grubuna kıyasla anlamlı olarak yükseldi ($p<0.05$), SF-KBH grubu ile benzerdi. Ala-apelin-KBH grubunun kalp ağırlığı (317.2 ± 5.6 mg/100 gr VA) ise taklit cerrahi ve SF-KBH grubu ile benzer olmakla birlikte apelin-KBH grubundan anlamlı olarak düşüktü ($p<0.01$) (Şekil 17A).

Kalp dokularında yapılan Gomori One Step Trikrom ile boyası ile fibrozis ve histomorfolojik değişiklikler değerlendirildi. Taklit cerrahi grubunda normal yapıda kas lifleri izlenirken, (Şekil 18A) SF-KBH grubu kalp dokularında belirgin kolajen artışı (fibrozis), yoğun vasküler konjesyon ve kas lifleri arasında ayrılma görüldü (Şekil 18B). Apelin ve Ala-Apelin gruplarında yine belirgin fibrozis ve konjesyon izlendi (Şekil 18C, 18D). Kalp dokusu fibrozis skoru incelendiğinde taklit cerrahi grubuna göre SF-KBH ($p<0.01$) ve apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarında ($p<0.001$) fibrosis skoru belirgin olarak yükseldi. SF-KBH, apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarının fibrosis skorları benzerdi (Şekil 17B).



Şekil 17. Kalp dokusu A) Sol ventrikül ağırlığı ve B) İnterstisyel fibrosis skorlamalarının değerlendirilmesi. * p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001 taklit cerrahi, # p<0.05 apelin grubuna göre.

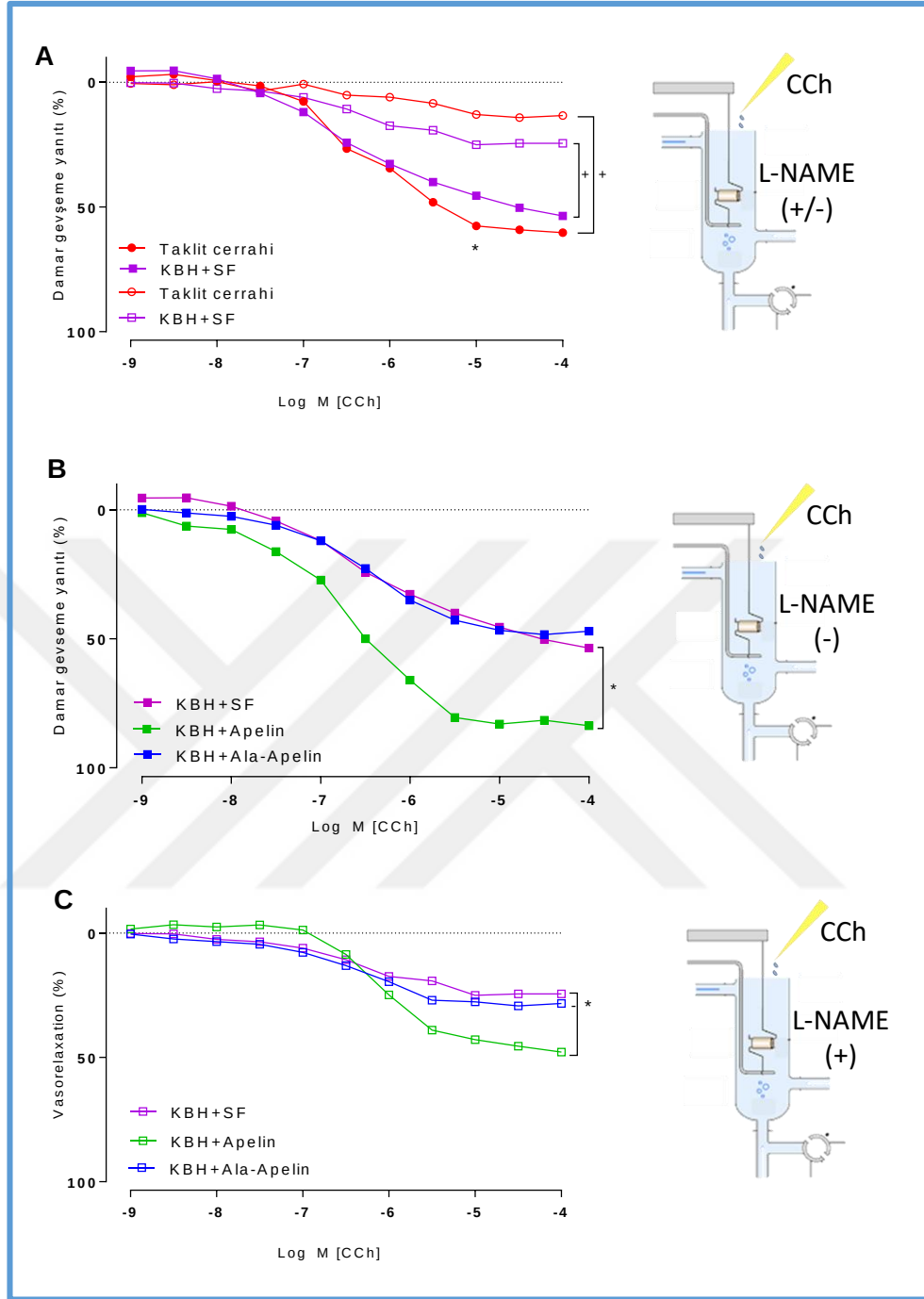


Şekil 18. Kalp dokusu A) Taklit cerrahi grubunda normal yapıda kas lifleri, B) SF-KBH grubunda belirgin kolajen doku artışı (ok başı), konjesyon (ok), ödem ve kas liflerinde ayrılma (dalgalı ok). C) Apelin ve D) Ala-Apelin gruplarında kolajen doku artışı (ok başı) ve konjesyon (ok).

6.9. Organ banyosunda torasik aort gevşeme yanıtlarının değerlendirilmesi

Torasik aortanın endotele bağımlı gevşemelerin karbakole alınan yanıtı göre incelenmesinde SF-KBH grubunda taklit cerrahi grubuna kıyasla anlamlı olarak bozulduğu izlendi ($p<0.05$) (Şekil 19A). Nitrik oksit sentaz enzim inhibitörü olan L-NAME ile inkübasyon sonrası karbakola olan gevşeme yanıtı hem taklit cerrahi hem de SF-KBH grubunda anlamlı olarak bozuldu (Şekil 19A).

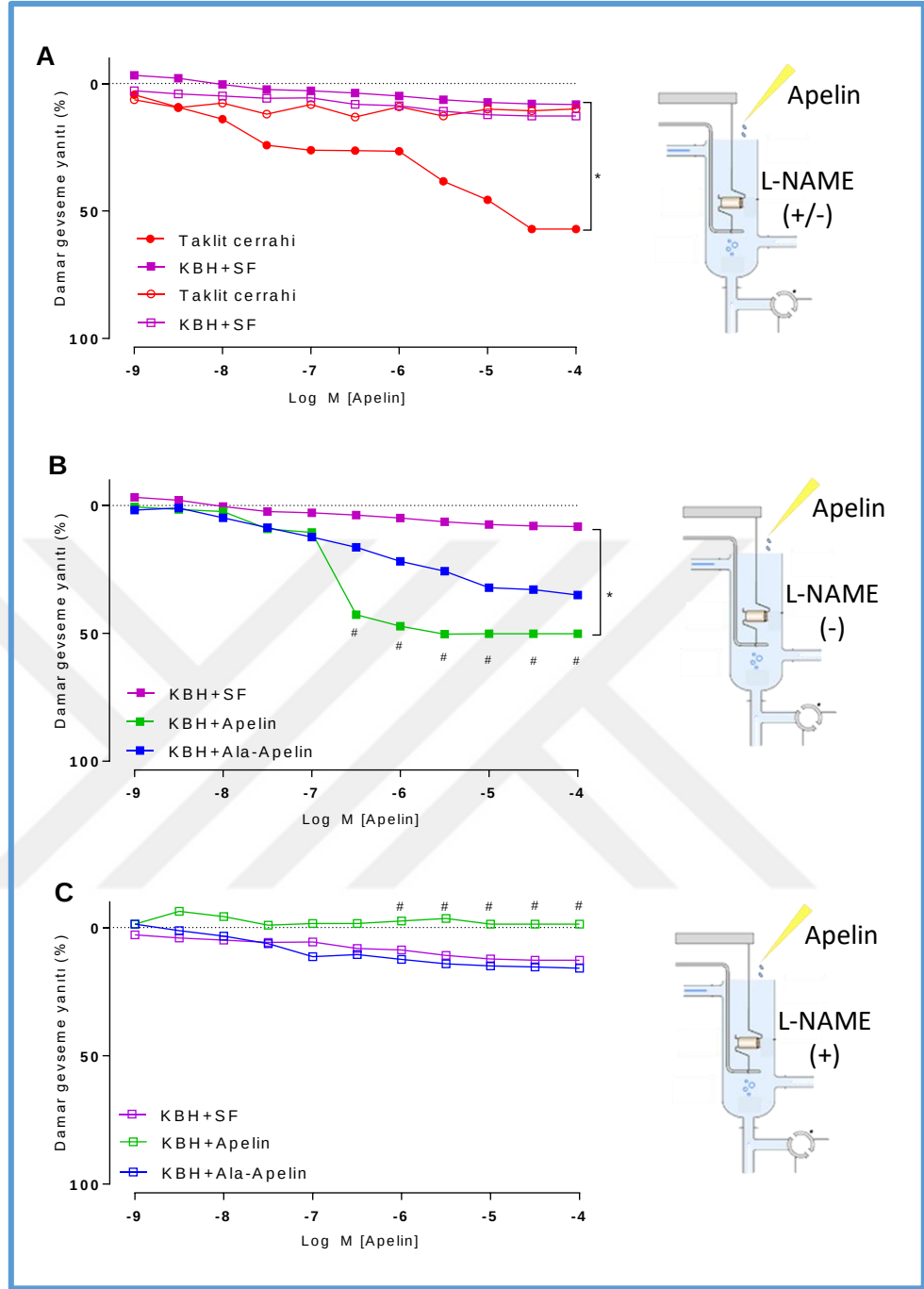
Karbakole olan gevşeme yanıtının SF-KBH grubuna kıyasla sadece apelin-KBH grubunda gevşeme yanıtlarının belirgin olarak korunduğu izlendi ($p<0.05$) (Şekil 19B). L-NAME ile inkübasyon sonrası ise apelin-KBH grubunda izlenen yanıtın azalmakla birlikte SF-KBH grubundan anlamlı olarak daha iyi olduğu izlendi ($p<0.05$) (Şekil 19C).



Şekil 17. Deney gruplarının torasik aort segmentlerinde endotel bağımlı gevşeme yanıtlarının L-NAME varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi. A) Taklit cerrahi ve SF-KBH grupları (L-NAME var/yok), B) SF-KBH, Apelin-KBH ve Ala-Apelin-KBH grupları (L-NAME yok), C) SF-KBH, Apelin-KBH ve Ala-Apelin-KBH grupları (L-NAME var). * $p < 0.05$ SF grubuna göre; + $p < 0.05$ L-NAME inkübasyonlu gruba göre.

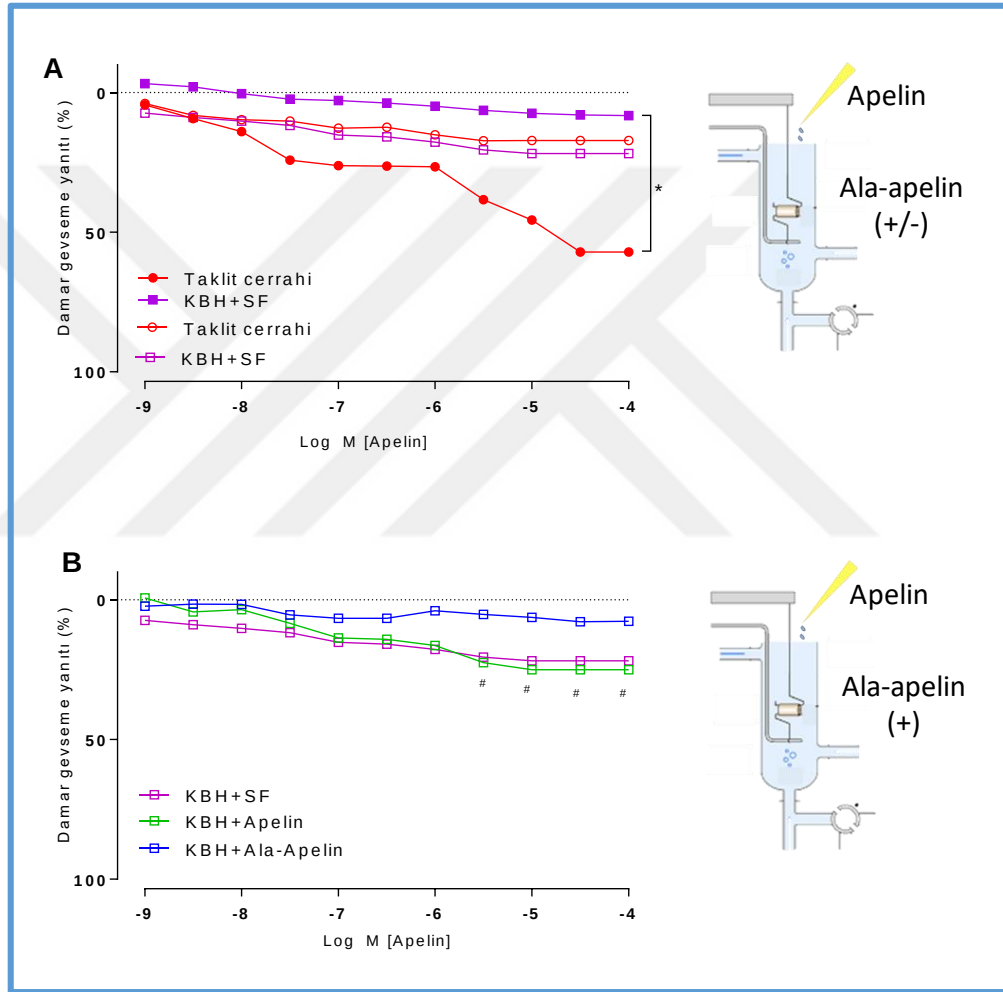
Torasik aortanın apeline olan gevşemelerin değeriendirilmesinde; SF-KBH grubunda apeline olan gevşeme yanıtının taklit cerrahi grubuna kıyasla bozulduğu izlendi ($p<0.05$) (Şekil 20A). L-NAME ile inkübasyon sonrası apeline olan gevşeme yanıtı hem taklit cerrahi grubunda da anlamlı olarak bozuldu (Şekil 20A).

Buna karşın apeline olan gevşeme yanıtlarının SF-KBH grubuna kıyasla hem apelin-KBH hem de ala-apelin-KBH gruplarında anlamlı olarak korunduğu gözlemlendi ($p<0.05$) (Şekil 20B). L-NAME ile inkübasyon sonrası ise apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarının apeline olan gevşeme yanıtları bozulmakla birlikte SF-KBH grubundan anlamlı olarak daha iyiydi (Şekil 20C).



Şekil 18. Deney gruplarının torasik aort segmentlerinde apelin yanıtlarının L-NAME varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi. A) Taklit cerrahi ve SF-KBH grupları (L-NAME var/yok), B) SF-KBH, Apelin-KBH ve Ala-Apelin-KBH grupları (L-NAME yok), C) SF-KBH, Apelin-KBH ve Ala-Apelin-KBH grupları (L-NAME var). * $p < 0.05$ SF-KBH grubuna göre; + $p < 0.05$ L-NAME inkübasyonlu gruba göre; # $p < 0.05$ Ala-Apelin ve L-NAME veya Ala-apelin inkübasyonlu gruba göre.

Torastik aortların apelin reseptör antagonisti olan ala-apelin ile inkübe edilmelerinin ardından apeline olan gevşeme yanıtları incelendiğinde; taklit cerrahi grubunda anlamlı bozulma izlenmez iken, apeline olan gevşeme yanıtının ala-apelin ile inkübasyon sonrası SF-KBH grubunda bozulduğu görüldü ($p<0.05$) (Şekil 21A). Apelin tedavisi alan apelin-KBH-grubunda ise ala-apelin ile inkübasyon sonrası vazorelaksasyon yanıtı ala-apelin-KBH grubuna kıyasla korunmuştu ($p<0.05$) (Şekil 21B).



Şekil 21. Deney gruplarının torastik aort segmentlerinde apelin yanıtlarının Ala-apelin varlığına göre farklılıklarının değerlendirilmesi. A) Taklit cerrahi ve SF-KBH grupları (Ala-apelin var/yok), B) SF-KBH, Apelin-KBH ve Ala-Apelin-KBH grupları (Ala-apelin var), * $p<0.05$ SF grubuna göre # $p<0.05$ Apelin ve Ala-apelin inkübasyonlu gruba göre.

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

KBH sık görülen, ilerleyici bir tablo olup birçok etiyolojik sebebe bağlı olarak gelişmektedir. Bu nedenle SDBH'na gidişin yavaşlatılması veya önlenmesi için yeni tedavi modalitelerinin geliştirilmesi çok önemlidir. Diğer yandan KBH'larının büyük bir kısmı SDBH'na ulaşmadan ya da ulaştıktan sonra bir dizi komplikasyonlarla kaybedilmektedirler. Bu komplikasyonlar arasında en önemlisi kardiyovasküler komplikasyonlardır. Bu komplikasyonların önlenmesi ve tedavi edilebilmeleri için patogenezinin aydınlatılması önemlidir. Bu amaçlarla farklı KBH modelleri üzerinde yeni moleküllerin etkinlikleri sürekli olarak araştırılmaktadır.

Renal ablasyon modelinde glomerül içi filtrasyon basıncının artışı, glomerüler hipertrofi, mesangial matriks artışı, segmental skleroz gibi bir dizi patolojizyolojik değişiklikler sonucu ilerleyici glomerül kaybı ve böbrek fonksiyonlarında kayıpla birlikte, endotel disfonksiyonu, vasküler sertlik (stifness), vasküler kalsifikasyon, sol ventrikül hipertrofisi ve disfonksiyonu gelişmektedir (Amann ve ark., 2000; Bidani ve ark., 1987; Blacher ve ark., 1998; Hostetter ve ark., 1981; Olson ve ark., 1982; Schwarz ve ark., 2000).

Apelinin sisteminin böbrek hastalıklarında potansiyel koruyucu etkilerini gösteren deneysel çalışmalara ulaşabilmekteyiz (Day ve ark., 2013; Xu ve ark., 2020; Özkan ve ark., 2016). Yaptığımız çalışmada renal ablasyon modelinde APJ sisteminin KBH'nın ilerlemesi üzerine tedavi edici etkilerinin olup olmadığını ve kardiyovasküler sistem komplikasyonları üzerindeki etkilerini araştırdık. Çalışmamızda APJ sisteminin böbrek ve kardiyovasküler sistem üzerinde farklı etkileri olduğunu söyleyebiliriz. Böbrek dokusunda APJ sisteminin uyarılmasının (agonistik apelin ve parsiyel agonist/antagonist ala-apelin ile) fonksiyonel ve histolojik bozulmayı SF-KBH grubuna göre koruduğunu ve bu korumayı da glomerüllerde mezangial matriks artışı ve interstisyel inflamatuvar hücre infiltrasyonunu baskılayarak yaptığı sonucuna vardık.

Diğer yandan renal ablasyon modelimizde APJ sisteminin uyarılmasının kalp dokusunda olumlu ya da olumsuz etki gösterememekle birlikte aterosklerozun ilk basamağı olan endotel disfonksiyon gelişiminin apelin tedavisi alan KBH grubunda baskılandığını tespit ettik.

Kronik böbrek hastalığının ilerlemesindeki faktörlerden bir tanesi sistemik HT, intraglomerüler HT ve hiperfiltrasyondur. Özellikle RAS aktivasyonu ile gelişen sistemik HT ve intraglomerüler HT glomerüler ve tübülointerstisyel ekstraselüler matriks artışının ve ilerleyici renal fibrozisin en önemli belirleyicisidir (Ogbadu ve ark., 2019).

Gerek deneysel modellerde gerekse de insan çalışmalarında KBH etiyolojilerden bağımsız olarak KB kontrolünün KBH ilerlemesini yavaşlatmada etkili olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Brenner ve ark., 2001; Parving ve ark., 2001). Kronik böbrek hastalığında sistemik ve intraglomerüler basınç yükselir (Anderson ve ark., 1986). Çalışmamızın 4. ve 8. haftalarında pyr-apelin 13 ve ala-apelin 13 enjeksiyonlarının yapılmasının ardından yaklaşık 1-2 saat içinde yaptığımız KB ölçümlerinin SF-KBH grubunda yükseldiğini apelin ve ala-apelin alan gruplarda ise anlamlı olarak azaldığını tespit ettik. SF grubunda izlenen KB yükselmesi literatürle uyumlu idi (Anderson ve ark., 1986). Apelinin KB düşürücü etkileri daha önceleri farklı modellerde rapor edilmişti (Japp ve ark., 2010; Najafipour ve ark., 2012). Bir çalışmada anestezi almış sıçanlara i.v apelin-13 enjeksiyonu sonrası OAB anlamlı olarak azalırken kalp hızında değişiklik izlenmemiştir (Brame ve ark., 2015). Bir başka çalışmada da anestezi almış sıçanlara i.v apelin-12, apelin-13 ve apelin-36 enjeksiyonu ile OAB sırasıyla 26, 11 ve 5 mm Hg azalmıştır (Tatemoto ve ark., 2001). Nitrik oksit sentaz enzim inhibitör varlığında bu etki ortadan kalkması NO sinyal ileti sistemi üzerinden damar düz kas hücrelerinin uyarıldığını göstermektedir. Apelin ayrıca, Akt uyarımı sonucu intraselüler kalsiyum artışı sonucu NOS uyarımı ile bu etkilerini göstermektedir (Tatemoto ve ark., 2001). Diğer taraftan distal nefronda su ve tuz reabsorpsiyonunu düzenleyerek KB kontrolünde önemli rol oynayan epitelyal sodyum kanalı (ENaC) ekspresyonunun aldosterone ile uyarılan kortikal toplayıcı tübül hücreleri apelin-13 ile

kültüre edildiklerinde baskılandığı da gösterilmiştir (Ayari & Chraibi, 2022; Kleyman ve ark., 2018).

Çalışmamızda ilginç olarak ala-apelin alan grupta da apelin-KBH grubuna benzer KB düşüşü izledik. Ala-apelinin bu etkisi APJ reseptörü üzerindeki parsiyel agonistic/antagonistic etkisi ile açıklanabilir (AKKAN, 2014). Ala-apelinin APJ reseptör antagonisti olmayabileceğini belirten yayınlar da bulunmaktadır (Fischer, 2020). Ala-apelin grubunda böbrek fonksiyonlarının farklı mekanizmalarla korunmuş olması sonucu serum ADMA seviyelerinin olası düşük kalmış olması da OAK'nı bu grupta düşük tutmuş olabilir (Ueda ve ark., 2007). Sistemik KB'nın kontrol edilmesi segmental sklerozu ve böbrek fonksiyonlarını korumaktadır (Ots ve ark., 1998). Ayrıca sistemik KB'nın azaltılması intraglomerüler basıncı da azaltmaktadır (Ritz ve ark., 1994). Hus_Citharel ve ark. APJ reseptörünün varlığını glomerüler afferent ve efferent arteriolde göstermişler, apelin infüzyonu ile anjiotensin-II ile konstrikte olmuş glomerüler efferent arteriolde vazodilasyon sağlamışlardır. Efferent arterioldeki bu etki intraglomerüler basıncı düşürerek böbrek fonksiyonları üzerinde olumlu etkiler gösterebilir (Hus-Citharel ve ark., 2008). Bir başka çalışmada ise tuza hassas spontan hipertansif sıçanlara (SHR) APJ reseptör agonisti olan Elabela uygulanması ile intrarenal ACE ekspresyonu düzelmiş, intrarenal RAS baskılanmış, KB değerleri düşmüş ve renal hasarda korunma sağlanmıştır (Xu ve ark., 2020).

Çalışmamızda günlük idrar atılımı SF-KBH grubunda taklit cerrahi grubuna göre artmıştı. Bu tablo KBH'ında beklenen bir tablodur (Romagnani ve ark., 2017). Apelin sisteminin diürez fizyolojisi ile yakın ilişkisinin olduğu görülmektedir. Apelin bu etkilerini santral ve periferde böbrek üzerindeki etkileri ile gerçekleştirir (Girault-Sotias ve ark., 2021). Merkezi sinir sisteminde apelin bulunduran sinir liflerinin uçları posterior hipofizin medyan eminansında yoğun olarak bulunurlar. Bu nedenle vazopresinerjik nöronlar gibi apelinin de paraventriküler nucleus (PVN) ve supraoptik nucleus (SON) orijinli olduğu düşünülür (De Mota ve ark., 2004). APJ ise SON, PVN, arkuat nucleus, pineal bez ve hipofiz bezinde bulunmaktadır (De Mota ve ark., 2000).

İlaveten APJ de AVP reseptör tip-1a (V1a) ve 1b (V1b), ile birlikte magnoselüler AVP nöronlarla birlikte eksprese edilirler (Hurbin ve ark., 1998; O'Carroll & Lolait, 2003). Diğer taraftan böbrek dokusunda ise apelin ve QP2 toplayıcı tübül epitel hücrelerinde kolokalizedir. Apelin üretimini kontrol eden mekanizmalardan bir tanesi de plazma ozmolalitesidir. Yüksek ozmolalite apelin seviyelerini düşürürken (Azizi ve ark., 2008; De Mota ve ark., 2004), azalmış plazma ozmolalitesi ise arttırıcı rol oynar (Azizi ve ark., 2008). KBH'nda olduğu gibi sıvı fazlalığının olduğu ve ozmolalitenin düşebildiği durumlarda paramagnoselüler hücrelerde AVP salgılanması baskılanıp, apelin salgılanması artar ve böylece diürezde artış sağlanır (Flahault ve ark., 2021; Girault-Sotias ve ark., 2021). Ayrıca apelinin glomerüler arteriollerde vazodilatasyonu ile vazorekta da kan akımını artması da renal kan akımını arttırarak diürezi uyarır (Hus-Citharel ve ark., 2008). Benzer şekilde Elabala da akuaretik etki gösterir (Deng ve ark., 2015). KBH hastalarında yapılan bir çalışmada plazma apelin konsantrasyonları ile inülin ile ölçülen GFH arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır (Nyimanu ve ark., 2022). Çalışmamızda bu veriler ışığında diürezin apelin grubunda böbrek fonksiyonlarında düzelme olsa da diürezin azalmaması mümkün olabilir.

Kronik böbrek hastalığında proteinüri gelişmektedir. Proteinüri glomerüler hasara bağlı olabileceği gibi tübüler hasara bağlı olarak da gelişir. Proteinüri, glomerüler endotel hücre ve bazal membran hasarının yada podosit hasarının bir göstergesi olabilir (Yu ve ark., 2005). Proteinüri böbrek hasarının en önemli belirteci olmakla birlikte böbrek hastalığın ilerlemesi ile birlikte artış gösterebilir tedaviye yanıtın da en önemli göstergesidir (Brenner ve ark., 2001; Parving ve ark., 2001). Ancak proteinürinin özellikle tübülotoksik etkileri nedeniyle tedavi ile azaltılması, renal progresyonu yavaşlatıcı bir tedavi seçeneğidir. Proteinürideki azalma tedavi ile patolojik-patofizyolojik olayların baskılanması sonucu olabilir ve tedavi ile azalması da gerek deneysel modellerde gerekse de insanlarda yapılan çalışmalarla böbrek hastalığında ilerlemenin yavaşladığını göstermektedir (Brenner ve ark., 2001; Parving ve ark., 2001).

Çalışmamızda apelin-KBH grubunda anlamlı olmak üzere her iki tedavi grubunda da proteinüri de azalma izlendi. Yapılan çalışmalarda farklı modellerde APJ sisteminin proteinüri üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmaların bir kısmı deneysel modellerde bir kısmı da kesitsel olmak üzere insanlarda yapılmıştır (Hu ve ark., 2016). Preklinik çalışmalarda apelin ekspresyonunun diyabetik böbrek hastalığında değişime uğradığını göstermektedir. Fare podositlerinde APJ reseptör mRNA düzeyi azalmaktadır (Müller ve ark., 2018) ancak yüksek glukozlu ortamda kültür edildiklerinde podosit APJ reseptör ekspresyonu artmaktadır (Guo ve ark., 2015). Ang II verilmesi ise APJ reseptör mRNA ekspresyonunu podositlerde daha da baskılamıştır (Müller ve ark., 2018). Tip1 ve tip2 DM hayvan modellerinin bazılarında böbrekte APJ reseptör ve pre-pro apelin ekspresyonu azalmış iken bazı çalışmalarda da tam tersi gösterilmiştir (Day ve ark., 2013; Müller ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2013).

Zhang ve arkadaşları DN’li hastalarda serum Elebela seviyelerinin proteinüri ve serum kreatinin değerleri ile negatif eGFR değerleri ile de pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuştur. Dolayısıyla Elebela seviyelerinin düşük olması daha ağır DN’yi temsil etmektedir (Zhang ve ark., 2018). Akita farelerinde oluşturulan tip1 DM modelinde ise apelin-13 tedavisi glomerular yapıyı koruyup proteinüriyi azaltmış ve renal inflamasyonu inhibe etmiştir. Çalışmacıları bu olumlu etkilerin diyabetik indüklediği histon hiperasetilasyonunu inhibe etmesi ile ilgili olduğunu bulmuşlardır (Chen ve ark., 2014). Ove26 farelerinde oluşturulan Tip1 DM modelinde de 3-6 aylık apelin-13 tedavisi ile anti-oksidan etki izlenmiş, proksimal tübül epitel hücrelerinde megalin ekspresyonundaki kayıp, renal inflamasyon, MCP-1 ve VCAM-1 ekspresyonu ve glomerüler hipertrofi azalmıştır (Day ve ark., 2013). Bir başka diyabetik nefropati çalışmasında da Elebela’nın ‘phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase’ (PI3K)/AKT ve ‘mammalian target of rapamycin’ (mTOR) yollarını aktive ederek inflamasyonu baskıladığı, fibrozisi önlediği rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2019). Diğer taraftan apelinin Tip2 DM fare modellerinde renal kan akımını, podositlerde apoptozis ve otofajiyi olumsuz etkileyerek hastalığı albüminüriyi ve klirensi bozduğu gösterilmiştir (Guo ve ark., 2015; Liu ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2013; J. Zhang ve ark., 2018) Zhang ve ark. ise çalışmalarının ilk bölümünde tip-2 DM’lu insanlarda serum apelin seviyelerinin yüksek olduğunu ve idrar albümin düzeylerinin apelin

seviyeleri ile pozitif korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır. Çalışmalarının ikinci bölümünde KK farelerinden elde edilen dokularda apelinin glomerüler endotel hücrelerinde migrasyon, proliferasyon ve kemotaksisi doza bağımlı olarak arttırdığını göstermişlerdir. Apelin aynı zamanda glomerüler endotel hücre permeabilitesini arttırmış, VEGFR2 ve Tie2 ekspresyonunu arttırarak anjiogenezi uyarmıştır (Zhang ve ark., 2013).

Adriamisin ile indüklenen nefropati modelinde, özellikle 14. Günden itibaren proteinüri ve serum apelin düzeyleri ve glomerüler bazal membranda apelin ekspresyonu yükselmiş, proteinüri ile böbrek apelin ekspresyonu arasındaki da pozitif korelasyon saptanmıştır (Bo & Yuan, 2012). Bu durum proteinüri gelişiminde apelinin rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, benzer modelde Özkan ve ark. adriamisin ile sıçanlarda oluşturdukları nefrotik sendrom modelinde kontrol grubunda artış gösteren proteinürinin apelin tedavisi ile azalmakla birlikte istatistiksel anlama ulaşmadığını rapor etmişlerdir (Özkan ve ark., 2016).

Kronik HT ve ilerleyici böbrek hastalığı modellerinde de apelin tedavisinin proteinüri etkileri incelendiğinde Xu ve ark. tuz hassas HT modelinde 14 gün süreyle ELA-32 tedavisi ile yüksek tuzlu diyetle bağlı gelişen KB anlamlı olarak baskılanmış, albüminüri ve idrarda NGAL atılımının da baskılandığını rapor etmişlerdir (Xu ve ark., 2020). Literatürde artık model ile oluşturulan KBH modelinde APJ sistemi uyarılmasının etkilerini bildiren bir çalışma bildiğimiz kadarı ile bulunmamaktadır. Ancak bulgularımız diğer KBH etiolojilerinde tespit edilen bulgularla paralellik göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızda proteinürinin azalmasının saptanması değerli bir bulgudur.

Çalışmamızda inflamatuvar sitokinlerden TNF α serumda SF-KBH grubunda artma eğiliminde iken böbrek dokusunda yükselmiştir. Serum TNF α düzeyleri APJ uyarımı ile baskılanma eğiliminde iken böbrek dokusu TNF düzeylerinde artma eğilimi vardır. Bu durum dokuda inflamatuvar sürecin devam ettiğini düşündürmektedir. Taal ve ark.

artık M n h-Wistar sıçanlarda nefrektomi modelinde proinflamatu r genlerden TGF-  ekspresyonunun ilk dört haftadan itibaren, TNF-  ve IL-1  ekspresyonlarının da 8 ve 12. haftalarda anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir (Taal ve ark., 2000). Dokulardaki sitokinlerin ve özellikle de IL-1 'nın kaynağı olan makrofaj infiltrasyonu ise 4-12 haftalar arasında yoğun olarak devam etmektedir (Taal ve ark., 2000). Bir başka artık model kullanılan çalışmada ise Northern analizi gen ekspresyonu bakıldığında TNF-  or IL-1  ekspresyonu tespit edilememiştir (Schiller & Moran, 1997). Bizim  alı mamızda ise ELISA ile baktığımız protein düzeyleri tüm gruplar arasında benzerdi. Taal ve ark.  alı masında TNF-  ve IL-1  ekspresyonu candesartan tedavisi ile 8. Haftada de ilde 12. Haftada baskılanabilmi tir (Taal ve ark., 2000). İlginç bir şekilde anti-hipertansif tedavi ile monosit-makrofaj infiltrasyonundaki azalmaya bağlı olarak sitokinlerin ekspresyonu da baskılanmı tır (Taal ve ark., 2000). İnsanlarda yapılan çalışmada adipoz dokuda TNF-  apelin salgılanmasını uyarmaktadır (Daviaud ve ark., 2006). Endotel hücrelerinde APJ sistemi uyarılmasının ‘‘ NF- B/c-Jun N-terminal kinase (JNK)’’ uyarımı ile ICAM-1, VCAM-1 ve MCP-1 ekspresyonunu bu hücrelerde monosit adhezyonunun arttırdığı ve bu şekilde inflamasyonu tetikleyebilece i rapor edilmiştir (Lu ve ark., 2012). Başka çalışmalarda da endotel hücrelerinde APJ uyarımı ile ERK aktivasyonunu sağlayıp NF B/JNK sinyal yolağını aktive ettiği gösterilmiştir (Lv ve ark., 2013; Mao ve ark., 2011). Bizim  alı mamızda APJ uyarımımız böbrek dokusunda TNF-  salgılanmasını uyarmı  olabilir Böbrek dokusunda apelin düzeylerini  l emedi imiz için doku apelin düzeyleri ile doku TNF  düzeyleri arasında bir ilişkinin çalışmamızda olup olmadığını yorumlayamıyoruz. Akut böbrek hasarı modellerinden olan IRH modelinde Elebela tedavisi ile IL-1  dahil olmak üzere birçok sitokin baskılandığı rapor edilsede (Chen ve ark., 2017), çalışmamızda apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarında böbrek dokusu TNF  düzeyleri benzer olduğu için bu tedavilerin TNF  düzeyleri üzerine etkili olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda IL-1  protein düzeyleri de böbrek dokusunda tüm gruplarda benzerdi. IL-1  salgılanmasındaki temel basamaklardan inflamazom, NOD benzeri reseptör-3' n (NLRP3) oluşumunu indükleyicisi olan oksidatif stres (Gupta & Barthwal, 2018;

Lorenz ve ark., 2014) belirteci olarak baktığımız MDA düzeyleri de gruplar arasında benzerdi. Dolayısıyla çalışmamızda sönmüş bir oksidatif stress ve inflammatuar yanıtın bahsetmek mümkün gözükmektedir. Diğer taraftan, NF-KB yolağının aktive olması IL-1 β salgılanmasını uyarabilmektedir (Lorenz ve ark., 2014). Çalışmamızda böbrek dokusu TNF-alfa düzeylerinin SF-KBH ve tedavi gruplarında yüksek olması NF-KB yolağının aktive kaldığını ve insanlarda olduğu gibi TLR-4 uyarısı üzerinden inflamazom aktivasyonunu devam ettirdiğini düşündürebilir (Gaidt ve ark., 2016).

Çalışmamızda ilginç olarak sistemik inflamasyon belirteci olarak baktığımız serum IL-1 β düzeyleri SF-KBH grubunda yükselirken apelin ve ala-apelin tedavileri ile anlamlı düşüş gösterdi. Her ne kadar böbrek dokusunda inflammatuar süreç APJ uyarımı ile değişmese de uzak inflammatuar yanıt APJ uyarımı ile baskılanmıştır. IL-1 β monositlerden salgılanan bir molekül olmasına rağmen endotel hücreleri, dendritik hücreleri, nötrofiller gibi birçok hücreyi uyarak sistemik inflamasyona neden olmaktadır (Anders, 2016; Dinarello, 2000).

Çalışmamızda bir nötrofil infiltrasyon belirteci olarak MPO düzeylerini ölçtük. Böbrek dokusunda SF-KBH grubu MPO değerleri taklit cerrahi grubu ile benzerdi. Yapılan çalışmalarda akut renal IRH modellerinde MPO seviyeleri IRH grubunda yükselmekte ve yoğun nötrofil/makrofaj infiltrasyonu izlenmektedir. Ancak akut dönemden sonra böbrek dokusunda nötrofil infiltrasyonunun yerini monositer hücre infiltrasyonu almaktadır ve bu monositer hücrelerde proinflammatuar M1 fenotipinden ‘‘pro-repair’’ M2 fenotipine dönüşürler (Ogbadu ve ark., 2019). Nisbeten akut denilebilecek bir model olan akciğer hasarı modelinde doku MPO düzeyi apelin-13 tedavisi ile azalmıştır (Fan ve ark., 2015). Çalışmamızda 8 haftalık bir periyodun ardından böbrek dokusunda MPO seviyelerinin taklit cerrahi ve SF-KBH grubunda benzer olması nötrofil/makrofaj infiltrasyonun uzun dönemde iyileşmesi şeklinde açıklanabilir. APJ uyarımının kronik bir model olan akut nefropati modelinde MPO düzeyleri üzerine olumlu yada olumsuz etkileri olmadığını düşündürmektedir. Böbrek dokusuna benzer şekilde kalp dokusunda da SF-KBH grubunda yükselen MPO değerleri yüksek idi ve bu değerler APJ uyarımı ile SF-KBH grubundan farklılık

göstermedi. Bu bulgular APJ uyarımının modelimizde nötrofil/makrofaj uyarımı üzerine olumlu etkilerinin olmadığını düşündürmektedir.

Reaktif oksisjen türevleri ve antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması hücre yapılara (proteinler, lipidler, nükleik asitler gibi) (Wu ve ark., 2013) ve bazı reaksiyonların oluşumuna (protein fosforilasyonu, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, apoptosis gibi) (Rajendran ve ark., 2014) sebep olarak hücre ve doku hasarına sebep olur. Çalışmamızda oksidatif stres belirteci MDA düzeylerini kullandık. Çalışmamızda böbrek ve kalp dokularında oksidatif stres parametresi olarak incelediğimiz MDA düzeyleri ve anti-oksidan parametre olarak incelediğimiz GSH düzeyleri de gruplar arasında benzerdi. Apelinin oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir (Leme Goto ve ark., 2020). Hipoksi miyokard dokusunda HIF-1 active ederek apelin gen ekspresyonunu ve protein sekresyonu arttırmaktadır (Ronkainen ve ark., 2007). APJ reseptörü bir G protein reseptörü olduğu için özellikle Gi/o ve Gq/11 ile etkileşime geçerek birkaç farklı sinyal ileti sistemini aktive eder. Özellikle Gi/o yolu ile ‘‘phospho-inositide 3-kinaz’’ (PI3K)/AKT (protein kinaze B, PKB) ve protein kinaze C (PKC)/ekstraselüler sinyal-regüle kinaz 1/2 (ERK 1/2) yollarını aktive ederek apoptozisi, hücre proliferasyonunu, nöroinflamasyonu ve oksidatif stresi etkiler (Fibbi ve ark., 2023; Kurowska ve ark., 2018; Tian ve ark., 2020).

Özellikle akut modellerde apelin uygulamasının oksidatif stresi azalttığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Apelin verilmesi in vivo ve ex vivo olarak uygulanan deneysel miyokard islemi reperfüzyon (Pisarenko ve ark., 2015) ve sıçanlarda mezenterik arter IRH modelinde lipid peroksidasyonu düzeylerini anlamlı olarak düşürmüştür (SAĞIROĞLU ve ark., 2012). Akut böbrek hasarı modellerinde de apelin oksidatif stresi baskılayarak olumlu etki göstermektedir (Chen ve ark., 2017). Apelin eNOS’u active ederek NO salınımını artırır (Zhou ve ark., 2016). Apelin-13 ile cisplatinin oksidatif stres ve inflamasyonu tetikleyerek yaptığı nefrotoksisite önlenebilmiştir (Topcu ve ark., 2023). Bircan ve ark. renal IRH modelinde apelinin renal tübül epitel hücrelerini mitokondrial SOD, katalaz ve glutathion peroksidaz enzimlerini indükleyerek koruduğunu rapor etmişlerdir (Bircan ve ark., 2016). Özkan

ve ark. doksorubucin ile oluşturdukları nefrotik sendrom modelinde apelin uygulaması ile böbrek dokusunda yükselen MDA seviyelerinin baskılandığını göstermişlerdir (Özkan ve ark., 2016). Zeng ve ark. da kardiyak iskemi reperfüzyon hasarı modelinde apelin uygulanması ile anti-oksidan enzimlerin indüklendiğini göstermişlerdir (Zeng ve ark., 2009). Day ve ark. ise diyabetik nefropati modelinde apelin uygulanması ile katalaz enzim ekspresyonunun düzeldiğini kanıtlamıştır (Day ve ark., 2013). Bu durum hücrede oksidan-antioksidan dengesinin apelin ile olumlu yönde değiştiğinin göstergesidir. Çalışmamızda hem böbrek hem de kalp dokusunda MDA düzeylerinin benzer olması deneyimizin akut olmaması ve uzun dönemde bu yolların sönmesi ile açıklanabilir.

Diğer taraftan KBH’ında biriken ADMA, L-NAME gibi maddeler NOS’ı inhibe etmiş olabilir. Ayrıca KBH’da artan AngII membran NADPH oksidazı uyararak superoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) üretilip NO ile oluşan reaksiyonla oluşan peroksinitrit ($OONO^-$), NO’yu soldurup vazokonstriktif etki de göstermiş olabilir (Fibbi ve ark., 2023).

Çalışmamızda anti-oksidan parametre olarak incelediğimiz GSH düzeylerini tüm gruplarda benzer bulduk. Özkan ve ark. doksorubucin ile oluşturdukları nefrotik sendrom modelinde apelin uygulaması ile böbrek dokusunda GSH seviyelerinin arttığını göstermişlerdir (Özkan ve ark., 2016). Zeng ve ark. da kardiyak IRH modelinde apelinin anti-oksidan enzimleri indüklendiğini göstermiştir (Zeng ve ark., 2009). Diyabetik nefropati modelinde apelin uygulanması katalaz enzim ekspresyonu düzeltmiştir (Day ve ark., 2013).

Çalışmamızda histolojik parametrelerden mesangial matriks artışının apelin ve ala-apelin gruplarında SF-KBH grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldığını gösterdik. Mezangial matriks artışı birçok ilerleyici böbrek hasarı modelinde izlenmektedir (Raij ve ark., 1984). Artık nefrektomi modelinde mezangial matriks artışında Ang II artışı önemli rol oynamaktadır (Taal & Brenner, 2000). Çalışmamızda apelinin olumlu etkilerinin olması anjiyotensin I reseptörü üzerindeki agonistik, dolayısıyla anjiyotensin

II karşıtı etkileri ile ilişkilendirilebilir (Chapman ve ark., 2021). Diğer taraftan çalışmamızda mesagial matriks artışındaki azalmaya papalel bir şekilde glomerüloskleroz skorunda SF-KBH grubunda yükselip, apelin-KBH ve ala-apelin-KBH gruplarında azaldı. Bu azalma ala-apelin-KBH grubunda anlamlıydı. Her iki tedavi grubundaki azalma APJ sisteminin uyarılmasının glomerüler hasarın önlenmesinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Daha önce yapılan çalışmalardan diyabet modellerinde glomerüler hasarın APJ uyarımı ile düzeldiğine ve bozulduğuna (Liu ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2013) dair yayınlar bulunmaktadır.

Çalışmamızda interstisyel fibrozis değrelendirmesini trikrom boyaması ile değerdendirdik. APJ uyarımı ile birlikte fibrozis skoruna azalma trendi gözlemlemekle birlikte fibrozis skorunda anlamlı bir düzelme gözlemleyemedik. Xu ve ark. tuz hassas HT modelinde yaptıkları çalışmalarında 14 gün süreyle ELA-32 tedavisini 14 gün süreyle kullanmışlardır. Yüksek tuza bağılı gelişen HT anlamlı olarak baskılanmıştır. Yine tedavi sonucunda ELA-32 ile albüminüri ve idrarda NGAL atılımı baskılanmış, fibrozis belirteci olan TGF- β 1, FN, kollajenA1, PAI-1 ve TIMP-1, NGAL ve KIM-1 kortekste, ColA1, NGAL ve KIM-1 medullada, inflamatuvar belirteçlerden IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, IFN- γ , VCAM-1, ICAM-1, ve MCP-1mRNA düzeyleri kortekste, TNF- α , IL-1 β , ve IL-6 medullada baskılanmıştır. Yine bu çalışmada AT1R ve AT2R mRNA düzeyleri kortekste, renin ve AGT düzeyleri medullada baskılanmıştır. Yine yüksek tuzlu diyetle baskılanan ACE-2 seviyeleri ELA-32 ile kortekste düzelmiş, medulla da düzelememiş, idrar AGT ve ANGII seviyeleri baskılanmıştır. Bu durum ELA-32'nin intrarenal RAS baskılayarak anti-hipertansif ve anti-fibrotik etkilerini gösterdiğini kanıtlamaktadır (Xu ve ark., 2020).

Çalışmamızda ayrıca hem apelin hem de ala-apelin gruplarında histolojik incelemede inflamatuvar hücre infiltrasyon skorunun baskılandığını tespit etmiştik. Ancak, hem apelin hem de ala-apelin tedavileri ile tübüler epitelyal hücre dejenerasyonu, ödem, konjesyon ve tübüler kast oluşumu parametrelerinde düzelme sağlanamadı. Ala-apelin-KBH grubundaki apelin-KBH grubuna benzer değışiklikler ala-apelinin APJ reseptöründe parsiyel agonistik/antagonist etkileri ile açıklanabilir (Akkan, 2014).

Ala-apelinin anti-fibrotik etkilerini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. CCl₄ ile indüklenen karaciğer sirozu modelinde ala-apelin tedavisi ile fibrozis gelişimi önlenebilmiştir. Ancak bu çalışmaya ayrıca bir apelin grubu dahil edilmemişti (Reichenbach ve ark., 2012). Bu etki gösterilirken ortalama kan basıncı, anjiogenez, hücre infiltrasyonu azalmış, platelet kökenli büyüme faktörü baskılanmıştır. Diğer tarafından APJ sisteminin farklı organlarda farklı etkileri söz konusu olabilir. Nitekim yakın dönemlerde yapılan çalışmalarda böbrek dokusunda APJ reseptörünün korteksden çok medullada lokalize olduğunu gösteren, toplayıcı tübüllerde AQ2 ile ko-lokalize olduğu bildirilmektedir (Hus-Citharel ve ark., 2008; Xu ve ark., 2020). Bu bağlamda APJ sistemi glomerüler sklerozu önlemeden ziyade tübüler epitel hasarı ve interstisyel fibrozisi önlemede etkili olması muhtemeldir. Ancak literatürde nefrektomi ile oluşturulan KBH modellerinde APJ sisteminin uyarılmasının yada bloke edilmesinin etkilerini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Öte yandan adriamisin ile oluşturulan nefrotik sendrom modelinde Özkan ve ark. apelin uygulanması ile tübülointerstisyel fibroziste düzelme izlememişler, tübüler ve glomerüler hasarda anlama ulaşmayan minimal düzelme izlemişleridir (Özkan ve ark., 2016). Zhang ve ark. ise diyabetik nefropati modelinde doza bağlı olarak apelinin toksik etki gösterebileceğini belirtmişlerdir (Zhang ve ark., 2013).

Çalışmamızda sol ventrikül ağırlığını ve sol ventrikül fibrozis skorlamasını ve kalp dokusu kollajen miktarları gruplar arasında benzerdi. Siddique ve ark. farelerde AngII ile indüklenen kardiyak ve perivasküler fibrozisin apelin ile önlendiğini göstermişlerdir (Siddique ve ark., 2011). Bu olumlu etkiler KB kontrolü, AngII'nin indüklediği Rho-kinaz yolağını ve PAI-1 promotor aktivitesini baskılaması ve eNOS gen ekspresyonunu indüklemesine bağlı olarak gelişmiştir. Bu etki L-NAME ve apelin birlikte verildiğinde ortadan kalkmıştır (Siddique ve ark., 2011). Bir başka çalışmada da apelinin AngII antagonize ettiği bir başka ateroskleroz ve aortik anevrizma modelinde de gösterilmiştir (Chun ve ark., 2008). Bu çalışmada ayrıca apelinin AngII-tip1 reseptörü ve APJ arasında heterodimer kompleksi oluşturarak AngII sinyal iletimini etkilediği gösterilmiştir. Normal ve basınç yüklü kalplerden elde edilen kardiyak fibroblastların apelin ile inkübe edildiği bir çalışmada ise α -SMA ekspresyonu ve kollajen üretimi azalmıştır (Pchejetski ve ark., 2012). Çalışmamızda

ise SVH gelişimini etkileyen KB kontrolünü ve NO salınımını APJ uyarımı ile sağlabilmiş olsak da tek başına KB kontrolü üremik sıçanlarda kalp ağırlığındaki artışı önleyemeyebilir (Rambausek ve ark., 1985). Uzun yıllardır diyalize giren KB kontrollü insanlarda da sol ventrikül hipertrofisinin gerilemediği rapor edilmiştir (London, Fabiani, ve ark., 1987). Çalışmamızda üremide gelişen sol ventrikül hipertrofisinde ve fibrozis gelişimine etki eden AngII fazlalığı (Cannella ve ark., 1997), bradikinin, endotelin ve katekolamin fazlılığı, anemi, hiperparatiroidizm, hiperfosfatemi, ADMA gibi diğer üremik toksinlerin kontrol edilememesi de tedaviye yanıtızlığı açıklayabilir (Achinger & Ayus, 2006; Amann ve ark., 2000; Cannella ve ark., 1997; London, De Vernejoul, ve ark., 1987; Rambausek ve ark., 1985; Törnig ve ark., 1996; Zoccali, 2006). Çalışmamızda KB ölçümlerini de sedatize edilmiş sıçanlarda kuyruk pletismografisi ile yaptık. Bu teknikle bazı farklı ölçümler exclude edilemeyebilir. Daha etkin bir yöntem olan telemetrik monitorizasyon yönteminin kullanılması daha uygun olabilirdi (Griffin ve ark., 1994).

Çalışmamızdaki önemli bulgularımızdan birisi SF-KBH grubunda endotel disfonksiyonun gelişmesi, APJ uyarımı alan apelin-KBH ve ala-apelin-KBH grubunda bu fonksiyonların korunmasıdır. Karbakol ve apeline olan vazorelaksasyon yanıtları da özellikle apelin-KBH grubunda korunmuştu. İn vitro ortamda tıpkı L-NAME gibi ala-apelin inkübasyonu sonrası vazodilatatör yanıtlar baskılanmakla birlikte bu baskılanma apelin-KBH grubunda korunmuştu. Apelin, APJ uyarımı sonrası intraselüler cAMP salgılanması ile NOS uyarımı yapmaktadır (Tatemoto ve ark., 2001). Diğer taraftan KBH'ında izlenen baskın RAS aktivasyonu endotel disfonksiyonunun en önemli sebeplerinden birisidir (Yoshida ve ark., 2007). APJ uyarımı AngII etkilerini zayıflatan AT1R uyarımı yapmakta, Ang II metabolize eden ACE2 enzimini ise uyarmaktadır (Sabry ve ark., 2019; Sato ve ark., 2013; Xu ve ark., 2020).

Sonuç olarak çalışmamızda artık böbrek hasarı modelinde APJ uyarımı ile kan basıncındaki yükselmenin kontrol altına alındığını, böbrek fonksiyonlarının korunduğunu, proteinürinin baskılandığını, glomerüllerde mesangial matriks artışının ve sklerozun önlediğini, sistemik inflamasyonun baskılandığını, endotel

fonksiyonlarının korunduğunu ancak kalp dokusunda anlamlı bir değişikliğin olmadığını gösterdik. Çalışmamızda kullandığımız Ala-apelinin in vivo şartlarda apelin-KBH grubunda kullandığımız apelin ile benzer etki gösterdiğini, in vitro şartlarda (organ banyosunda) ise L-NAME benzeri etki ile APJ reseptöründe antagonistik etki gösterdiğini tespit ettik. Bulgularımız APJ uyarımının böbrek dokusundaki koruyucu etkilerini hemodinamik etkileri üzerinden yapabileceğini düşündürmektedir. Akut modellerde olduğu gibi olumlu etkilerin anti-oksidan, yada anti-inflamatuar mekanizmalarla yaptığını gösteremedik. Üremik modelde kalp morfolojisi üzerinde olumlu etki izlenmemiştir.

Bu veriler ışığında artık böbrek modelinde APJ uyarımının böbrek dokusunda izlenen anti-fibrotik etkilerin ve böbrek fonksiyonlarını koruyucu etkilerinin ve etki mekanizmalarını araştırılmaya devam edilmesi düşünülebilir. Böylece APJ sisteminin KBH'daki rolü ve patogenezdaki rolü aydınlatılabilir.

8. KAYNAKLAR

- A Schreiber, C., J Holditch, S., Generous, A., & Ikeda, Y. (2016). Sustained ELABELA gene therapy in high-salt diet-induced hypertensive rats. *Current gene therapy*, 16(5), 349-360.
- Achinger, S. G., & Ayus, J. C. (2006). Left ventricular hypertrophy: is hyperphosphatemia among dialysis patients a risk factor? *J Am Soc Nephrol*, 17(12 Suppl 3), S255-261. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080923>
- Akkan, A. G. (2014). Farmakokinetik/Farmakodinamik Temel Tanimlar.
- Amann, K., Breitbach, M., Ritz, E., & Mall, G. (1998). Myocyte/capillary mismatch in the heart of uremic patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 9(6), 1018-1022.
- Amann, K., Gassmann, P., Buzello, M., Orth, S. R., Törnig, J., Gross, M. L., . . . Ritz, E. (2000). Effects of ACE inhibition and bradykinin antagonism on cardiovascular changes in uremic rats. *Kidney international*, 58(1), 153-161.
- Amann, K., Neusüss, R., Ritz, E., Irzyniec, T., Wiest, G., & Mall, G. (1995). Changes of vascular architecture independent of blood pressure in experimental uremia. *American journal of hypertension*, 8(4_Pt_1), 409-417.
- Amann, K., & Ritz, E. (1997). Cardiac disease in chronic uremia: pathophysiology. *Adv Ren Replace Ther*, 4(3), 212-224. [https://doi.org/10.1016/s1073-4449\(97\)70030-x](https://doi.org/10.1016/s1073-4449(97)70030-x)
- Amann, K., Törnig, J., Flechtenmacher, C., Nabokov, A., Mall, G., & Ritz, E. (1995). Blood-pressure-independent wall thickening of intramyocardial arterioles in experimental uraemia: evidence for a permissive action of PTH. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 10(11), 2043-2048.
- Amann, K., Wiest, G., Zimmer, G., Gretz, N., Ritz, E., & Mall, G. (1992). Reduced capillary density in the myocardium of uremic rats—a stereological study. *Kidney international*, 42(5), 1079-1085.
- Anders, H. J. (2016). Of Inflammasomes and Alarmins: IL-1 β and IL-1 α in Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*, 27(9), 2564-2575. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016020177>
- Anderson, S., Rennke, H. G., & Brenner, B. M. (1986). Therapeutic advantage of

- converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest*, 77(6), 1993-2000. <https://doi.org/10.1172/JCI112528>
- Ashley, E. A., Powers, J., Chen, M., Kundu, R., Finsterbach, T., Caffarelli, A., . . . Agrawal, R. (2005). The endogenous peptide apelin potently improves cardiac contractility and reduces cardiac loading in vivo. *Cardiovascular research*, 65(1), 73-82.
- Ayari, H., & Chraibi, A. (2022). Apelin-13 Decreases Epithelial Sodium Channel (ENaC) Expression and Activity in Kidney Collecting Duct Cells. *Cell Physiol Biochem*, 56(1), 1-12. <https://doi.org/10.33594/000000488>
- Aydogan, A., Kocer, G., Ozmen, O., Kocer, M., Onal, L., & Koskan, O. (2014). Immunohistochemical expression of caspase-3, caspase-5, caspase-7 and apoptotic protease-activating factor-1 (APAF-1) in the liver and kidney of rats exposed to zoledronic acid (ZOL) and basic fibroblast growth factor (bFGF). *Veterinary Quarterly*, 34(3), 137-142.
- Aykaç, G., Uysal, M., Yalçın, A. S., Koçak-Toker, N., Sivas, A., & Öz, H. (1985). The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology*, 36(1), 71-76.
- Ayus, J. C., Mizani, M. R., Achinger, S. G., Thadhani, R., Go, A. S., & Lee, S. (2005). Effects of short daily versus conventional hemodialysis on left ventricular hypertrophy and inflammatory markers: a prospective, controlled study. *J Am Soc Nephrol*, 16(9), 2778-2788. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005040392>
- Azizi, M., Iturrioz, X., Blanchard, A., Peyrard, S., De Mota, N., Chartrel, N., . . . Llorens-Cortes, C. (2008). Reciprocal regulation of plasma apelin and vasopressin by osmotic stimuli. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 19(5), 1015.
- Azizi, Y., Faghihi, M., Imani, A., Roghani, M., & Nazari, A. (2013). Post-infarct treatment with [Pyr1]-apelin-13 reduces myocardial damage through reduction of oxidative injury and nitric oxide enhancement in the rat model of myocardial infarction. *Peptides*, 46, 76-82.
- Baboolal, K., & Meyer, T. W. (1994). The effect of acute angiotensin II blockade on

- renal function in rats with reduced renal mass. *Kidney Int*, 46(4), 980-985. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.357>
- Bai, B., Tang, J., Liu, H., Chen, J., Li, Y., & Song, W. (2008). Apelin-13 induces ERK1/2 but not p38 MAPK activation through coupling of the human apelin receptor to the Gi2 pathway. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 40(4), 311-318. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2008.00403.x>
- Becker, B. N., Yasuda, T., Kondo, S., Vaikunth, S., Homma, T., & Harris, R. C. (1998). Mechanical stretch/relaxation stimulates a cellular renin-angiotensin system in cultured rat mesangial cells. *Exp Nephrol*, 6(1), 57-66. <https://doi.org/10.1159/000020505>
- Bello, A. K., Alrukhaimi, M., Ashuntantang, G. E., Basnet, S., Rotter, R. C., Douthat, W. G., . . . Moe, O. (2017). Complications of chronic kidney disease: current state, knowledge gaps, and strategy for action. *Kidney Int Suppl (2011)*, 7(2), 122-129. <https://doi.org/10.1016/j.kisu.2017.07.007>
- Benedetto, F. A., Mallamaci, F., Tripepi, G., & Zoccali, C. (2001). Prognostic value of ultrasonographic measurement of carotid intima media thickness in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 12(11), 2458-2464. <https://doi.org/10.1681/ASN.V12112458>
- Benigni, A., Zoja, C., Noris, M., Corna, D., Benedetti, G., Bruzzi, I., . . . Remuzzi, G. (1999). Renoprotection by nitric oxide donor and lisinopril in the remnant kidney model. *Am J Kidney Dis*, 33(4), 746-753. [https://doi.org/10.1016/s0272-6386\(99\)70229-5](https://doi.org/10.1016/s0272-6386(99)70229-5)
- Berry, M. F., Pirolli, T. J., Jayasankar, V., Burdick, J., Morine, K. J., Gardner, T. J., & Woo, Y. J. (2004). Apelin has in vivo inotropic effects on normal and failing hearts. *Circulation*, 110(11 Suppl 1), II187-193. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000138382.57325.5c>
- Bidani, A. K., Schwartz, M. M., & Lewis, E. J. (1987). Renal autoregulation and vulnerability to hypertensive injury in remnant kidney. *Am J Physiol*, 252(6 Pt 2), F1003-1010. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1987.252.6.F1003>
- Bircan, B., Çakır, M., Kırbağ, S., & Gül, H. F. (2016). Effect of apelin hormone on renal ischemia/reperfusion induced oxidative damage in rats. *Renal failure*, 38(7), 1122-1128.

- Blacher, J., Pannier, B., Guerin, A. P., Marchais, S. J., Safar, M. E., & London, G. M. (1998). Carotid arterial stiffness as a predictor of cardiovascular and all-cause mortality in end-stage renal disease. *Hypertension*, 32(3), 570-574. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.32.3.570>
- Blanchard, A., Steichen, O., De Mota, N., Curis, E., Gauci, C., Frank, M., . . . Azizi, M. (2013). An abnormal apelin/vasopressin balance may contribute to water retention in patients with the syndrome of inappropriate antidiuretic hormone (SIADH) and heart failure. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(5), 2084-2089.
- Bo, Y., & Yuan, L. P. (2012). Glomerular expression of apelin and its association with proteinuria. *Indian J Pediatr*, 79(8), 1028-1032. <https://doi.org/10.1007/s12098-011-0605-8>
- Boulkeroua, C., Ayari, H., Khalfaoui, T., Lafrance, M., Besserer-Offroy, É., Ekindi, N., . . . Sarret, P. (2019). Apelin-13 regulates vasopressin-induced aquaporin-2 expression and trafficking in kidney collecting duct cells. *Cell Physiol Biochem*, 53(4), 687-700.
- Boyd, N. L., Park, H., Yi, H., Boo, Y. C., Sorescu, G. P., Sykes, M., & Jo, H. (2003). Chronic shear induces caveolae formation and alters ERK and Akt responses in endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 285(3), H1113-1122. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00302.2003>
- Brame, A. L., Maguire, J. J., Yang, P., Dyson, A., Torella, R., Cheriyan, J., . . . Davenport, A. P. (2015). Design, characterization, and first-in-human study of the vascular actions of a novel biased apelin receptor agonist. *Hypertension*, 65(4), 834-840.
- Brenner, B. M., Cooper, M. E., De Zeeuw, D., Keane, W. F., Mitch, W. E., Parving, H.-H., . . . Shahinfar, S. (2001). Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *New England journal of medicine*, 345(12), 861-869.
- Briet, M., Bozec, E., Laurent, S., Fassot, C., London, G. M., Jacquot, C., . . . Boutouyrie, P. (2006). Arterial stiffness and enlargement in mild-to-moderate chronic kidney disease. *Kidney Int*, 69(2), 350-357. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000047>

- Bright, R. (1827). *Reports of medical cases: Selected with a view of illustrating the symptoms and cure of diseases by a reference to morbid anatomy* (Vol. 2). Richard Taylor, Red Lion Court, Fleet Street.
- Buege, J. A., & Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(78\)52032-6](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(78)52032-6)
- Burton, J. O., Jefferies, H. J., Selby, N. M., & McIntyre, C. W. (2009). Hemodialysis-induced repetitive myocardial injury results in global and segmental reduction in systolic cardiac function. *Clin J Am Soc Nephrol*, 4(12), 1925-1931. <https://doi.org/10.2215/CJN.04470709>
- Cannella, G., Paoletti, E., Delfino, R., Peloso, G., Rolla, D., & Molinari, S. (1997). Prolonged therapy with ACE inhibitors induces a regression of left ventricular hypertrophy of dialyzed uremic patients independently from hypotensive effects. *Am J Kidney Dis*, 30(5), 659-664. [https://doi.org/10.1016/s0272-6386\(97\)90490-x](https://doi.org/10.1016/s0272-6386(97)90490-x)
- Capasso, G., Di Gennaro, C. I., Della Ragione, F., Manna, C., Ciarcia, R., Florio, S., . . . Zappia, V. (2008). In vivo effect of the natural antioxidant hydroxytyrosol on cyclosporine nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant*, 23(4), 1186-1195. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfm784>
- Chamberlain, R. M., & Shirley, D. G. (2007). Time course of the renal functional response to partial nephrectomy: measurements in conscious rats. *Exp Physiol*, 92(1), 251-262. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2006.034751>
- Chapman, F. A., Nyimanu, D., Maguire, J. J., Davenport, A. P., Newby, D. E., & Dhaun, N. (2021). The therapeutic potential of apelin in kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*, 17(12), 840-853.
- Chen, C. S., Tan, J., & Tien, J. (2004). Mechanotransduction at cell-matrix and cell-cell contacts. *Annu Rev Biomed Eng*, 6, 275-302. <https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140040>
- Chen, D., Lee, J., Gu, X., Wei, L., & Yu, S. P. (2015). Intranasal delivery of apelin-13 is neuroprotective and promotes angiogenesis after ischemic stroke in mice. *ASN neuro*, 7(5), 1759091415605114.
- Chen, H., Li, J., Jiao, L., Petersen, R. B., Li, J., Peng, A., . . . Huang, K. (2014). Apelin inhibits the development of diabetic nephropathy by regulating histone

- acetylation in Akita mouse. *The Journal of physiology*, 592(3), 505-521.
- Chen, H., Wan, D., Wang, L., Peng, A., Xiao, H., Petersen, R. B., . . . Huang, K. (2015). Apelin protects against acute renal injury by inhibiting TGF- β 1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1852(7), 1278-1287.
- Chen, H., Wang, L., Wang, W., Cheng, C., Zhang, Y., Zhou, Y., . . . Wang, C. (2017). ELABELA and an ELABELA fragment protect against AKI. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 28(9), 2694.
- Chen, T. K., Knicely, D. H., & Grams, M. E. (2019). Chronic Kidney Disease Diagnosis and Management: A Review. *JAMA*, 322(13), 1294-1304. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.14745>
- Chen, T. K., Knicely, D. H., & Grams, M. E. (2019). Chronic kidney disease diagnosis and management: a review. *Jama*, 322(13), 1294-1304.
- Chen, Z., Wu, D., Li, L., & Chen, L. (2016). Apelin/APJ System: A Novel Therapeutic Target for Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. *DNA Cell Biol*, 35(12), 766-775. <https://doi.org/10.1089/dna.2016.3391>
- Chng, S. C., Ho, L., Tian, J., & Reversade, B. (2013). ELABELA: a hormone essential for heart development signals via the apelin receptor. *Dev Cell*, 27(6), 672-680. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.11.002>
- Chun, H., Ali, Z., Kojima, Y., Kundu, R., Sheikh, A., Agrawal, R., . . . Leeper, N. (2008). Pearl 606 NE, Patterson AJ, Anderson JP, Tsao PS, Lenardo MJ, Ashley EA, Quertermous T. Apelin 607 signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J Clin Invest*, 608(118), 3343-3354.
- Chun, H. J., Ali, Z. A., Kojima, Y., Kundu, R. K., Sheikh, A. Y., Agrawal, R., . . . Quertermous, T. (2008). Apelin signaling antagonizes Ang II effects in mouse models of atherosclerosis. *J Clin Invest*, 118(10), 3343-3354. <https://doi.org/10.1172/JCI34871>
- Chung, W. J., Cho, A., Byun, K., Moon, J., Ge, X., Seo, H. S., . . . Yang, P. C. (2016). Apelin-13 infusion salvages the peri-infarct region to preserve cardiac function after severe myocardial injury. *Int J Cardiol*, 222, 361-367. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.07.263>
- Coresh, J., Hu, J.-R., Bello, A. K., Feldman, H. I., Fogo, A. B., Ganji, M. R., . . .

- Stengel, B. (2017). Action plan for determining and monitoring the prevalence of chronic kidney disease. *Kidney international supplements*, 7(2), 63-70.
- Cox, C. M., D'Agostino, S. L., Miller, M. K., Heimark, R. L., & Krieg, P. A. (2006). Apelin, the ligand for the endothelial G-protein-coupled receptor, APJ, is a potent angiogenic factor required for normal vascular development of the frog embryo. *Developmental biology*, 296(1), 177-189.
- Daviaud, D., Boucher, J., Gesta, S., Dray, C., Guigne, C., Quilliot, D., . . . Ziegler, O. (2006). Carpine 618 C, Saulnier-Blache JS, Valet P, and Castan-Laurell I. TNFalpha up-regulates apelin expression 619 in human and mouse adipose tissue. *FASEB J*, 20(1528-1530), 620.
- Day, R. T., Cavaglieri, R. C., & Feliers, D. (2013). Apelin retards the progression of diabetic nephropathy. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 304(6), F788-F800.
- De Mota, N., Lenkei, Z., & Llorens-Cortès, C. (2000). Cloning, pharmacological characterization and brain distribution of the rat apelin receptor. *Neuroendocrinology*, 72(6), 400-407. <https://doi.org/10.1159/000054609>
- De Mota, N., Reaux-Le Goazigo, A., El Messari, S., Chartrel, N., Roesch, D., Dujardin, C., . . . Llorens-Cortes, C. (2004). Apelin, a potent diuretic neuropeptide counteracting vasopressin actions through inhibition of vasopressin neuron activity and vasopressin release. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(28), 10464-10469. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403518101>
- Debelle, F. D., Nortier, J. L., De Prez, E. G., Garbar, C. H., Vienne, A. R., Salmon, I. J., . . . Vanherweghem, J. L. (2002). Aristolochic acids induce chronic renal failure with interstitial fibrosis in salt-depleted rats. *J Am Soc Nephrol*, 13(2), 431-436. <https://doi.org/10.1681/ASN.V132431>
- Deng, C., Chen, H., Yang, N., Feng, Y., & Hsueh, A. J. (2015). Apela regulates fluid homeostasis by binding to the APJ receptor to activate Gi signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 290(30), 18261-18268.
- Desmoulière, A., Chaponnier, C., & Gabbiani, G. (2005). Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound repair and regeneration*, 13(1), 7-12.
- Dinarello, C. A. (2000). The role of the interleukin-1-receptor antagonist in blocking inflammation mediated by interleukin-1. *N Engl J Med*, 343(10), 732-734.

<https://doi.org/10.1056/NEJM200009073431011>

- Dworkin, L. D., Hostetter, T. H., Rennke, H. G., & Brenner, B. M. (1984). Hemodynamic basis for glomerular injury in rats with desoxycorticosterone-salt hypertension. *J Clin Invest*, 73(5), 1448-1461. <https://doi.org/10.1172/JCI111349>
- Eddy, A. A., Falk, R. J., Sibley, R. K., & Hostetter, T. H. (1986). Subtotal nephrectomy in the rabbit: a model of chronic hypercalcemia, nephrolithiasis, and obstructive nephropathy. *J Lab Clin Med*, 107(6), 508-516.
- Emsley, A. M., Jeremy, J. Y., Gomes, G. N., Angelini, G. D., & Plane, F. (1999). Investigation of the inhibitory effects of homocysteine and copper on nitric oxide-mediated relaxation of rat isolated aorta. *Br J Pharmacol*, 126(4), 1034-1040. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702374>
- Endemann, D. H., & Schiffrin, E. L. (2004). Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol*, 15(8), 1983-1992. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000132474.50966.DA>
- Endlich, N., Kress, K. R., Reiser, J., Uttenweiler, D., Kriz, W., Mundel, P., & Endlich, K. (2001). Podocytes respond to mechanical stress in vitro. *J Am Soc Nephrol*, 12(3), 413-422. <https://doi.org/10.1681/ASN.V123413>
- Erdely, A., Wagner, L., Muller, V., Szabo, A., & Baylis, C. (2003). Protection of wistar furth rats from chronic renal disease is associated with maintained renal nitric oxide synthase. *J Am Soc Nephrol*, 14(10), 2526-2533. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000086476.48686.7d>
- Eyries, M., Siegfried, G., Ciumas, M., Montagne, K., Agrapart, M., Lebrin, F., & Soubrier, F. (2008). Hypoxia-induced apelin expression regulates endothelial cell proliferation and regenerative angiogenesis. *Circulation research*, 103(4), 432-440.
- Fabris, B., Carretta, R., Fischetti, F., Candido, R., Calci, M., Castellano, M., . . . Campanacci, L. (1995). Contribution of systemic blood pressure to myocardial remodeling in uremic rats. *Hypertension*, 26(2), 321-326.
- Fan, X.-F., Xue, F., Zhang, Y.-Q., Xing, X.-P., Liu, H., Mao, S.-Z., . . . Gong, Y.-S. (2015). The Apelin-APJ axis is an endogenous counterinjury mechanism in experimental acute lung injury. *Chest*, 147(4), 969-978.

- Farkasfalvi, K., Stagg, M. A., Coppen, S. R., Siedlecka, U., Lee, J., Soppa, G. K., . . . Terracciano, C. M. (2007). Direct effects of apelin on cardiomyocyte contractility and electrophysiology. *Biochemical and biophysical research communications*, 357(4), 889-895.
- Fibbi, B., Marroncini, G., Naldi, L., & Peri, A. (2023). The Yin and Yang Effect of the Apelinergic System in Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4745.
- Fischer, C. (2020). A patent review of apelin receptor (APJR) modulators (2014-2019). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 30(4), 251-261.
- Flahault, A., Girault-Sotias, P. E., Keck, M., Alvear-Perez, R., De Mota, N., Estéouille, L., . . . Llorens-Cortes, C. (2021). A metabolically stable apelin-17 analog decreases AVP-induced antidiuresis and improves hyponatremia. *Nat Commun*, 12(1), 305. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20560-y>
- Fleck, C., Appenroth, D., Jonas, P., Koch, M., Kundt, G., Nizze, H., & Stein, G. (2006). Suitability of 5/6 nephrectomy (5/6NX) for the induction of interstitial renal fibrosis in rats--influence of sex, strain, and surgical procedure. *Exp Toxicol Pathol*, 57(3), 195-205. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2005.09.005>
- Fligny, C., Barton, M., & Tharaux, P. L. (2011). Endothelin and podocyte injury in chronic kidney disease. *Contrib Nephrol*, 172, 120-138. <https://doi.org/10.1159/000328692>
- Fogo, A., Yoshida, Y., Glick, A. D., Homma, T., & Ichikawa, I. (1988). Serial micropuncture analysis of glomerular function in two rat models of glomerular sclerosis. *J Clin Invest*, 82(1), 322-330. <https://doi.org/10.1172/JCI113590>
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harnett, J. D., Kent, G. M., Martin, C. J., Murray, D. C., & Barre, P. E. (1995). Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int*, 47(1), 186-192. <https://doi.org/10.1038/ki.1995.22>
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., & Sarnak, M. J. (1998). Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *American Journal of Kidney Diseases*, 32(5), S112-S119.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., & Sarnak, M. J. (1998). Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 9(12 Suppl), S16-23.

- Friedrich, C., Endlich, N., Kriz, W., & Endlich, K. (2006). Podocytes are sensitive to fluid shear stress in vitro. *Am J Physiol Renal Physiol*, 291(4), F856-865. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00196.2005>
- Fries, J. W., Sandstrom, D. J., Meyer, T. W., & Rennke, H. G. (1989). Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. *Lab Invest*, 60(2), 205-218.
- Fukushima, H., Kobayashi, N., Takeshima, H., Koguchi, W., & Ishimitsu, T. (2010). Effects of olmesartan on Apelin/APJ and Akt/endothelial nitric oxide synthase pathway in Dahl rats with end-stage heart failure. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 55(1), 83-88.
- Földes, G., Horkay, F., Szokodi, I., Vuolteenaho, O., Ilves, M., Lindstedt, K. A., . . . Tóth, M. (2003). Circulating and cardiac levels of apelin, the novel ligand of the orphan receptor APJ, in patients with heart failure. *Biochem Biophys Res Commun*, 308(3), 480-485. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)01424-4](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)01424-4)
- Gagnon, R. F., & Duguid, W. P. (1983). A reproducible model for chronic renal failure in the mouse. *Urol Res*, 11(1), 11-14. <https://doi.org/10.1007/BF00272702>
- Gaidt, M. M., Ebert, T. S., Chauhan, D., Schmidt, T., Schmid-Burgk, J. L., Rapino, F., . . . Hornung, V. (2016). Human Monocytes Engage an Alternative Inflammasome Pathway. *Immunity*, 44(4), 833-846. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.012>
- Gansevoort, R. T., Matsushita, K., van der Velde, M., Astor, B. C., Woodward, M., Levey, A. S., . . . Consortium, C. K. D. P. (2011). Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes. A collaborative meta-analysis of general and high-risk population cohorts. *Kidney Int*, 80(1), 93-104. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.531>
- Gerbier, R., Alvear-Perez, R., Margathe, J. F., Flahault, A., Couvineau, P., Gao, J., . . . Llorens-Cortes, C. (2017). Development of original metabolically stable apelin-17 analogs with diuretic and cardiovascular effects. *FASEB J*, 31(2), 687-700. <https://doi.org/10.1096/fj.201600784R>
- Gholampour, F., Bagheri, A., Barati, A., Masoudi, R., & Owji, S. M. (2020). Remote ischemic preconditioning modulates apelin expression after renal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 247, 429-437.

- Gilbert, R. E., Wu, L. L., Kelly, D. J., Cox, A., Wilkinson-Berka, J. L., Johnston, C. I., & Cooper, M. E. (1999). Pathological expression of renin and angiotensin II in the renal tubule after subtotal nephrectomy. Implications for the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis. *Am J Pathol*, 155(2), 429-440. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)65139-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)65139-5)
- Girault-Sotias, P. E., Gerbier, R., Flahault, A., de Mota, N., & Llorens-Cortes, C. (2021). Apelin and Vasopressin: The Yin and Yang of Water Balance. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 12, 735515. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.735515>
- Go, A., Chertow, G., & Fan, D. (2005). Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *Journal of Vascular Surgery*, 41(1), 177.
- Grande, M. T., & López-Novoa, J. M. (2009). Fibroblast activation and myofibroblast generation in obstructive nephropathy. *Nat Rev Nephrol*, 5(6), 319-328. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2009.74>
- Griffin, K. A., Picken, M., & Bidani, A. K. (1994). Radiotelemetric BP monitoring, antihypertensives and glomeruloprotection in remnant kidney model. *Kidney Int*, 46(4), 1010-1018. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.361>
- Gross, M. L., & Ritz, E. (2008). NON-CORONARY HEART DISEASE IN DIALYSIS PATIENTS: Hypertrophy and Fibrosis in the Cardiomyopathy of Uremia—Beyond Coronary Heart Disease. *Seminars in dialysis*,
- Gross, P., Massy, Z. A., Henaut, L., Boudot, C., Cagnard, J., March, C., . . . Six, I. (2015). Para-cresyl sulfate acutely impairs vascular reactivity and induces vascular remodeling. *J Cell Physiol*, 230(12), 2927-2935. <https://doi.org/10.1002/jcp.25018>
- Gruden, G., Zonca, S., Hayward, A., Thomas, S., Maestrini, S., Gnudi, L., & Viberti, G. C. (2000). Mechanical stretch-induced fibronectin and transforming growth factor-beta1 production in human mesangial cells is p38 mitogen-activated protein kinase-dependent. *Diabetes*, 49(4), 655-661. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.4.655>
- Guo, C., Liu, Y., Zhao, W., Wei, S., Zhang, X., Wang, W., & Zeng, X. (2015). Apelin promotes diabetic nephropathy by inducing podocyte dysfunction via

- inhibiting proteasome activities. *Journal of cellular and molecular medicine*, 19(9), 2273-2285.
- Gupta, P., & Barthwal, M. K. (2018). IL-1 β genesis: the art of regulating the regulator. *Cell Mol Immunol*, 15(11), 998-1000. <https://doi.org/10.1038/s41423-018-0054-7>
- Hakim, R. M., Goldszer, R. C., & Brenner, B. M. (1984). Hypertension and proteinuria: long-term sequelae of uninephrectomy in humans. *Kidney Int*, 25(6), 930-936. <https://doi.org/10.1038/ki.1984.112>
- Hamada, Y., Kono, T. N., Moriguchi, Y., Higuchi, M., & Fukagawa, M. (2008). Alteration of mRNA expression of molecules related to iron metabolism in adenine-induced renal failure rats: a possible mechanism of iron deficiency in chronic kidney disease patients on treatment. *Nephrol Dial Transplant*, 23(6), 1886-1891. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfm900>
- Han, S., Wang, G., Qi, X., Lee, H. M., Englander, E. W., & Greeley Jr, G. H. (2008). A possible role for hypoxia-induced apelin expression in enteric cell proliferation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(6), R1832-R1839.
- Harris, R. C., Haralson, M. A., & Badr, K. F. (1992). Continuous stretch-relaxation in culture alters rat mesangial cell morphology, growth characteristics, and metabolic activity. *Lab Invest*, 66(5), 548-554.
- Harris, R. C., Hoover, R. L., Jacobson, H. R., & Badr, K. F. (1988). Evidence for glomerular actions of epidermal growth factor in the rat. *J Clin Invest*, 82(3), 1028-1039. <https://doi.org/10.1172/JCI113659>
- Haylor, J. L., McKillop, I. H., Oldroyd, S. D., & El Nahas, M. A. (2000). IGF-I inhibitors reduce compensatory hyperfiltration in the isolated rat kidney following unilateral nephrectomy. *Nephrol Dial Transplant*, 15(1), 87-92. <https://doi.org/10.1093/ndt/15.1.87>
- Hewitson, T. D., Ono, T., & Becker, G. J. (2009). Small animal models of kidney disease: a review. *Methods Mol Biol*, 466, 41-57. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-352-3_4
- Hirschberg, R., & Kopple, J. D. (1992). The growth hormone-insulin-like growth factor I axis and renal glomerular function. *J Am Soc Nephrol*, 2(9), 1417-1422.

<https://doi.org/10.1681/ASN.V291417>

- Hostetter, T. H., Olson, J. L., Rennke, H. G., Venkatachalam, M. A., & Brenner, B. M. (1981). Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol*, 241(1), F85-93. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1981.241.1.F85>
- Hu, H., He, L., Li, L., & Chen, L. (2016). Apelin/APJ system as a therapeutic target in diabetes and its complications. *Molecular genetics and metabolism*, 119(1-2), 20-27.
- Hurbin, A., Boissin-Agasse, L., Orcel, H., Rabié, A., Joux, N., Desarménien, M. G., . . . Moos, F. C. (1998). The V1a and V1b, but not V2, vasopressin receptor genes are expressed in the supraoptic nucleus of the rat hypothalamus, and the transcripts are essentially colocalized in the vasopressinergic magnocellular neurons. *Endocrinology*, 139(11), 4701-4707. <https://doi.org/10.1210/endo.139.11.6320>
- Hus-Citharel, A., Bodineau, L., Frugière, A., Joubert, F., Bouby, N., & Llorens-Cortes, C. (2014). Apelin counteracts vasopressin-induced water reabsorption via cross talk between apelin and vasopressin receptor signaling pathways in the rat collecting duct. *Endocrinology*, 155(11), 4483-4493.
- Hus-Citharel, A., Bouby, N., Frugière, A., Bodineau, L., Gasc, J. M., & Llorens-Cortes, C. (2008). Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney. *Kidney Int*, 74(4), 486-494. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.199>
- Hutchins, G. M. (1992). Cardiac pathology in chronic renal failure. In *Cardiac Dysfunction in Chronic Uremia* (pp. 85-104). Springer.
- Huwiler, A., Stabel, S., Fabbro, D., & Pfeilschifter, J. (1995). Platelet-derived growth factor and angiotensin II stimulate the mitogen-activated protein kinase cascade in renal mesangial cells: comparison of hypertrophic and hyperplastic agonists. *Biochem J*, 305 (Pt 3)(Pt 3), 777-784. <https://doi.org/10.1042/bj3050777>
- Ichihara, A., Imig, J. D., & Navar, L. G. (1999). Cyclooxygenase-2 modulates afferent arteriolar responses to increases in pressure. *Hypertension*, 34(4 Pt 2), 843-847. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.34.4.843>
- Ichimura, T., Hung, C. C., Yang, S. A., Stevens, J. L., & Bonventre, J. V. (2004).

- Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 286(3), F552-563. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00285.2002>
- Ikizler, T. A. (2008). Nutrition, inflammation and chronic kidney disease. *Current opinion in Nephrology and Hypertension*, 17(2), 162-167.
- Ingram, A. J., James, L., Ly, H., Thai, K., Cai, L., & Scholey, J. W. (2000). Nitric oxide modulates stretch activation of mitogen-activated protein kinases in mesangial cells. *Kidney Int*, 58(3), 1067-1077. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00264.x>
- Ingram, A. J., Ly, H., Thai, K., Kang, M., & Scholey, J. W. (1999). Activation of mesangial cell signaling cascades in response to mechanical strain. *Kidney Int*, 55(2), 476-485. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.00276.x>
- Isaka, Y., Fujiwara, Y., Ueda, N., Kaneda, Y., Kamada, T., & Imai, E. (1993). Glomerulosclerosis induced by in vivo transfection of transforming growth factor-beta or platelet-derived growth factor gene into the rat kidney. *J Clin Invest*, 92(6), 2597-2601. <https://doi.org/10.1172/JCI116874>
- Ishida, J., Hashimoto, T., Hashimoto, Y., Nishiwaki, S., Iguchi, T., Harada, S., . . . Shiota, N. (2004). Regulatory roles for APJ, a seven-transmembrane receptor related to angiotensin-type 1 receptor in blood pressure in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 279(25), 26274-26279.
- Iwanaga, Y., Kihara, Y., Takenaka, H., & Kita, T. (2006). Down-regulation of cardiac apelin system in hypertrophied and failing hearts: Possible role of angiotensin II-angiotensin type 1 receptor system. *J Mol Cell Cardiol*, 41(5), 798-806. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2006.07.004>
- Japp, A., Cruden, N., Barnes, G., Van Gemeren, N., Mathews, J., Adamson, J., . . . Flapan, A. (2010). Acute cardiovascular effects of apelin in humans: potential role in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 121(16), 1818-1827.
- Japp, A. G., & Newby, D. E. (2008). The apelin-APJ system in heart failure: pathophysiologic relevance and therapeutic potential. *Biochemical pharmacology*, 75(10), 1882-1892.
- Jenkins, J. K., Huang, H., Ndebele, K., & Salahudeen, A. K. (2001). Vitamin E inhibits renal mRNA expression of COX II, HO I, TGFbeta, and osteopontin in the rat

- model of cyclosporine nephrotoxicity. *Transplantation*, 71(2), 331-334.
<https://doi.org/10.1097/00007890-200101270-00028>
- Jha, V., Garcia-Garcia, G., Iseki, K., Li, Z., Naicker, S., Plattner, B., . . . Yang, C. W. (2013). Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*, 382(9888), 260-272. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60687-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60687-X)
- Johnson, R. J., Alpers, C. E., Yoshimura, A., Lombardi, D., Pritzl, P., Floege, J., & Schwartz, S. M. (1992). Renal injury from angiotensin II-mediated hypertension. *Hypertension*, 19(5), 464-474.
<https://doi.org/10.1161/01.hyp.19.5.464>
- Jones, C. L., Buch, S., Post, M., McCulloch, L., Liu, E., & Eddy, A. A. (1991). Pathogenesis of interstitial fibrosis in chronic purine aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int*, 40(6), 1020-1031. <https://doi.org/10.1038/ki.1991.310>
- Jones, C. L., Buch, S., Post, M., McCulloch, L., Liu, E., & Eddy, A. A. (1992). Renal extracellular matrix accumulation in acute puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. *Am J Pathol*, 141(6), 1381-1396.
- Kagami, S., Border, W. A., Miller, D. E., & Noble, N. A. (1994). Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor-beta expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest*, 93(6), 2431-2437. <https://doi.org/10.1172/JCI117251>
- Kajimoto, H., Kai, H., Aoki, H., Yasuoka, S., Anegawa, T., Aoki, Y., . . . Imaizumi, T. (2012). Inhibition of eNOS phosphorylation mediates endothelial dysfunction in renal failure: new effect of asymmetric dimethylarginine. *Kidney Int*, 81(8), 762-768. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.476>
- Kasai, A., Shintani, N., Kato, H., Matsuda, S., Gomi, F., Haba, R., . . . Baba, A. (2008). Retardation of retinal vascular development in apelin-deficient mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 28(10), 1717-1722.
- Katoh, T., Takahashi, K., Klahr, S., Reyes, A. A., & Badr, K. F. (1994). Dietary supplementation with L-arginine ameliorates glomerular hypertension in rats with subtotal nephrectomy. *J Am Soc Nephrol*, 4(9), 1690-1694.
<https://doi.org/10.1681/ASN.V491690>
- Katsumi, A., Orr, A. W., Tzima, E., & Schwartz, M. A. (2004). Integrins in mechanotransduction. *J Biol Chem*, 279(13), 12001-12004.

<https://doi.org/10.1074/jbc.R300038200>

- Kaufman, J. M., DiMeola, H. J., Siegel, N. J., Lytton, B., Kashgarian, M., & Hayslett, J. P. (1974). Compensatory adaptation of structure and function following progressive renal ablation. *Kidney Int*, 6(1), 10-17. <https://doi.org/10.1038/ki.1974.72>
- Kawagishi, T., Nishizawa, Y., Konishi, T., Kawasaki, K., Emoto, M., Shoji, T., . . . Morii, H. (1995). High-resolution B-mode ultrasonography in evaluation of atherosclerosis in uremia. *Kidney Int*, 48(3), 820-826. <https://doi.org/10.1038/ki.1995.356>
- Kennedy, D. J., Vetteth, S., Periyasamy, S. M., Kanj, M., Fedorova, L., Khouri, S., . . . Kolodkin, N. I. (2006). Central role for the cardiotonic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy. *Hypertension*, 47(3), 488-495.
- Kidoya, H., Ueno, M., Yamada, Y., Mochizuki, N., Nakata, M., Yano, T., . . . Takakura, N. (2008). Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. *The EMBO journal*, 27(3), 522-534.
- Kleyman, T. R., Kashlan, O. B., & Hughey, R. P. (2018). Epithelial Na. *Annu Rev Physiol*, 80, 263-281. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021317-121143>
- Kocer, D., Karakukcu, C., Ozturk, F., Eroglu, E., & Kocyigit, I. (2016). Evaluation of fibrosis markers: apelin and transforming growth factor- β 1 in autosomal dominant polycystic kidney disease patients. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 20(5), 517-522.
- Kohan, D. E. (2010). Endothelin, hypertension, and chronic kidney disease: New insights. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 19(2), 134.
- Komiya, T., Miura, K., Tsukamoto, J., Okamura, M., Tamada, S., Asai, T., . . . Yoshikawa, J. (2004). Possible involvement of nuclear factor-kappaB inhibition in the renal protective effect of oral adsorbent AST-120 in a rat model of chronic renal failure. *Int J Mol Med*, 13(1), 133-138.
- Kopel, T., Kaufman, J. S., Hamburg, N., Sampalis, J. S., Vita, J. A., & Dember, L. M. (2017). Endothelium-Dependent and -Independent Vascular Function in

- Advanced Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 12(10), 1588-1594. <https://doi.org/10.2215/CJN.12811216>
- Kren, S., & Hostetter, T. H. (1999). The course of the remnant kidney model in mice. *Kidney international*, 56(1), 333-337.
- Kriz, W., & LeHir, M. (2005). Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases-insights from animal models. *Kidney Int*, 67(2), 404-419. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.67097.x>
- Kriz, W., Shirato, I., Nagata, M., LeHir, M., & Lemley, K. V. (2013). The podocyte's response to stress: the enigma of foot process effacement. *Am J Physiol Renal Physiol*, 304(4), F333-347. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00478.2012>
- Kurowska, P., Barbe, A., Różycka, M., Chmielińska, J., Dupont, J., & Rak, A. (2018). Apelin in reproductive physiology and pathology of different species: a critical review. *International journal of endocrinology*, 2018.
- Lacquaniti, A., Chirico, V., Lupica, R., Buemi, A., Loddo, S., Caccamo, C., . . . Buemi, M. (2013). Apelin and copeptin: two opposite biomarkers associated with kidney function decline and cyst growth in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Peptides*, 49, 1-8.
- Lafayette, R. A., Mayer, G., Park, S. K., & Meyer, T. W. (1992). Angiotensin II receptor blockade limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest*, 90(3), 766-771. <https://doi.org/10.1172/JCI115949>
- Lee, D. K., Lança, A. J., Cheng, R., Nguyen, T., Ji, X. D., Gobeil, F., . . . O'Dowd, B. F. (2004). Agonist-independent nuclear localization of the Apelin, angiotensin AT1, and bradykinin B2 receptors. *J Biol Chem*, 279(9), 7901-7908. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306377200>
- Lee, D. K., Saldivia, V. R., Nguyen, T., Cheng, R., George, S. R., & O'Dowd, B. F. (2005). Modification of the terminal residue of apelin-13 antagonizes its hypotensive action. *Endocrinology*, 146(1), 231-236. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0359>
- Leeper, N. J., Tedesco, M. M., Kojima, Y., Schultz, G. M., Kundu, R. K., Ashley, E. A., . . . Quertermous, T. (2009). Apelin prevents aortic aneurysm formation by inhibiting macrophage inflammation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 296(5), H1329-1335. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01341.2008>

- Leeper, N. J., Tedesco, M. M., Kojima, Y., Schultz, G. M., Kundu, R. K., Ashley, E. A., . . . Quatermous, T. (2009). Articles in PresS. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* (March 20, 2009). doi: 10.1152/ajpheart. 01341.2008.
- Leme Goto, P., Cinato, M., Merachli, F., Vons, B., Jimenez, T., Marsal, D., . . . Boal, F. (2020). In vitro and in vivo cardioprotective and metabolic efficacy of vitamin E TPGS/Apelin. *J Mol Cell Cardiol*, 138, 165-174. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.12.001>
- Leskinen, Y., Paana, T., Saha, H., Groundstroem, K., Lehtimäki, T., Kilpinen, S., . . . Airaksinen, J. (2009). Valvular calcification and its relationship to atherosclerosis in chronic kidney disease. *J Heart Valve Dis*, 18(4), 429-438.
- Linden, E., Cai, W., He, J. C., Xue, C., Li, Z., Winston, J., . . . Uribarri, J. (2008). Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease results from advanced glycation end products (AGE)-mediated inhibition of endothelial nitric oxide synthase through RAGE activation. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3(3), 691-698. <https://doi.org/10.2215/CJN.04291007>
- Lindner, A., Charra, B., Sherrard, D. J., & Scribner, B. H. (1974). Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med*, 290(13), 697-701. <https://doi.org/10.1056/NEJM197403282901301>
- Lindner, A., Charra, B., Sherrard, D. J., & Scribner, B. H. (1974). Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *New England Journal of Medicine*, 290(13), 697-701.
- Ling, H., Li, X., Jha, S., Wang, W., Karetskaya, L., Pratt, B., & Ledbetter, S. (2003). Therapeutic role of TGF-beta-neutralizing antibody in mouse cyclosporin A nephropathy: morphologic improvement associated with functional preservation. *J Am Soc Nephrol*, 14(2), 377-388. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000042168.43665.9b>
- Liu, Y., Rajur, K., Tolbert, E., & Dworkin, L. D. (2000). Endogenous hepatocyte growth factor ameliorates chronic renal injury by activating matrix degradation pathways. *Kidney Int*, 58(5), 2028-2043. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2000.00375.x>
- Liu, Y., Zhang, J., Wang, Y., & Zeng, X. (2017). Apelin involved in progression of diabetic nephropathy by inhibiting autophagy in podocytes. *Cell Death &*

Disease, 8(8), e3006-e3006.

- Liu, Z. C., Chow, K. M., & Chang, T. M. (2003). Evaluation of two protocols of uremic rat model: partial nephrectomy and infarction. *Ren Fail*, 25(6), 935-943. <https://doi.org/10.1081/jdi-120026028>
- London, G. (2001). Pathophysiology of cardiovascular damage in the early renal population. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(suppl_2), 3-6.
- London, G. M., De Vernejoul, M. C., Fabiani, F., Marchais, S. J., Guerin, A. P., Metivier, F., . . . Llach, F. (1987). Secondary hyperparathyroidism and cardiac hypertrophy in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 32(6), 900-907. <https://doi.org/10.1038/ki.1987.293>
- London, G. M., Fabiani, F., Marchais, S. J., de Vernejoul, M. C., Guerin, A. P., Safar, M. E., . . . Llach, F. (1987). Uremic cardiomyopathy: an inadequate left ventricular hypertrophy. *Kidney Int*, 31(4), 973-980. <https://doi.org/10.1038/ki.1987.94>
- Lorenz, G., Darisipudi, M. N., & Anders, H. J. (2014). Canonical and non-canonical effects of the NLRP3 inflammasome in kidney inflammation and fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*, 29(1), 41-48. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft332>
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, L., & Randall, R. (1951). The Lowry protein assay. *J. Biol. Chem*, 193, 265-275.
- Lu, Y., Zhu, X., Liang, G. X., Cui, R. R., Liu, Y., Wu, S. S., . . . Liao, E. Y. (2012). Apelin-APJ induces ICAM-1, VCAM-1 and MCP-1 expression via NF- κ B/JNK signal pathway in human umbilical vein endothelial cells. *Amino Acids*, 43(5), 2125-2136. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1298-7>
- Lv, D., Li, H., & Chen, L. (2013). Apelin and APJ, a novel critical factor and therapeutic target for atherosclerosis. *Acta Biochim Biophys Sin*, 45(7), 527-533.
- MacAllister, R. J., Whitley, G. S., & Vallance, P. (1994). Effects of guanidino and uremic compounds on nitric oxide pathways. *Kidney Int*, 45(3), 737-742. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.98>
- Maguire, J. J., Kleinz, M. J., Pitkin, S. L., & Davenport, A. P. (2009). [Pyr1]apelin-13 identified as the predominant apelin isoform in the human heart: vasoactive mechanisms and inotropic action in disease. *Hypertension*, 54(3), 598-604.

<https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134619>

- Mall, G., Rambausek, M., Neumeister, A., Kollmar, S., Vetterlein, F., & Ritz, E. (1988). Myocardial interstitial fibrosis in experimental uremia—implications for cardiac compliance. *Kidney international*, 33(4), 804-811.
- Mao, X.-H., Tao, S., Zhang, X.-H., Li, F., Qin, X.-P., Liao, D.-F., . . . Chen, L.-X. (2011). Apelin-13 promotes monocyte adhesion to human umbilical vein endothelial cell mediated by phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathway. *Prog Biochem Biophys*, 38, 1162-1170.
- Marañón, R. O., Joo Turoni, C., Karbinder, M. S., Salas, N., & Peral de Bruno, M. (2013). Antioxidant treatment reverts increased arterial Basal tone and oxidative stress in nephrectomized (5/6) hypertensive rats. *Int J Hypertens*, 2013, 863067. <https://doi.org/10.1155/2013/863067>
- Maschio, G., Alberti, D., Janin, G., Locatelli, F., Mann, J. F., Motolese, M., . . . Group, A.-C. E. I. i. P. R. I. S. (1996). Effect of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency. *New England Journal of Medicine*, 334(15), 939-945.
- Masri, B., Lahlou, H., Mazarguil, H., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2002). Apelin (65-77) activates extracellular signal-regulated kinases via a PTX-sensitive G protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 290(1), 539-545. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.6230>
- Masri, B., Morin, N., Cornu, M., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2004). Apelin (65-77) activates p70 S6 kinase and is mitogenic for umbilical endothelial cells. *FASEB J*, 18(15), 1909-1911. <https://doi.org/10.1096/fj.04-1930fje>
- Massy, Z. A., Ivanovski, O., Nguyen-Khoa, T., Angulo, J., Szumilak, D., Mothu, N., . . . Muntzel, M. S. (2005). Uremia accelerates both atherosclerosis and arterial calcification in apolipoprotein E knockout mice. *J Am Soc Nephrol*, 16(1), 109-116. <https://doi.org/10.1681/ASN.2004060495>
- Matsui, I., Hamano, T., Mikami, S., Fujii, N., Takabatake, Y., Nagasawa, Y., . . . Isaka, Y. (2009). Fully phosphorylated fetuin-A forms a mineral complex in the serum of rats with adenine-induced renal failure. *Kidney Int*, 75(9), 915-928. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.700>
- Matsumoto, T., Takayanagi, K., Kojima, M., Taguchi, K., & Kobayashi, T. (2019).

- Acute Exposure to Indoxyl Sulfate Impairs Endothelium-Dependent Vasorelaxation in Rat Aorta. *Int J Mol Sci*, 20(2). <https://doi.org/10.3390/ijms20020338>
- Menon, V., Gul, A., & Sarnak, M. J. (2005). Cardiovascular risk factors in chronic kidney disease. *Kidney international*, 68(4), 1413-1418.
- Meyer, T. W., & Rennke, H. G. (1988). Progressive glomerular injury after limited renal infarction in the rat. *Am J Physiol*, 254(6 Pt 2), F856-862. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1988.254.6.F856>
- Mihout, F., Shweke, N., Bigé, N., Jouanneau, C., Dussaule, J. C., Ronco, P., . . . Boffa, J. J. (2011). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) induces chronic kidney disease through a mechanism involving collagen and TGF- β 1 synthesis. *J Pathol*, 223(1), 37-45. <https://doi.org/10.1002/path.2769>
- Modlinger, P. S., Wilcox, C. S., & Aslam, S. (2004). Nitric oxide, oxidative stress, and progression of chronic renal failure. *Semin Nephrol*, 24(4), 354-365. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2004.04.007>
- Moody, W. E., Edwards, N. C., Madhani, M., Chue, C. D., Steeds, R. P., Ferro, C. J., & Townend, J. N. (2012). Endothelial dysfunction and cardiovascular disease in early-stage chronic kidney disease: cause or association? *Atherosclerosis*, 223(1), 86-94. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.043>
- Morena, M., Cristol, J.-P., Senécal, L., Leray-Moragues, H., Krieter, D., & Canaud, B. (2002). Oxidative stress in hemodialysis patients: is NADPH oxidase complex the culprit? *Kidney International*, 61, S109-S114.
- Mori-Kawabe, M., Yasuda, Y., Ito, M., & Matsuo, S. (2015). Reduction of NO-mediated Relaxing Effects in the Thoracic Aorta in an Experimental Chronic Kidney Disease Mouse Model. *J Atheroscler Thromb*, 22(8), 845-853. <https://doi.org/10.5551/jat.28191>
- Morris, S. T., McMurray, J. J., Rodger, R. S., & Jardine, A. G. (2000). Impaired endothelium-dependent vasodilatation in uraemia. *Nephrol Dial Transplant*, 15(8), 1194-1200. <https://doi.org/10.1093/ndt/15.8.1194>
- Müller, T., Kalea, A. Z., Marquez, A., Hsieh, I., Haque, S., Ye, M., . . . Batlle, D. (2018). Apelinergic system in the kidney: implications for diabetic kidney disease. *Physiological reports*, 6(23), e13939.

- Najafipour, H., Hekmat, A. S., Nekooian, A. A., & Esmaeili-Mahani, S. (2012). Apelin receptor expression in ischemic and non-ischemic kidneys and cardiovascular responses to apelin in chronic two-kidney–one-clip hypertension in rats. *Regulatory peptides*, 178(1-3), 43-50.
- Naseem, K. M. (2005). The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med*, 26(1-2), 33-65. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2004.09.003>
- Nath, K. A., Chmielewski, D. H., & Hostetter, T. H. (1987). Regulatory role of prostanooids in glomerular microcirculation of remnant nephrons. *Am J Physiol*, 252(5 Pt 2), F829-837. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1987.252.5.F829>
- Nishida, M., Okumura, Y., Oka, T., Toiyama, K., Ozawa, S., Itoi, T., & Hamaoka, K. (2012). The role of apelin on the alleviative effect of Angiotensin receptor blocker in unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Nephron Extra*, 2(1), 39-47.
- Nishizawa, Y., Shoji, T., Maekawa, K., Nagasue, K., Okuno, S., Kim, M., . . . Inaba, M. (2003). Intima-media thickness of carotid artery predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 41(3 Suppl 1), S76-79. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2003.50090>
- Nogueira, A., Pires, M. J., & Oliveira, P. A. (2017). Pathophysiological mechanisms of renal fibrosis: a review of animal models and therapeutic strategies. *In vivo*, 31(1), 1-22.
- NoRIs, M., Benigni, A., Boccardo, P., Aiello, S., Gaspari, F., Todeschini, M., . . . Remuzzi, G. (1993). Enhanced nitric oxide synthesis in uremia: implications for platelet dysfunction and dialysis hypotension. *Kidney international*, 44(2), 445-450.
- Nyengaard, J. R. (1993). Number and dimensions of rat glomerular capillaries in normal development and after nephrectomy. *Kidney Int*, 43(5), 1049-1057. <https://doi.org/10.1038/ki.1993.147>
- Nyimanu, D., Chapman, F. A., Gallacher, P. J., Kuc, R. E., Williams, T. L., Newby, D. E., . . . Dhaun, N. (2022). Apelin is expressed throughout the human kidney, is elevated in chronic kidney disease & associates independently with decline in kidney function. *Br J Clin Pharmacol*, 88(12), 5295-5306. <https://doi.org/10.1111/bcp.15446>

- O'Carroll, A. M., & Lolait, S. J. (2003). Regulation of rat APJ receptor messenger ribonucleic acid expression in magnocellular neurones of the paraventricular and supraoptic nuclei by osmotic stimuli. *J Neuroendocrinol*, 15(7), 661-666. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.01044.x>
- O'Dowd, B. F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H. H., Tsui, L.-C., Kennedy, J. L., . . . Nguyen, T. (1993). A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*, 136(1-2), 355-360.
- Ogbadu, J., Singh, G., & Aggarwal, D. (2019). Factors affecting the transition of acute kidney injury to chronic kidney disease: Potential mechanisms and future perspectives. *Eur J Pharmacol*, 865, 172711. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172711>
- Ohashi, R., Nakagawa, T., Watanabe, S., Kanellis, J., Almiraz, R. G., Schreiner, G. F., & Johnson, R. J. (2004). Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase augments progression of remnant kidney model by activating the ERK pathway. *Am J Pathol*, 164(2), 477-485. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63138-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63138-0)
- Oldroyd, S. D., Miyamoto, Y., Moir, A., Johnson, T. S., El Nahas, A. M., & Haylor, J. L. (2006). An IGF-I antagonist does not inhibit renal fibrosis in the rat following subtotal nephrectomy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 290(3), F695-702. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00058.2005>
- Olivetti, G., Anversa, P., Melissari, M., & Loud, A. V. (1980). Morphometry of the renal corpuscle during postnatal growth and compensatory hypertrophy. *Kidney Int*, 17(4), 438-454. <https://doi.org/10.1038/ki.1980.52>
- Olson, J. L., Hostetter, T. H., Rennke, H. G., Brenner, B. M., & Venkatachalam, M. A. (1982). Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. *Kidney Int*, 22(2), 112-126. <https://doi.org/10.1038/ki.1982.143>
- Ortega, A., Rámila, D., Ardura, J. A., Esteban, V., Ruiz-Ortega, M., Barat, A., . . . Esbrit, P. (2006). Role of parathyroid hormone-related protein in tubulointerstitial apoptosis and fibrosis after folic acid-induced nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol*, 17(6), 1594-1603.

<https://doi.org/10.1681/ASN.2005070690>

- Ots, M., Mackenzie, H. S., Troy, J. L., Rennke, H. G., & Brenner, B. M. (1998). Effects of combination therapy with enalapril and losartan on the rate of progression of renal injury in rats with 5/6 renal mass ablation. *J Am Soc Nephrol*, 9(2), 224-230. <https://doi.org/10.1681/ASN.V92224>
- Parving, H. H., Lehnert, H., Bröchner-Mortensen, J., Gomis, R., Andersen, S., Arner, P., & Group, I. i. P. w. T. D. a. M. S. (2001). The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 345(12), 870-878. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011489>
- Pchejetski, D., Foussal, C., Alfarano, C., Lairez, O., Calise, D., Guilbeau-Frugier, C., . . . Valet, P. (2012). Apelin prevents cardiac fibroblast activation and collagen production through inhibition of sphingosine kinase 1. *European heart journal*, 33(18), 2360-2369.
- Perez-Ruiz, L., Ros-Lopez, S., Cardús, A., Fernandez, E., & Valdivielso, J. M. (2006). A forgotten method to induce experimental chronic renal failure in the rat by ligation of the renal parenchyma. *Nephron Exp Nephrol*, 103(3), e126-130. <https://doi.org/10.1159/000092198>
- Perjés, Á., Skoumal, R., Tenhunen, O., Kónyi, A., Simon, M., Horváth, I. G., . . . Szokodi, I. (2014). Apelin increases cardiac contractility via protein kinase C ϵ - and extracellular signal-regulated kinase-dependent mechanisms. *PloS one*, 9(4), e93473.
- Pichler, R. H., Franceschini, N., Young, B. A., Hugo, C., Andoh, T. F., Burdmann, E. A., . . . Couser, W. G. (1995). Pathogenesis of cyclosporine nephropathy: roles of angiotensin II and osteopontin. *J Am Soc Nephrol*, 6(4), 1186-1196. <https://doi.org/10.1681/ASN.V641186>
- Pieper, G. M. (1997). Acute amelioration of diabetic endothelial dysfunction with a derivative of the nitric oxide synthase cofactor, tetrahydrobiopterin. *J Cardiovasc Pharmacol*, 29(1), 8-15. <https://doi.org/10.1097/00005344-199701000-00002>
- Pippin, J. W., Brinkkoetter, P. T., Cormack-Aboud, F. C., Durvasula, R. V., Hauser, P. V., Kowalewska, J., . . . Shankland, S. J. (2009). Inducible rodent models of acquired podocyte diseases. *Am J Physiol Renal Physiol*, 296(2), F213-229.

<https://doi.org/10.1152/ajprenal.90421.2008>

- Pisarenko, O., Shulzhenko, V., Studneva, I., Pelogeykina, Y., Timoshin, A., Anesia, R., . . . Kunduzova, O. (2015). Structural apelin analogues: mitochondrial ROS inhibition and cardiometabolic protection in myocardial ischaemia reperfusion injury. *British Journal of Pharmacology*, 172(12), 2933-2945.
- Pitkin, S. L., Maguire, J. J., Kuc, R. E., & Davenport, A. P. (2010). Modulation of the apelin/APJ system in heart failure and atherosclerosis in man. *Br J Pharmacol*, 160(7), 1785-1795. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00821.x>
- Principe, A., Melgar-Lesmes, P., Fernández-Varo, G., del Arbol, L. R., Ros, J., Morales-Ruiz, M., . . . Jiménez, W. (2008). The hepatic apelin system: a new therapeutic target for liver disease. *Hepatology*, 48(4), 1193-1201.
- Raij, L., Azar, S., & Keane, W. (1984). Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats. *Kidney international*, 26(2), 137-143.
- Raine, A., Seymour, A., Roberts, A., Radda, G., & Ledingham, J. (1993). Impairment of cardiac function and energetics in experimental renal failure. *The Journal of clinical investigation*, 92(6), 2934-2940.
- Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasaiah, U., . . . Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and human diseases. *Clinica chimica acta*, 436, 332-347.
- Rambašek, M., Ritz, E., Mall, G., Mehls, O., & Katus, H. (1985). Myocardial hypertrophy in rats with renal insufficiency. *Kidney Int*, 28(5), 775-782. <https://doi.org/10.1038/ki.1985.197>
- Rambašek, M., Ritz, E., Mall, G., Mehls, O., & Katus, H. (1985). Myocardial hypertrophy in rats with renal insufficiency. *Kidney international*, 28(5), 775-782.
- Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., . . . Llorens-Cortès, C. (2001). Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. *Journal of neurochemistry*, 77(4), 1085-1096.
- Reichenbach, V., Ros, J., Fernandez-Varo, G., Casals, G., Melgar-Lesmes, P., Campos, T., . . . Jimenez, W. (2012). Prevention of fibrosis progression in CCl4-treated rats: role of the hepatic endocannabinoid and apelin systems.

- Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 340(3), 629-637.
- Riser, B. L., Cortes, P., Zhao, X., Bernstein, J., Dumler, F., & Narins, R. G. (1992). Intraglomerular pressure and mesangial stretching stimulate extracellular matrix formation in the rat. *J Clin Invest*, 90(5), 1932-1943. <https://doi.org/10.1172/JCI116071>
- Ritz, E., Orth, S., Weinreich, T., & Wagner, J. (1994). Systemic hypertension versus intraglomerular hypertension in progression. *Kidney international*, 45(2), 438-442.
- Robertson, J. L., Goldschmidt, M., Kronfeld, D. S., Tomaszewski, J. E., Hill, G. S., & Bovee, K. C. (1986). Long-term renal responses to high dietary protein in dogs with 75% nephrectomy. *Kidney Int*, 29(2), 511-519. <https://doi.org/10.1038/ki.1986.29>
- Rogers, S. A., Miller, S. B., & Hammerman, M. R. (1993). Enhanced renal IGF-I expression following partial kidney infarction. *Am J Physiol*, 264(6 Pt 2), F963-967. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1993.264.6.F963>
- Romagnani, P., Remuzzi, G., Glassock, R., Levin, A., Jager, K. J., Tonelli, M., . . . Anders, H. J. (2017). Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers*, 3, 17088. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.88>
- Ronkainen, V. P., Ronkainen, J. J., Hänninen, S. L., Leskinen, H., Ruas, J. L., Pereira, T., . . . Tavi, P. (2007). Hypoxia inducible factor regulates the cardiac expression and secretion of apelin. *The FASEB Journal*, 21(8), 1821-1830.
- Sabry, M. M., Mahmoud, M. M., Shoukry, H. S., Rashed, L., Kamar, S. S., & Ahmed, M. M. (2019). Interactive effects of apelin, renin–angiotensin system and nitric oxide in treatment of obesity-induced type 2 diabetes mellitus in male albino rats. *Archives of physiology and biochemistry*, 125(3), 244-254.
- Saint-Geniez, M., Masri, B., Malecaze, F., Knibiehler, B., & Audigier, Y. (2002). Expression of the murine msr/apj receptor and its ligand apelin is upregulated during formation of the retinal vessels. *Mech Dev*, 110(1-2), 183-186. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(01\)00558-5](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(01)00558-5)
- Sakai, N., Wada, T., Yokoyama, H., Lipp, M., Ueha, S., Matsushima, K., & Kaneko, S. (2006). Secondary lymphoid tissue chemokine (SLC/CCL21)/CCR7 signaling regulates fibrocytes in renal fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*,

- 103(38), 14098-14103. <https://doi.org/10.1073/pnas.0511200103>
- Sanchez, P. L., Salgado, L. M., Ferreri, N. R., & Escalante, B. (1999). Effect of cyclooxygenase-2 inhibition on renal function after renal ablation. *Hypertension*, 34(4 Pt 2), 848-853. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.34.4.848>
- Saran, R., Robinson, B., Abbott, K. C., Agodoa, L. Y., Bhav, N., Bragg-Gresham, J., . . . Eggers, P. W. (2018). US renal data system 2017 annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States. *American Journal of Kidney Diseases*, 71(3), A7.
- Sato, T., Suzuki, T., Watanabe, H., Kadowaki, A., Fukamizu, A., Liu, P. P., . . . Kuba, K. (2013). Apelin is a positive regulator of ACE2 in failing hearts. *J Clin Invest*, 123(12), 5203-5211. <https://doi.org/10.1172/JCI69608>
- SAĞIROĞLU, T., Serhat, O., SAĞIROĞLU, G., Yalta, T., Çopuroğlu, E., Sayhan, M. B., & YAĞCI, M. A. (2012). The effects of apelin on mesenteric ischemia and reperfusion damage in an experimental rat model. *Balkan medical journal*, 2012(2), 148-152.
- Schiller, B., & Moran, J. (1997). Focal glomerulosclerosis in the remnant kidney model--an inflammatory disease mediated by cytokines. *Nephrol Dial Transplant*, 12(3), 430-437. <https://doi.org/10.1093/ndt/12.3.430>
- Schmidt, R. J., Domico, J., Samsell, L. S., Yokota, S., Tracy, T. S., Sorkin, M. I., . . . Baylis, C. (1999). Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 34(2), 228-234. <https://doi.org/10.1053/AJKD03400228>
- Schmidt, R. J., Yokota, S., Tracy, T. S., Sorkin, M. I., & Baylis, C. (1999). Nitric oxide production is low in end-stage renal disease patients on peritoneal dialysis. *Am J Physiol*, 276(5), F794-797. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1999.276.5.F794>
- Schwarz, U., Buzello, M., Ritz, E., Stein, G., Raabe, G., Wiest, G., . . . Amann, K. (2000). Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 15(2), 218-223. <https://doi.org/10.1093/ndt/15.2.218>
- SeyAhi, N., Ateş, K., & Süleymanlar, G. (2018). Türkiye’de Renal Replasman Tedavilerinin Güncel Durumu: Türk Nefroloji Derneği Kayıt Sistemi 2016 Yılı Özet Raporu. Current Status of Renal Replacement Therapies in Turkey:

- Summary of Turkish Society of Nephrology Registry 2016 Report. *Türk Nefroloji, Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 27(2), 133-139.
- Shankland, S. J., Ly, H., Thai, K., & Scholey, J. W. (1994). Increased glomerular capillary pressure alters glomerular cytokine expression. *Circ Res*, 75(5), 844-853. <https://doi.org/10.1161/01.res.75.5.844>
- Sharma, M., Zhou, Z., Miura, H., Papapetropoulos, A., McCarthy, E. T., Sharma, R., . . . Lianos, E. A. (2009). ADMA injures the glomerular filtration barrier: role of nitric oxide and superoxide. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 296(6), F1386-F1395.
- Shea, S. M., Raskova, J., & Morrison, A. B. (1978). A stereologic study of glomerular hypertrophy in the subtotaly nephrectomized rat. *Am J Pathol*, 90(1), 201-210.
- Shimamura, T., & Morrison, A. B. (1975). A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths nephrectomized rats. *Am J Pathol*, 79(1), 95-106.
- Shobeiri, N., Adams, M. A., & Holden, R. M. (2010). Vascular calcification in animal models of CKD: A review. *Am J Nephrol*, 31(6), 471-481. <https://doi.org/10.1159/000299794>
- Siddiquee, K., Hampton, J., Khan, S., Zadory, D., Gleaves, L., Vaughan, D. E., & Smith, L. H. (2011). Apelin protects against angiotensin II-induced cardiovascular fibrosis and decreases PAI-1 production. *Journal of hypertension*, 29(4), 724.
- Siddiquee, K., Hampton, J., McAnally, D., May, L., & Smith, L. (2013). The apelin receptor inhibits the angiotensin II type 1 receptor via allosteric trans-inhibition. *Br J Pharmacol*, 168(5), 1104-1117. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02192.x>
- Siragy, H. M., & Carey, R. M. (2010). Role of the intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease. *Am J Nephrol*, 31(6), 541-550. <https://doi.org/10.1159/000313363>
- Su, Y., Mao, N., Li, M., Dong, X., Lin, F. Z., Xu, Y., & Li, Y. B. (2013). KB-R7943 restores endothelium-dependent relaxation induced by advanced glycosylation end products in rat aorta. *J Diabetes Complications*, 27(1), 6-10. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.08.007>
- Szabo, A. J., Muller, V., Chen, G. F., Samsell, L. J., Erdely, A., & Baylis, C. (2008).

- Nephron number determines susceptibility to renal mass reduction-induced CKD in Lewis and Fisher 344 rats: implications for development of experimentally induced chronic allograft nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 23(8), 2492-2495. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn112>
- Szokodi, I., Tavi, P., Földes, G. b., Voutilainen-Myllylä, S., Ilves, M., Tokola, H., . . . Tóth, M. (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circulation research*, 91(5), 434-440.
- Szokodi, I., Tavi, P., Földes, G., Voutilainen-Myllylä, S., Ilves, M., Tokola, H., . . . Ruskoaho, H. (2002). Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility. *Circ Res*, 91(5), 434-440. <https://doi.org/10.1161/01.res.0000033522.37861.69>
- Süleymanlar, G., Utaş, C., Arinsoy, T., Ateş, K., Altun, B., Altiparmak, M. R., . . . Serdengeçti, K. (2011). A population-based survey of Chronic RENal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrol Dial Transplant*, 26(6), 1862-1871. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq656>
- Taal, M. W., & Brenner, B. M. (2000). Renoprotective benefits of RAS inhibition: from ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney international*, 57(5), 1803-1817.
- Taal, M. W., Zandi-Nejad, K., Weening, B., Shahsafaei, A., Kato, S., Lee, K. W., . . . MacKenzie, H. S. (2000). Proinflammatory gene expression and macrophage recruitment in the rat remnant kidney. *Kidney Int*, 58(4), 1664-1676. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2000.00327.x>
- Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M. X., . . . Fujino, M. (1998). Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 251(2), 471-476. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9489>
- Tatemoto, K., Takayama, K., Zou, M. X., Kumaki, I., Zhang, W., Kumano, K., & Fujimiya, M. (2001). The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*, 99(2-3), 87-92. [https://doi.org/10.1016/s0167-0115\(01\)00236-1](https://doi.org/10.1016/s0167-0115(01)00236-1)
- Terzi, F., Burtin, M., Hekmati, M., Federici, P., Grimber, G., Briand, P., & Friedlander, G. (2000). Targeted expression of a dominant-negative EGF-R in the kidney

- reduces tubulo-interstitial lesions after renal injury. *J Clin Invest*, 106(2), 225-234. <https://doi.org/10.1172/JCI8315>
- Terzi, F., Burtin, M., Hekmati, M., Jouanneau, C., Beaufils, H., & Friedlander, G. (2000). Sodium restriction decreases AP-1 activation after nephron reduction in the rat: role in the progression of renal lesions. *Exp Nephrol*, 8(2), 104-114. <https://doi.org/10.1159/000020656>
- Thambyrajah, J., Landray, M. J., McGlynn, F. J., Jones, H. J., Wheeler, D. C., & Townend, J. N. (2000). Abnormalities of endothelial function in patients with predialysis renal failure. *Heart*, 83(2), 205-209. <https://doi.org/10.1136/heart.83.2.205>
- Thomas, G. L., Yang, B., Wagner, B. E., Savill, J., & El Nahas, A. M. (1998). Cellular apoptosis and proliferation in experimental renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*, 13(9), 2216-2226. <https://doi.org/10.1093/ndt/13.9.2216>
- Thompson, S., James, M., Wiebe, N., Hemmelgarn, B., Manns, B., Klarenbach, S., & Tonelli, M. (2015). Cause of death in patients with reduced kidney function. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 26(10), 2504.
- Tian, Y., Chen, R., Jiang, Y., Bai, B., Yang, T., & Liu, H. (2020). The protective effects and mechanisms of apelin/APJ system on ischemic stroke: a promising therapeutic target. *Frontiers in neurology*, 11, 75.
- Topcu, A., Saral, S., Mercantepe, T., Akyildiz, K., Tumkaya, L., & Yilmaz, A. (2023). The effects of apelin-13 against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 46(1), 77-87.
- Totsune, K., Mackenzie, H. S., Totsune, H., Troy, J. L., Lytton, J., & Brenner, B. M. (1998). Upregulation of atrial natriuretic peptide gene expression in remnant kidney of rats with reduced renal mass. *J Am Soc Nephrol*, 9(9), 1613-1619. <https://doi.org/10.1681/ASN.V991613>
- Tsuprykov, O., Ando, R., Reichetzed, C., von Websky, K., Antonenko, V., Sharkovska, Y., . . . Hoher, B. (2016). The dipeptidyl peptidase inhibitor linagliptin and the angiotensin II receptor blocker telmisartan show renal benefit by different pathways in rats with 5/6 nephrectomy. *Kidney Int*, 89(5), 1049-1061. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.01.016>
- Törnig, J., Amann, K., Ritz, E., Nichols, C., Zeier, M., & Mall, G. (1996). Arteriolar

- wall thickening, capillary rarefaction and interstitial fibrosis in the heart of rats with renal failure: the effects of ramipril, nifedipine and moxonidine. *J Am Soc Nephrol*, 7(5), 667-675. <https://doi.org/10.1681/ASN.V75667>
- Ueda, S., Yamagishi, S.-i., Matsumoto, Y., Fukami, K., & Okuda, S. (2007). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a novel emerging risk factor for cardiovascular disease and the development of renal injury in chronic kidney disease. *Clinical and experimental nephrology*, 11, 115-121.
- Ulu, N., Mulder, G. M., Vavrinec, P., Landheer, S. W., Duman-Dalkilic, B., Gurdal, H., . . . Henning, R. H. (2013). Epidermal growth factor receptor inhibitor PKI-166 governs cardiovascular protection without beneficial effects on the kidney in hypertensive 5/6 nephrectomized rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 345(3), 393-403. <https://doi.org/10.1124/jpet.113.203497>
- Urwiler, S. A., Timper, K., Fenske, W., De Mota, N., Blanchard, A., Kühn, F., . . . Kopp, P. (2016). Plasma apelin concentrations in patients with polyuria-polydipsia syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(5), 1917-1923.
- Valdivielso, J. M., Pérez-Barriocanal, F., García-Estañ, J., & López-Novoa, J. M. (1999). Role of nitric oxide in the early renal hemodynamic response after unilateral nephrectomy. *Am J Physiol*, 276(6), R1718-1723. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.276.6.R1718>
- Vanhaelen, M., Vanhaelen-Fastre, R., But, P., & Vanherweghem, J. L. (1994). Identification of aristolochic acid in Chinese herbs. *Lancet*, 343(8890), 174. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(94\)90964-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(94)90964-4)
- Vaziri, N. D., Ni, Z., Zhang, Y. P., Ruzics, E. P., Maleki, P., & Ding, Y. (1998). Depressed renal and vascular nitric oxide synthase expression in cyclosporine-induced hypertension. *Kidney Int*, 54(2), 482-491. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00014.x>
- Vielhauer, V., Anders, H. J., Mack, M., Cihak, J., Strutz, F., Stangassinger, M., . . . Schlöndorff, D. (2001). Obstructive nephropathy in the mouse: progressive fibrosis correlates with tubulointerstitial chemokine expression and accumulation of CC chemokine receptor 2- and 5-positive leukocytes. *J Am Soc Nephrol*, 12(6), 1173-1187. <https://doi.org/10.1681/ASN.V1261173>

- Wang, C., Du, J.-F., Wu, F., & Wang, H.-C. (2008). Apelin decreases the SR Ca²⁺ content but enhances the amplitude of [Ca²⁺] i transient and contractions during twitches in isolated rat cardiac myocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 294(6), H2540-H2546.
- Wang, J. L., Cheng, H. F., Zhang, M. Z., McKanna, J. A., & Harris, R. C. (1998). Selective increase of cyclooxygenase-2 expression in a model of renal ablation. *Am J Physiol*, 275(4), F613-622. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1998.275.4.F613>
- Wang, L.-Y., Diao, Z.-L., Zhang, D.-L., Zheng, J.-F., Zhang, Q.-D., Ding, J.-X., & Liu, W.-H. (2014). The regulatory peptide apelin: a novel inhibitor of renal interstitial fibrosis. *Amino acids*, 46, 2693-2704.
- Wang, W., McKinnie, S. M., Patel, V. B., Haddad, G., Wang, Z., Zhabyeyev, P., . . . Kandam, V. (2013). Loss of Apelin exacerbates myocardial infarction adverse remodeling and ischemia-reperfusion injury: therapeutic potential of synthetic Apelin analogues. *Journal of the American Heart Association*, 2(4), e000249.
- Wang, Y., Huang, J., Liu, X., Niu, Y., Zhao, L., Yu, Y., . . . Yu, C. (2017). β -Arrestin-biased AT1R stimulation promotes extracellular matrix synthesis in renal fibrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 313(1), F1-F8.
- Wu, J. Q., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013). Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 46, 200-206.
- Wu, W.-P., Chang, C.-H., Chiu, Y.-T., Ku, C.-L., Wen, M.-C., Shu, K.-H., & Wu, M.-J. (2010). A reduction of unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis by a therapy combining valsartan with aliskiren. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 299(5), F929-F941.
- Xu, C., Wang, F., Chen, Y., Xie, S., Sng, D., Reversade, B., & Yang, T. (2020). ELABELA antagonizes intrarenal renin-angiotensin system to lower blood pressure and protects against renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 318(5), F1122-F1135. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00606.2019>
- Yamate, J., Ishida, A., Tsujino, K., Tatsumi, M., Nakatsuji, S., Kuwamura, M., . . . Sakuma, S. (1996). Immunohistochemical study of rat renal interstitial fibrosis

- induced by repeated injection of cisplatin, with special reference to the kinetics of macrophages and myofibroblasts. *Toxicol Pathol*, 24(2), 199-206. <https://doi.org/10.1177/019262339602400208>
- Yang, P., Kuc, R. E., Brame, A. L., Dyson, A., Singer, M., Glen, R. C., . . . Maguire, J. J. (2017). [Pyr1] Apelin-13 (1–12) is a biologically active ACE2 metabolite of the endogenous cardiovascular peptide [Pyr1] Apelin-13. *Frontiers in Neuroscience*, 11, 92.
- Yin, J., & Kuebler, W. M. (2010). Mechanotransduction by TRP channels: general concepts and specific role in the vasculature. *Cell Biochem Biophys*, 56(1), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s12013-009-9067-2>
- Yoshida, K., Kobayashi, N., Ohno, T., Fukushima, H., & Matsuoka, H. (2007). Cardioprotective effect of angiotensin II type 1 receptor antagonist associated with bradykinin-endothelial nitric oxide synthase and oxidative stress in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Journal of hypertension*, 25(8), 1633-1642.
- Yoshioka, T., Shiraga, H., Yoshida, Y., Fogo, A., Glick, A. D., Deen, W. M., . . . Ichikawa, I. (1988). "Intact nephrons" as the primary origin of proteinuria in chronic renal disease. Study in the rat model of subtotal nephrectomy. *J Clin Invest*, 82(5), 1614-1623. <https://doi.org/10.1172/JCI113773>
- Yu, D., Petermann, A., Kunter, U., Rong, S., Shankland, S. J., & Floege, J. (2005). Urinary podocyte loss is a more specific marker of ongoing glomerular damage than proteinuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(6), 1733-1741.
- Yuan, H. T., Li, X. Z., Pitera, J. E., Long, D. A., & Woolf, A. S. (2003). 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*, 163(6), 2289-2301. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)63586-9](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)63586-9)
- Zeng, X. J., Zhang, L. K., Wang, H. X., Lu, L. Q., Ma, L. Q., & Tang, C. S. (2009). Apelin protects heart against ischemia/reperfusion injury in rat. *Peptides*, 30(6), 1144-1152.
- Zhang, B.-h., Wang, W., Wang, H., Yin, J., & Zeng, X.-j. (2013). Promoting effects of the adipokine, apelin, on diabetic nephropathy. *PLoS One*, 8(4), e60457.

- Zhang, H., Gong, D., Ni, L., Shi, L., Xu, W., Shi, M., . . . Zhang, X. (2018). Serum Elabela/Toddler levels are associated with albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(3), 1347-1354.
- Zhang, J., Yin, J., Wang, Y., Li, B., & Zeng, X. (2018). Apelin impairs myogenic response to induce diabetic nephropathy in mice. *The FASEB Journal*, 32(8), 4315-4327.
- Zhang, P. L., Mackenzie, H. S., Troy, J. L., & Brenner, B. M. (1994). Effects of natriuretic peptide receptor inhibition on remnant kidney function in rats. *Kidney Int*, 46(2), 414-420. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.289>
- Zhang, Y., Wang, Y., Luo, M., Xu, F., Lu, Y., Zhou, X., . . . Miao, L. (2019). Elabela protects against podocyte injury in mice with streptozocin-induced diabetes by associating with the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Peptides*, 114, 29-37.
- Zhou, Q., Cao, J., & Chen, L. (2016). Apelin/APJ system: A novel therapeutic target for oxidative stress-related inflammatory diseases. *International journal of molecular medicine*, 37(5), 1159-1169.
- Zoccali, C. (2006). Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a cardiovascular and renal risk factor on the move. *J Hypertens*, 24(4), 611-619. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000217839.26971.8d>
- Çetin, A., Vardı, N., & Orman, D. (2013). DENEYSEL DİYABETİN SIÇAN KALP DOKUSUNDA MEYDANA GETİRDİĞİ HİSTOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE AMİNOGUANİDİNİN İYİLEŞTİRİCİ ETKİLERİ. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 1(1), 17-26.
- Özkan, N., Şehirli, A. Ö., Koç, M., & Çetinel, Ş. (2016). Doksorubisin ile Oluşturulan Nefrotik Sendrom Modelinde Apelinin Böbrek Dokusundaki Histomorfolojik Değişiklikleri. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 6(1), 20-27.

9. ÖZGEÇMİŞ

10. BİLİMSEL FALİYETLER

Tez çalışmasından üretilen yayınlar

1. Mehmet Koc, Zarife Ozdemir, Seckin Akcay, Berrak Yegen, Hizir Kurtel. Apelin, a Novel Apelin Receptor Analog, Improves Endothelial Dysfunction in Uremic Rats with 5/6 Nephrectomy. ASN Kidney Week 2021, Virtual Meeting, 4 – 7 November 2021,

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler

- 1: Tezcan N, Özdemir-Kumral ZN, Özkan Yenal N, Çilingir-Kaya ÖT, Virvan AT, Özbeyli D, Çetinel Ş, Yeğen BÇ, Koç M. Nesfatin-1 treatment preserves antioxidant status and attenuates renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction. Nephrol Dial Transplant. 2022 Jun 23;37(7):1238-1248. doi: 10.1093/ndt/gfac053. PMID: 35218196.
- 2: Barutcu Atas D, Tugcu M, Asicioglu E, Velioglu A, Arikan H, Koc M, Tuglular S. Prognostic nutritional index is a predictor of mortality in elderly patients with chronic kidney disease. Int Urol Nephrol. 2022 May;54(5):1155-1162. doi: 10.1007/s11255-021-03002-6. Epub 2021 Sep 25. PMID: 34562196.
- 3: Asicioglu E, Velioglu A, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener C. Baseline carotid intima-media thickness is associated with cardiovascular morbidity and mortality in peritoneal dialysis patients. Ther Apher Dial. 2021 Dec;25(6):962-969. doi: 10.1111/1744-9987.13629. Epub 2021 Mar 16. PMID: 33511768.
- 4: Mohandas R, Diao Y, Chamarthi G, Krishnan S, Agrawal N, Wen X, Dass B, Shukla AM, Gopal S, Koç M, Segal MS. Circulating endothelial cells as predictor of long-term mortality and adverse cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. Semin Dial. 2021 Mar;34(2):163-169. doi: 10.1111/sdi.12943. Epub 2020 Dec 5. PMID: 33280176.
- 5: Xie J, Liu L, Mladkova N, Li Y, Ren H, Wang W, Cui Z, Lin L, Hu X, Yu X, Xu J, Liu G, Caliskan Y, Sidore C, Balderes O, Rosen RJ, Bodria M, Zanon F, Zhang JY, Krithivasan P, Mehl K, Marasa M, Khan A, Ozay F, Canetta PA, Bombach AS, Appel GB, Sanna-Cherchi S, Sampson MG, Mariani LH, Perkowska-Ptasinska A, Durlik M, Mucha K, Moszczuk B, Foronczewicz B, Pączek L, Habura I, Ars E, Ballarin J, Mani LY, Vogt B, Ozturk S, Yildiz A, Seyahi N, Arikan H, Koc M, Basturk T, Karahan G, Akgul SU, Sever MS, Zhang D, Santoro D, Bonomini M, Londrino F, Gesualdo L, Reiterova J, Tesar V, Izzi C, Savoldi S, Spotti D, Marcantoni C, Messa P, Galliani M, Roccatello D, Granata S, Zaza G, Lugani F, Ghiggeri G, Pisani I, Allegri L, Sprangers B, Park JH, Cho B, Kim YS, Kim DK, Suzuki H, Amoroso A, Cattran DC, Fervenza FC, Pani A, Hamilton P, Harris S, Gupta S, Cheshire C, Dufek S, Issler N, Pepper RJ, Connolly J, Powis S, Bockenhauer D, Stanescu HC, Ashman N, Loos RJJ, Kenny EE, Wuttke M, Eckardt KU, Köttgen A, Hofstra JM, Coenen MJH, Kiemeny LA, Akilesh S, Kretzler M, Beck LH, Stengel B, Debiec H, Ronco P, Wetzels JFM, Zoladzewska

M, Cucca F, Ionita-Laza I, Lee H, Hoxha E, Stahl RAK, Brenchley P, Scolari F, Zhao MH, Gharavi AG, Kleta R, Chen N, Kiryluk K. The genetic architecture of membranous nephropathy and its potential to improve non-invasive diagnosis. *Nat Commun.* 2020 Mar 30;11(1):1600. doi: 10.1038/s41467-020-15383-w. PMID: 32231244; PMCID: PMC7105485.

6: Atas DB, Arikan H, Tinay I, Asicioglu E, Velioglu A, Koc M, Tuglular S, Ozener C. Full blown nephrotic syndrome due to unilateral obstruction of the uretero-pelvic junction. *Nephrology (Carlton).* 2017 Jun;22(6):498. doi: 10.1111/nep.12819. PMID: 28429518.

7: Kumral ZN, Sener G, Ozgur S, Koc M, Suleymanoglu S, Hurdag C, Yegen BC. Regular exercise alleviates renovascular hypertension-induced cardiac/endothelial dysfunction and oxidative injury in rats. *J Physiol Pharmacol.* 2016 Feb;67(1):45-55. PMID: 27010894.

8: Tuzcu ZB, Asicioglu E, Sunbul M, Ozben B, Arikan H, Koc M. Circulating endothelial cell number and markers of endothelial dysfunction in previously preeclamptic women. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Oct;213(4):533.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2015.06.043. Epub 2015 Jun 25. PMID: 26116870.

9: Koç M, Kumral ZN, Özkan N, Memi G, Kaçar Ö, Bilsel S, Çetinel Ş, Yeğen BÇ. Obestatin improves ischemia/reperfusion-induced renal injury in rats via its antioxidant and anti-apoptotic effects: role of the nitric oxide. *Peptides.* 2014 Oct;60:23-31. doi: 10.1016/j.peptides.2014.07.019. Epub 2014 Jul 31. PMID: 25086266.

10: Arikan H, Asicioglu E, Velioglu A, Nalcaci S, Birdal G, Guler D, Koc M, Tuglular S, Ozener C. Determinants of hemoglobin variability in stable peritoneal dialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2014 Jul;46(7):1427-34. doi: 10.1007/s11255-014-0700-7. Epub 2014 Apr 1. PMID: 24687636.

11: Asicioglu E, Kahveci A, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener C. Fibroblast growth factor-23 levels are associated with uric acid but not carotid intima media thickness in renal transplant recipients. *Transplant Proc.* 2014 Jan- Feb;46(1):180-3. doi: 10.1016/j.transproceed.2013.10.043. PMID: 24507048.

12: Asicioglu E, Kahveci A, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener CI. Fibroblast growth factor-23 levels are associated with vascular calcifications in peritoneal dialysis patients. *Nephron Clin Pract.* 2013;124(1-2):89-93. doi: 10.1159/000355859. Epub 2013 Oct 25. PMID: 24157489.

13: Asicioglu E, Kahveci A, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener CI. Waist circumference is associated with carotid intima media thickness in peritoneal dialysis patients. *Int Urol Nephrol.* 2013 Oct;45(5):1437-43. doi: 10.1007/s11255-013-0427-x. Epub 2013 Apr 4. PMID: 23553275.

- 14: Velioglu A, Tugtepe H, Asicioglu E, Yilmaz N, Filinte D, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Kaya H, Ozener C. Role of tyrosine kinase inhibition with imatinib in an encapsulating peritoneal sclerosis rat model. *Ren Fail.* 2013;35(4):531-7. doi: 10.3109/0886022X.2013.773915. Epub 2013 Mar 11. PMID: 23473055.
- 15: Parving HH, Brenner BM, McMurray JJ, de Zeeuw D, Haffner SM, Solomon SD, Chaturvedi N, Persson F, Desai AS, Nicolaides M, Richard A, Xiang Z, Brunel P, Pfeffer MA; ALTITUDE Investigators. Cardiorenal end points in a trial of aliskiren for type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2012 Dec 6;367(23):2204-13. doi: 10.1056/NEJMoa1208799. Epub 2012 Nov 3. PMID: 23121378.
- 16: Kedrah AE, Ari E, Alahdab Y, Gul CB, Macunluoglu B, Atakan A, Asicioglu E, Cakalagaoglu F, Koc M. Effect of the direct renin inhibitor aliskiren in the prevention of experimental contrast-induced nephropathy in the rat. *Kidney Blood Press Res.* 2012;35(6):425-30. doi: 10.1159/000336104. Epub 2012 Jun 6. PMID: 22677784.
- 17: Soysal A, Toprak D, Koc M, Arikan H, Akoglu E, Bakir M. Diagnosing latent tuberculosis infection in haemodialysis patients: T-cell based assay (T-SPOT.TB) or tuberculin skin test? *Nephrol Dial Transplant.* 2012 Apr;27(4):1645-50. doi: 10.1093/ndt/gfr516. Epub 2011 Sep 19. PMID: 21931124.
- 18: Koc M, Dogan C, Arinsoy T, Tonbul Z, Ayli D, Cirit M, Sever MS, Yilmaz ME, Unsal A, Suleymanlar G, Ok E, Basci A, Yildiz A. Statin use is associated with lower inflammation and erythropoietin responsiveness index in hemodialysis patients. *Hemodial Int.* 2011 Jul;15(3):366-73. doi: 10.1111/j.1542-4758.2011.00547.x. Epub 2011 Apr 20. PMID: 21507195.
- 19: Tanrikulu AM, Ozben B, Koc M, Papila-Topal N, Ozben T, Caymaz O. Aspirin resistance in patients with chronic renal failure. *J Nephrol.* 2011 Sep- Oct;24(5):636-46. doi: 10.5301/JN.2011.6259. PMID: 21279952.
- 20: Asicioglu E, Kahveci A, Bakir EA, Bulur A, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener C. Unusual presentation of peritonitis with persistent clear aspirate: a case report. *J Med Case Rep.* 2010 Nov 28;4:383. doi: 10.1186/1752-1947-4-383. PMID: 21110897; PMCID: PMC3003677.
- 21: Koc M, Toprak A, Arikan H, Odabasi Z, Elbir Y, Tulunay A, Asicioglu E, Eksioglu-Demiralp E, Glorieux G, Vanholder R, Akoglu E. Toll-like receptor expression in monocytes in patients with chronic kidney disease and haemodialysis: relation with inflammation. *Nephrol Dial Transplant.* 2011 Mar;26(3):955-63. doi: 10.1093/ndt/gfq500. Epub 2010 Aug 20. PMID: 20729266.
- 22: Balaforlu B, Eskiyeoruk I, Kus B, Tozar M, Bekiroglu N, Koc M. Seasonal variation of C-reactive protein and atherosclerotic cardiovascular events in hemodialysis patients. *Ren Fail.* 2010;32(7):825-31. doi: 10.3109/0886022X.2010.494800. PMID: 20662696.

- 23: Kaygusuz I, Koc M, Arikan H, Adiguzel C, Cakalagaoglu F, Tuglular TF, Akoglu E. Focal segmental glomerulosclerosis associated with idiopathic myelofibrosis. *Ren Fail.* 2010 Jan;32(2):273-6. doi: 10.3109/08860220903573286. PMID: 20199191.
- 24: Asicioglu E, Gogas Yavuz D, Koc M, Ozben B, Yazici D, Deyneli O, Akalin S. Circulating endothelial cells are elevated in patients with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 2010 Apr;162(4):711-7. doi: 10.1530/EJE-09-0795. Epub 2010 Jan 8. PMID: 20061332.
- 25: Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener C, Akoglu E. Elevated plasma levels of PAI-1 predict cardiovascular events and cardiovascular mortality in prevalent peritoneal dialysis patients. *Ren Fail.* 2009;31(6):438-45. doi: 10.1080/08860220902963772. PMID: 19839820.
- 26: Kahveci A, Ari E, Arikan H, Koc M, Tuglular S, Ozener C. Streptococcus bovis bacteremia related to colon adenoma in a chronic hemodialysis patient. *Hemodial Int.* 2010 Jan;14(1):91-3. doi: 10.1111/j.1542-4758.2009.00400.x. Epub 2009 Sep 16. PMID: 19758303.
- 27: Odabasi Z, Karaalp A, Cermik H, Mohr J, Tigen ET, Koc M, Korten V. Reduction of amphotericin B-induced renal tubular apoptosis by N-acetylcysteine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Jul;53(7):3100-2. doi: 10.1128/AAC.00001-09. Epub 2009 May 4. PMID: 19414577; PMCID: PMC2704667.
- 28: Ozben B, Toprak A, Koc M, Sumerkan M, Tanrikulu AM, Papila-Topal N, Kefeli US, Cincin AA, Baykan O, Fak AS. P wave dispersion increases during hemodialysis sessions. *Nephron Clin Pract.* 2009;112(3):c171-6. doi: 10.1159/000214213. Epub 2009 Apr 24. PMID: 19390218.
- 29: Arikan H, Koc M, Cakalagaoglu F, Tuglular S, Ozener C, Akoglu E. Histopathological changes and tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta and tenascin expression in patients with primary type I membranoproliferative glomerulonephritis in remission. *Nephrology (Carlton).* 2009 Apr;14(2):219-26. doi: 10.1111/j.1440-1797.2008.01048.x. PMID: 19298642.
- 30: Arikan H, Koc M, Cakalagaoglu F, Eren Z, Segal MS, Tuglular S, Ozener C, Akoglu E. Tacrolimus rescue therapy in resistant or relapsing cases of primary glomerulonephritis. *J Nephrol.* 2008 Sep-Oct;21(5):713-21. PMID: 18949726.
- 31: Arikan H, Koc M, Sari H, Tuglular S, Ozener C, Akoglu E. Associations between apolipoprotein E gene polymorphism and plasminogen activator inhibitor-1 and atherogenic lipid profile in dialysis patients. *Ren Fail.* 2007;29(6):713-9. doi: 10.1080/08860220701460129. PMID: 17763167.
- 32: Koc M, Richards HB, Bihorac A, Ross EA, Schold JD, Segal MS. Circulating endothelial cells are associated with future vascular events in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2005 Mar;67(3):1078-83. doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00173.x. PMID: 15698448.

- 33: Butler JM, Guthrie SM, Koc M, Afzal A, Caballero S, Brooks HL, Mames RN, Segal MS, Grant MB, Scott EW. SDF-1 is both necessary and sufficient to promote proliferative retinopathy. *J Clin Invest.* 2005 Jan;115(1):86-93. doi: 10.1172/JCI22869. PMID: 15630447; PMCID: PMC539202.
- 34: Sever MS, Erek E, Vanholder R, Koc M, Yavuz M, Aysuna N, Ergin H, Ataman R, Yenicesu M, Canbakan B, Demircan C, Lameire N. Lessons learned from the catastrophic Marmara earthquake: factors influencing the final outcome of renal victims. *Clin Nephrol.* 2004 Jun;61(6):413-21. doi: 10.5414/cnp61413. PMID: 15224805.
- 35: Yavuz D, Koç M, Toprak A, Akpınar I, Velioğlu A, Deyneli O, Haklar G, Akalin S. Effects of ACE inhibition and AT1-receptor antagonism on endothelial function and insulin sensitivity in essential hypertensive patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2003 Sep;4(3):197-203. doi: 10.3317/jraas.2003.032. PMID: 14608527.
- 36: Koç M, Bihorac A, Segal MS. Circulating endothelial cells as potential markers of the state of the endothelium in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2003 Oct;42(4):704-12. doi: 10.1016/s0272-6386(03)00906-5. PMID: 14520620.
- 37: Toprak A, Koc M, Tezcan H, Ozener IC, Akoglu E, Oktay A. Inferior vena cava diameter determines left ventricular geometry in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients: an echocardiographic study. *Nephrol Dial Transplant.* 2003 Oct;18(10):2128-33. doi: 10.1093/ndt/gfg298. PMID: 13679491.
- 38: Tezcan H, Yavuz D, Toprak A, Akpınar I, Koç M, Deyneli O, Akalin S. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition on endothelial function and insulin sensitivity in hypertensive patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2003 Jun;4(2):119-23. doi: 10.3317/jraas.2003.012. PMID: 12806595.
- 39: Toprak A, Koc M, Tezcan H, Ozener IC, Oktay A, Akoglu E. Night-time blood pressure load is associated with higher left ventricular mass index in renal transplant recipients. *J Hum Hypertens.* 2003 Apr;17(4):239-44. doi: 10.1038/sj.jhh.1001536. PMID: 12692568.
- 40: Koc M, Ersoz HO, Akpınar I, Gogas-Yavuz D, Deyneli O, Akalin S. Effect of low- and high-dose levothyroxine on thyroid nodule volume: a crossover placebo-controlled trial. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002 Nov;57(5):621-8. doi: 10.1046/j.1365-2265.2002.01650.x. PMID: 12390336.
- 41: Kantarci G, Vanholder R, Tuglular S, Akin H, Koç M, Ozener C, Akoglu E. Acute renal failure due to crush syndrome during Marmara earthquake. *Am J Kidney Dis.* 2002 Oct;40(4):682-9. doi: 10.1053/ajkd.2002.35673. PMID: 12324901.
- 42: Koc M, Toprak A, Tezcan H, Bihorac A, Akoglu E, Ozener IC. Uncontrolled hypertension due to volume overload contributes to higher left ventricular mass index in CAPD patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2002 Sep;17(9):1661-6. doi: 10.1093/ndt/17.9.1661. PMID: 12198220.

43: Segal MS, Bihorac A, Koç M. Circulating endothelial cells: tea leaves for renal disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2002 Jul;283(1):F11-9. doi: 10.1152/ajprenal.00008.2002. PMID: 12060582.

44: Ozener IC, Ture F, Koc M, Avsar E. Prevalence of TT virus in a CAPD population. *Nephron.* 2002 Jun;91(2):341-3. doi: 10.1159/000058417. PMID: 12053078.

45: Koc M, Toprak A, Ozener IC, Bihorac A, Tezcan H, Fak AS, Akoglu E. QT dispersion in renal transplant recipients. *Nephron.* 2002 Jun;91(2):250-4. doi: 10.1159/000058400. PMID: 12053061.

46: Koç M, Bihorac A, Ozener CI, Kantarci G, Akoglu E. Severe hyperkalemia in two renal transplant recipients treated with standard dose of trimethoprim-sulfamethoxazole. *Am J Kidney Dis.* 2000 Sep;36(3):E18. doi: 10.1053/ajkd.2000.16220. PMID: 10977811.



11. EKLER