

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

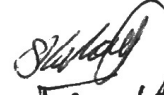
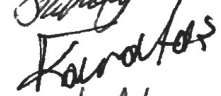
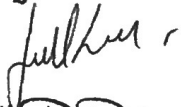
SIÇANLARDA BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYONU İLE OLUŞTURULAN
OKSİDATİF HASARDA APELİN HORMONU'NUN ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Burak BİRCAN

(111110202)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 16 Mart 2015
Tezin Savunulduğu Tarih : 16 Nisan 2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ (F.Ü) 
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Fikret KARATAŞ (F.Ü) 
Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ (G.Ü) 
Yrd. Doç. Dr. Pinar ERECEVİT (T.Ü) 
Yrd. Doç. Dr. Abdullah ASLAN (F.Ü) 

NİSAN-2015

ÖNSÖZ

FF.13.20 no'lu doktora tez projemize maddi destek sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne (FÜBAP),

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak tez çalışmamın gerçekleştirilmesine büyük katkı sağlayan doktora danışmanım Sayın Prof. Dr. Sevdâ KIRBAĞ'a, tez çalışmalarım sırasında cerrahi operasyonlarda yardımını esirgemeyen İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Sayın Murat ÇAKIR'a, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanı Sayın Arş. Gör. Suat TEKİN'e, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı doktora öğrencisi Sayın Dr.Yavuz ERDEN'e tez çalışmamın yazımı sırasında yardımlarını esirgemeyen Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim elemanı Sayın Arş. Gör. Ersen ERARSLAN'a,

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim aileme ve tez çalışmalarım sırasında gösterdiği anlayış ve sabırdan dolayı sevgili eşim Biyolog Gizem BİRCAN'a

En içten duygularıyla teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Burak BİRCAN
ELAZIĞ – 2015

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER	III
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
KISALTMALAR	X
SEMBOLLER LİSTESİ	XIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Apelin	2
1.1.1. APJ (Apelin Reseptörü)	5
1.1.2. Apelinin Görevleri.....	5
1.2. Böbrek.....	6
1.2.1. Böbreğin Yapısı	7
1.2.2. Böbreğin Kanlanması, Filtrasyon ve geriemiim	9
1.3. Akut Böbrek Yetmezliği.....	14
1.3.1. Prerenal Nedenler.....	14
1.3.2. Renal Nedenler	15
1.3.3. Postrenal Nedenler	15
1.4. Kronik Böbrek Yetmezliği	16
1.5. İskemi Reperfüzyon	16
1.6. Serbest Radikaller	18
1.7. Oksidatif Stres	19
1.8. Antioksidanlar	20
2. MATERYAL METOD	24
2.1. Deneysel Hazırlık	24
2.1.1. Apelin-13'ün Hazırlanması	24

2.1.2.	Deney Hayvanları.....	24
2.2.	Grupların Oluşturulması.....	24
2.3.	Cerrahi Uygulamalar	25
2.4.	Dokuların Toplanması	27
2.5.	Dokuların Analizi.....	27
2.5.1.	Serum Örneklerinin Analizi	27
2.5.1.1.	Biyokimyasal Analiz	27
2.5.1.2.	ELISA Analizleri	27
2.5.1.2.1.	TNF- α , IL-1 β ve IL-6 Seviyelerinin Ölçülmesi	27
2.5.1.2.2.	Reaktiflerin Hazırlanması	27
2.5.1.2.3.	Yıkama Prosedürü.....	28
2.5.1.2.4.	Çalışma Prosedürü	29
2.5.1.3.	Serumda Total Antioksidant Durumunun Ölçülmesi.....	29
2.5.1.4.	Serumda Total Oksidant Durumunun Ölçülmesi.....	30
2.5.2.	Böbrek Dokusunun Analizleri.....	30
2.5.2.1.	SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü.....	31
2.5.2.2.	Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	32
2.5.2.3.	Malondialdehit Ölçümü	32
2.5.2.4.	Glutasyon Peroksidaz Ölçümü	33
2.5.2.5.	Protein Ölçümü.....	35
2.6.	İstatistiksel Analiz	36
3.	BULGULAR	37
3.1.	Kan Örneklerinde ki Bazı Parametrelerin Otoanalizörde İncelenmesi	37
3.1.1.	BUN Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	38
3.1.2.	Kreatinin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	38
3.1.3.	Sodyum İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	39
3.1.4.	Potasyum İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	40
3.1.5.	Klor İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	41
3.1.6.	Total Protein Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	43

3.1.7.	Albumin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	43
3.1.8.	AST Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	44
3.1.9.	ALT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	45
3.1.10.	GGT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	46
3.2.	Dokuların Biyokimyasal Analizi	47
3.2.1.	SOD Enzim Aktivitesi	48
3.2.2.	Katalaz Enzim Aktivitesi	49
3.2.3.	Malondialdehit Tayini	50
3.2.4.	Glutasyon Peroksidaz	51
3.3.	Serum Örneklerinin ELISA Yöntemiyle Değerlendirilmesi	52
3.3.1.	Serumda Rat TNF- α 'nın Ölçülmesi	53
3.3.2.	Serumda Rat IL-1 β 'nın Ölçülmesi	54
3.3.3.	Serumda Rat IL-6'nın Ölçülmesi	55
3.3.4.	Serumda Total Antioksidant Durumunun Ölçülmesi	56
3.3.5.	Serumda Total Oksidan Durumunun Ölçülmesi	57
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	59
ÖNERİLER.		65
KAYNAKLAR		66
ÖZGEÇMİŞ		80

ÖZET

Apelin, APJ reseptörü için ligand olarak tanımlanmış peptit yapılı bir hormondur. Apelin ve APJ'nin birçok periferel dokuda sentezlendiği bilinmekte ve memelilerdeki böbrek dokusunda tespit edilmesi ile dikkatleri üzerine çekmektedir. Bu çalışma apelin-13'ün üç farklı dozda böbrek iskemi reperfüzyonu (I/R) üzerindeki etkisini araştırmak üzere gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada Sprague-Dawley cinsi toplam 35 adet erkek sıçan kullanılarak 5 grup oluşturuldu (n=7). Sham (kontrol) grubunda hayvanların sağ böbrekleri diseke edildi. I/R grubunda sağ böbrek diseke edilerek sol böbreğe 45 dk iskemi ve ardından 3 saat reperfüzyon uygulandı. Apelin-13 uygulanan gruplarda ise (1, 10 ve 100 µg) I/R grubundan farklı olarak iskemi başlangıcında apelin-13 intraperitoneal (i.p.) olarak verildi. Serum örneklerinden BUN, kreatinin, sodyum, potasyum, klor, total protein, albumin, AST, ALT ve GGT otoanalizör ile TNF- α , IL-1 β , IL-6, TAS ve TOS parametreleri ELISA yöntemiyle belirlendi. Böbrek dokusundan MDA, SOD, CAT ve GSH-Px düzeyleri ölçüldü.

Serum biyokimya parametrelerine göre klor ve GGT dışındaki tüm gruplarda sham grubuna göre I/R grubunda önemli ölçüde artış görüldü (p<0.05). Sodyum, total protein ve albumin parametreleride anlamlı şekilde azaldı (p<0.05). I/R grubuna kıyasla apelin uygulanan gruplar incelendiğinde ise dozlara göre değişen oranlarda veriler elde edildi. Doku örneklerinin MDA ve antioksidan enzimler yönünden değerlendirdiğimizde sham grubuna göre I/R grubunda SOD, CAT ve GSH-Px önemli ölçüde azalırken, MDA seviyeside anlamlı olarak yükseldi (p<0.05). ELISA çalışmalarında TAS hariç tüm parametreler sham grubuna göre I/R grubunda önemli ölçüde arttı (p<0.05). TAS'da ise istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görüldü (p<0.05). I/R grubuna kıyasla apelin uygulanan gruplar incelendiğinde de özellikle 100 µg uygulanan grupta anlamlılık tespit edildi (p<0.05).

Sonuçlarımız, farklı dozlarda apelin-13 uygulamasının kısa süreli iskemi hasarını kısmen azalttığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Apelin, APJ, iskemi-reperfüzyon, antioksidan, böbrek.

SUMMARY

Effect of Apelin Hormone on Renal Ischemia/Reperfusion Induced Oxidative Damage in Rats.

Apelin is a peptide structure hormone, which is defined as the ligand from APJ receptor. Apelin and APJ, which are known that synthesized in several peripheral tissues and draw attention to the detection of kidney tissue in mammals. This study was carried to investigate three different doses of Apelin-13 effect on the renal ischemia reperfusion (I/R).

In the study, 35 Sprague-Dawley male rats were used in total and 5 groups are created (n=7). In Sham (control) group, right kidneys of the animals were dissected. In I/R group, while dissecting right kidneys, 45 min. ischemia and after that 3 h. reperfusion were applied. In the groups in which apelin-13 is applied (1, 10 and 100 µg), different from I/R group apelin-13 was given as intraperitoneal (i.p.) at the outset of the ischemia. BUN, as a sample of the serum, creatinine, sodium, potassium, chloride, total protein, albumin, AST, ALT and GGT autoanalyzer and TNF- α , IL-1 β , IL-6, TAS and TOS parameters were specified by ELISA analysis. MDA, SOD, CAT and GSH-Px levels of renal tissue are measured.

According to serum biochemical parameters, a significant increment was observed in all groups other than chloride and GGT groups with respect to sham groups. Otherhand, a significant increment was observed in all groups except chloride and GGT group and also that applies to I/R group as well with respect to sham group ($p<0.05$). Sodium, total protein and albumin parameters decrease significantly ($p<0.05$). When analyzing apelin applied groups, it is observed data ratios vary according to the dosages in comparison with I/R group. When estimating tissue samples in the context of antioxidant enzymes, with respect to sham group, in I/R group SOD, CAT and GSH-Px decrease dramatically however MDA level increase significantly ($p<0.05$). In ELISA studies, all parameters increase dramatically except TAS and that applies I/R group with respect to sham group as well ($p<0.05$). In TAS, a statistically significant decrement was observed. When analyzing apelin applied groups rather than I/R group, a significance was determined especially the groups that 100 µg was applied, ($p<0.05$). Our results show that implementing apelin-13 in short times partly reduces ischemia damage.

Keywords: Apelin, APJ, ischemia-reperfusion, antioxidan, kidney.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Apelin izoformlarının aminoasit sekansı dizilimleri	3
Şekil 2. Rat dokularında apelin ve APJ'nin gen ekspresyonu	4
Şekil 3. Böbreklerin ve üriner sistemin genel organizasyonu.....	7
Şekil 4. Nefronun genel yapısı ve kısımları	8
Şekil 5. Korteksteki ve jukstamedullanın nefronları arasında farklılık ve kan damarları ile tübül yapıları arasındaki ilişkilerin şeması.....	9
Şekil 6. İnsanlar için glomerüler kapiller ağdan filtrasyona sebep olan kuvvetlerin özeti	10
Şekil 7. Glomerül kapillerlerinin ince yapısı, B: Glomerül kapiller zarının kesiti ve ana bileşenleri	11
Şekil 8. Jukstaglomerüler aygıtın yapısı, nefron fonksiyonunun kontrolünde olası geribildirim rolünü ortaya koymaktadır	12
Şekil 9. Tübüllerde madde alışverişi.....	13
Şekil 10. İskemi/reperfüzyon hasarında yer alan olaylar dizisi	18
Şekil 11. Cerrahi hazırlık ve işlemler.....	26
Şekil 12. Kit standartlarının dilüe edilmesi.....	28
Şekil 13. MDA çalışma eğrisi.	33
Şekil 14. Protein çalışma eğrisi.....	35
Şekil 15. BUN Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	38
Şekil 16. Kreatinin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	39
Şekil 17. Sodyum İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	40
Şekil 18. K İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	41
Şekil 19. Cl İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	42
Şekil 20. Total Protein Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	43
Şekil 21. Albumin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	44
Şekil 22. AST Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	45
Şekil 23. ALT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	46
Şekil 24. GGT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	47
Şekil 25. SOD Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	49
Şekil 26. CAT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	50
Şekil 27. MDA Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	51
Şekil 28. GSH-Px Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	52
Şekil 29. TNF- α Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	54
Şekil 30. IL-1 β Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	55
Şekil 31. IL-6 Üzerine Apelin-13'ün Etkileri	56
Şekil 32. TAS Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	57
Şekil 33. TOS Üzerine Apelin-13'ün Etkileri.....	58

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Apelin ve APJ mRNA'sının sıçan, fare ve insan dokularında ki dağılımı.....	4
Tablo 2. Farklı maddelerin böbrekler tarafından filtrasyon, geri emilim ve atılma hızları	14
Tablo 3. Kan örneklerinde ki bazı parametrelerin otoanalizör ile değerlendirilmesi.....	37
Tablo 4. Kan örneklerinde ki bazı parametrelerin otoanalizör ile değerlendirilmesi.....	42
Tablo 5. Dokuların biyokimyasal analizi.	48
Tablo 6. Serum örneklerinin ELİSA yöntemiyle değerlendirilmesi.....	53

KISALTMALAR

SOR	: Serbest oksijen radikalleri
SOD	: Süperoksit dismütaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
PMNL	: Polimorf nüveli lökositler
APJ	: Apelin reseptörü
NO	: Nitrik oksit
i.p.	: İntraperitoneal
SF	: Serum Fizyolojik su
ADH	: Antidiüretik hormon
mRNA	: Mesajcı RNA
ABY	: Akut böbrek yetmezliği
KBY	: Kronik böbrek yetmezliği
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
ATP	: Adenozin trifosfat
AMP	: Adenozin monofosfat
KO	: Ksantin oksidaz
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
KDH	: Ksantin dehidrojenaz
PAF	: Trombosit aktive faktörü
PGI₂	: Prostatiklin
TXA₂	: Tromboksan
LTB₄	: Lökotrien B ₄
DNA	: Deoksiribonükleik asit
CAT	: Katalaz
MDA	: Malondialdehit
TBA	: Tiyobarbütirik asit
BSA	: Sığır serum albumini
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GSH	: Glutatyon

GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
I/R	: İskemi-reperfüzyon
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktörü-alfa
IL-1β	: İnterlökin 1-beta
IL-1α	: İnterlökin 1-alfa
IL-6	: İnterlökin 6
LPL	: Lipoprotein lipaz
dk	: Dakika
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
GGT	: Gama-glutamil transferaz
BUN	: Kan üre azotu
Cre	: Kreatinin
Alb.	: Albumin
TAS	: Total antioksidan durumu
TOS	: Total oksidan durumu
ELISA	: Enzim bağılı immünosorbent analizi (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
NBT	: Nitro blue tetrazolium
UV	: Ultra viole
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
GSSG	: Okside glutatyon
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit
HRP	: Horse radish peroksidaz
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiyazol-6-sülfonik asit)
SSSS	: Stock Stabilized Standard Solution
SH	: Standart hata
ATPaz	: Adenozin trifosfataz
PAI-1	: Plazminojen aktivatör inhibitör-1
ASP	: Asilasyon stimüle edici protein
IGF-I	: İnsülin benzeri büyüme faktörü

PG I₂ : Prostaglandin I₂
PG F_{2α} : Prostaglandin F_{2α}

SEMBOLLER LİSTESİ

μmol	: Mikromol
μg	: Mikrogram
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
rpm	: Dakikadaki devir sayısı (Revolutions per minute)
mEq	: Miliekivalan
mL	: Mililitre
nmol	: Nanomol
kD	: Kilo dalton
pH	: Hidrojenin gücü (Power of hydrogen)
dL	: Desilitre
M	: Mol
L	: Litre
U	: Unite
Mmol	: Milimol
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
OH⁻	: Hidroksil
O₂⁻	: Süperoksit radikali
pg	: Pikogram
°C	: Santigrat derece
μL	: Mikrolitre

1. GİRİŞ

Canlılar, hayat döngülerinde büyüme, gelişme ve üreme gibi faaliyetleri içeren fizyolojik olayları gerçekleştirebilmek üzere kullandıkları enerjiyi oksidatif metabolizma ile elde etmektedirler. Oksidatif metabolizma, karbon ve hidrojen içeren metabolitlerin karbonhidrat ve suya tamamen yükseltgenmesiyle gerçekleşir. Oksidatif metabolizma evresinde oksijen, suya indirgenirken enerji açığa çıkmakta ve çok az bir miktarı da serbest radikallere dönüşmektedir. Bu serbest radikaller elektronlarını kaybetmiş zararlı maddelerdir [1].

Serbest radikallerin moleküllerinde, negatif yüklü elektron sayısı ile pozitif yüklü proton sayısı eşit değildir. Bu nedenle radikaller, çevrelerindeki atom ve moleküllere karşı oldukça reaktif davranış göstermektedir. Sahip oldukları bu özelliklerini ortaklaşmamış elektronlarından alan serbest radikaller, kısa ömürlü olmalarına rağmen radikal olmayan moleküllerlede reaksiyona girerek bir dizi zincir reaksiyonu başlatırlar. Böylece fazla miktarda radikal oluşturmakta ve bu özelliklerinden dolayı tehlikeli olarak kabul edilmektedirler [2, 3]. Oldukça tehlikeli olan serbest radikallerin, organizmaların metabolik aktiviteleri esnasında meydana gelebileceği gibi çeşitli dış etkenlerlede oluşabildiği bilinmektedir. Bu radikallerin bazı hastalık ve patolojik durumların oluşmasında da etkin rol aldıkları bildirilmektedir [4, 5].

Bir organdaki kan akımının çeşitli sebeplerle (organ taransplantasyonu veya cerrahi işlemler) yetersiz kalması veya kesilmesine iskemi denir. İskemi ile birlikte hücresel enerjiyi sağlayan depoların boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucu hücre ölümlerinin meydana geldiği bilinmektedir. İskemik bir dokunun kanlanmaya başlamasına ise reperfüzyon adı verilir. İskemik dokular, hücrenin rejenerasyonu ve toksik metabolitlerin uzaklaştırılmasını sağlamak için reperfüzyona ihtiyaç duymaktadırlar. İskemik bir dokunun reperfüzyonu esnasında dokuda meydana gelen hasar, iskemi sürecinde oluşan hasardan daha ciddi boyutta olabilmektedir. Özellikle dokuya yerleşen polimorf nüveli lökositler (PMNL) tarafından salınan serbest oksijen radikallerinin (SOR) dokuda oluşan hasarı arttırdığı bilinmekte ve oluşan bu hasar reperfüzyona bağlı doku hasarı olarak tanımlanmaktadır [6-8].

Son yıllarda gerçekleştirilen birçok çalışma bazı hormonların serbest radikal kaynaklı hasarları önleyebildiğini göstermektedir [9, 10]. 1998 yılında Tatamoto vd. tarafından sığır

mide özsuyundan izole edilen apelin, adipoz doku ailesi için tanımlanmış protein yapılı bir hormondur [11]. Apelin, G-protein kenetli reseptörünün (APJ) endojen bir ligandı olmakla birlikte, etkilerinin de APJ üzerinden gösterilmektedir. Literatürde, rat böbrek dokusunda hem APJ'nin hem de apelinin bulunduğu bildirilmektedir (Şekil 2) [11-14]. Hem apelinin hem de APJ'nin böbrek dokusunda yüksek oranda bulunması, peptidin kardiyovasküler sistem ve apoptotik süreçlerde etkilerinin olduğu düşünülürse; apelinin böbrek iskemi/reperfüzyon (I/R) sürecinde birtakım roller alabileceği akıllara gelmektedir.

Bu çalışma apelinin en aktif ve yüksek biyolojik aktiviteye sahip formu olan apelin-13'ün böbrek I/R hasarındaki muhtemel koruyucu rolünü araştırmak amacıyla yapıldı.

1.1. Apelin

Apelin, adipoz doku ailesinin bir üyesidir. Özel bir bağ doku tipi olan adipoz doku, yetişkin memelilerde mevcut adipositlerin (lipit dolu hücrelerin) zayıf kimyasal etkileşimleri sonucunda oluşmaktadır. Yüksek düzeyde enerjinin depo edildiği yağ doku aynı zamanda sentezlediği birçok hormon ile endokrin fonksiyonların düzenlenmesinde etkin rol almaktadır [13, 15, 16].

1993 yılında keşfedilen APJ, endojen ligandı olan apelin tanımlanana kadar orfan reseptör olarak isimlendirilmiştir. 1998 yılında Tatemato vd. sığır mide özsuyunda apelin hormonunu keşfetmişlerdir [11]. Apelinin farklı aminoasit sayısına sahip birçok formu olmasına karşın, mevcut çalışmalar özellikle 13, 17 ve 36 aminoasitten oluşan formları üzerine yoğunlaşmıştır (Şekil 1). Apelin formlarının N uç kısmı peptitin reseptöre bağlanmasında, C uç kısmı ise biyolojik aktivitesinin ortaya çıkmasında önemlidir. Etkileri formlarına göre değişiklik gösteren apelinin; biyolojik aktivite bakımından 13 ve 17 aminoasitten oluşan formunun, 36 aminoasit ihtiva eden formundan daha güçlü olduğu bilinmektedir. Apelin-17'den 8, apelin- 36'dan 60 kat daha güçlü biyolojik aktiviteye sahip olduğu ileri sürülen apelin-13'ün biyolojik aktivitesi diğer apelin formlarından daha yüksektir [11, 13, 17].

Yüksek biyolojik aktiviteye sahip olduğundan dolayı araştırmalar ağırlıklı olarak apelin-13 üzerine yoğunlaşmış olsada, apelin-36'nın APJ'ye bağlanma affinitesi daha fazladır [18].



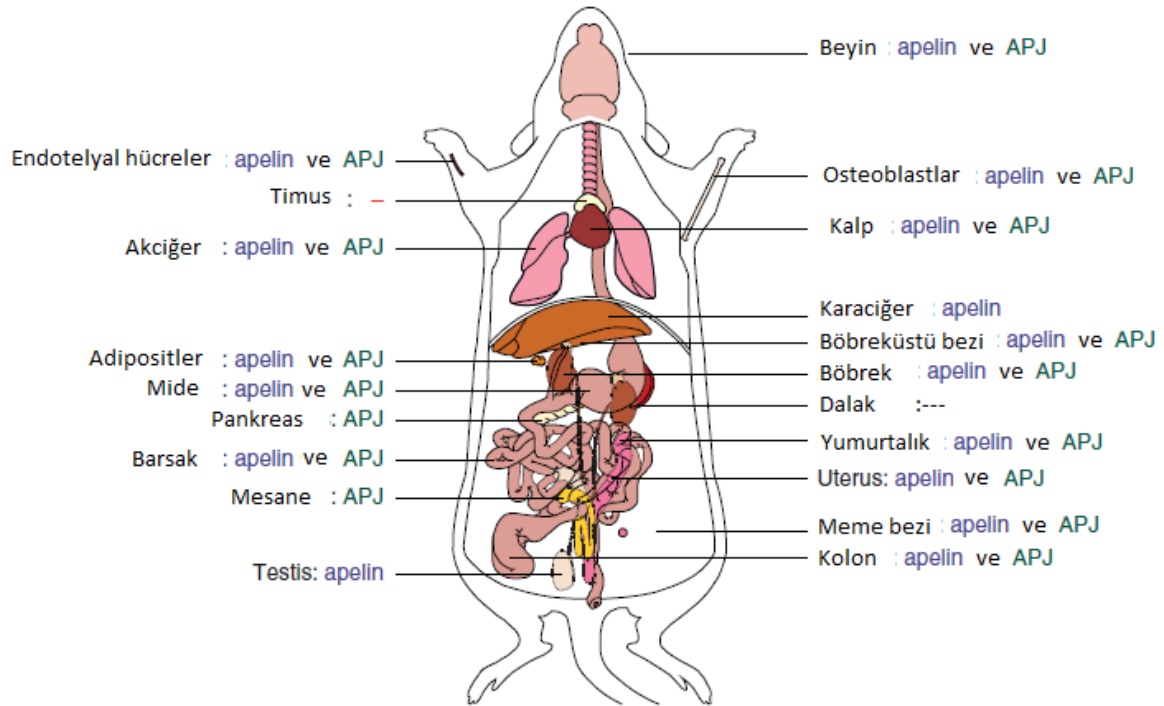
Şekil 1. Apelin izoformlarının aminoasit sekansı dizilimleri [19]. (A: (Pyr¹) apelin-13, B: apelin-13, C: apelin-17 ve D: apelin-36 formları)

Yapılan araştırmalar ile peptidin dolaşımdaki yarılanma ömrünün 8 dk'dan fazla olamayacağı bildirilmiştir [20, 21]. Bu bilgi araştırmacılara, apelinin dolaşımda bir endokrin faktör olmasının yanında, nörotransmitter olarak da parakrin bir etkisinin mevcut olabilme ihtimalini düşündürmektedir [18]. Gerçekleştirilen çalışmalar, apelinin antidiüretik hormon (ADH) ve başka mediyatörler aracılığıyla böbrek fonksiyonları başta olmak üzere diğer periferik dokularda da etkili olduğunu bildirmektedir [22, 23]. Apelin-13 formunun sıvı homeostazisini düzenleyici etkisi olduğu hipotezini ortaya atan Reaux vd., merkezi apelin-13 uygulamasının su tüketimi üzerine etkisinin olduğunu göstermiştir [14]. Taheri vd. ise sıçanlara farklı konsantrasyonlarda uyguladıkları apelin-13'ün yüksek su tüketimine neden olduğunu göstermiştir [24].

Tablo 1 ve Şekil 2'de apelin ve reseptörü APJ'nin farklı memelilerdeki doku dağılımları gösterilmiştir.

Tablo 1. Apelin ve APJ mRNA'sının sıçan, fare ve insan dokularında ki dağılımı [13, 25, 26].

	APJ			APELİN		
	Sıçan	Fare	İnsan	Sıçan	Fare	İnsan
Beyin	++	+	+++	+	+++	++
Dalak		+	+++		+	
Kalp	++	+++	+	++	++	+
Akciğer	+++	++	++	+++	++	+
Karaciğer	+	+				
Böbrek	+	+	+	+	+	+



Şekil 2. Rat dokularında apelin ve APJ'nin gen ekspresyonu [19].

1.1.1. APJ (Apelin Reseptörü)

APJ'nin keşfi, anjiyotensin II tip I reseptörüne yakın kimliğiyle bilinen G-protein kenetli reseptör olarak tanımlanmasıyla gerçekleşmiştir. Bu reseptörün protein yapısında 7 hidrofobik geçirgen zar yer almaktadır [27]. APJ'nin aminoasit dizisinin yaklaşık olarak; insan ve farede %92, insan ve sıçanda %90, fare ve sıçan arasında da %96 benzerlik gösterdiği bildirilmektedir [25, 28]. Literatürde sıçan ve fareler üzerinde yapılan araştırmalarda, merkezi ve periferel birçok dokuda APJ'nin varlığı belirlenmiştir [29, 30]. Sıçanların hipotalamus ve hipofiz bezinde apelin/APJ varlığı bildirilmektedir [19]. Lee vd. çalışmalarında böbrek, kalp ve testis gibi periferel dokuların yanı sıra korteks, striatum ve hipokampus gibi merkezi dokularda da APJ mRNA'sının ifade edildiğini bildirmektedirler [26]. Cayabyap vd. ise sıçanların böbrek, hipofiz bezi ve iskelet kaslarında APJ mRNA'sının varlığını göstermiştir [31].

1.1.2. Apelinin Görevleri

APJ ile apelin üzerine gerçekleştirilen çalışmalar, homeostatik süreçte bu medyatörlerin birtakım merkezi ve periferel görevler üstlendiğini göstermektedir. Bu çalışmalarda apelin ve APJ'nin kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesi, anjiyogenez, sıvı homeostasisi, enerji metabolizması ile nöroendokrin modülatör olarak görevler üstlenebileceği bildirilmiştir [13]. Literatürde, sıçanlara intravenöz apelin-13 uygulamasının doz bağımlı olarak kan basıncını arttırdığı belirtilmektedir [32]. Başka çalışmalarda ise apelinin, damar yenilenmesi, endotel proliferasyon ve damar çapı düzenlemesinde görev aldığı bildirilmektedir [33, 34]. Apelinin bu özellikleri gözönünde bulundurulduğunda, iskemi sonrası tedavilerde de etkili olabileceği fikrini akıllara getirmektedir.

Yapılan çalışmalar ile apelin ve APJ'nin farklı uygulama şekillerinin, gıda alımı [35, 36], sıvı homeostazı [24, 37] ve enerji metabolizması [38, 39] üzerinde de değişen oranlarda düzenleyici etkileri olduğu gösterilmektedir. Apelinin belirlenen yeni görevleri arasında insülin regülasyonu ve obezite bağlantılı mekanizmalar yer almaktadır [40]. Literatürde, apelin ve APJ'nin obeziteyle birlikte adipoz doku ve plazmada artışı bildirilmektedir [41-43]. Akut intravenöz olarak apelin enjekte edilen farelerde glukoz kullanımı iskelet kasında artmakta ve kan şekeri güçlü bir şekilde düşmektedir [44].

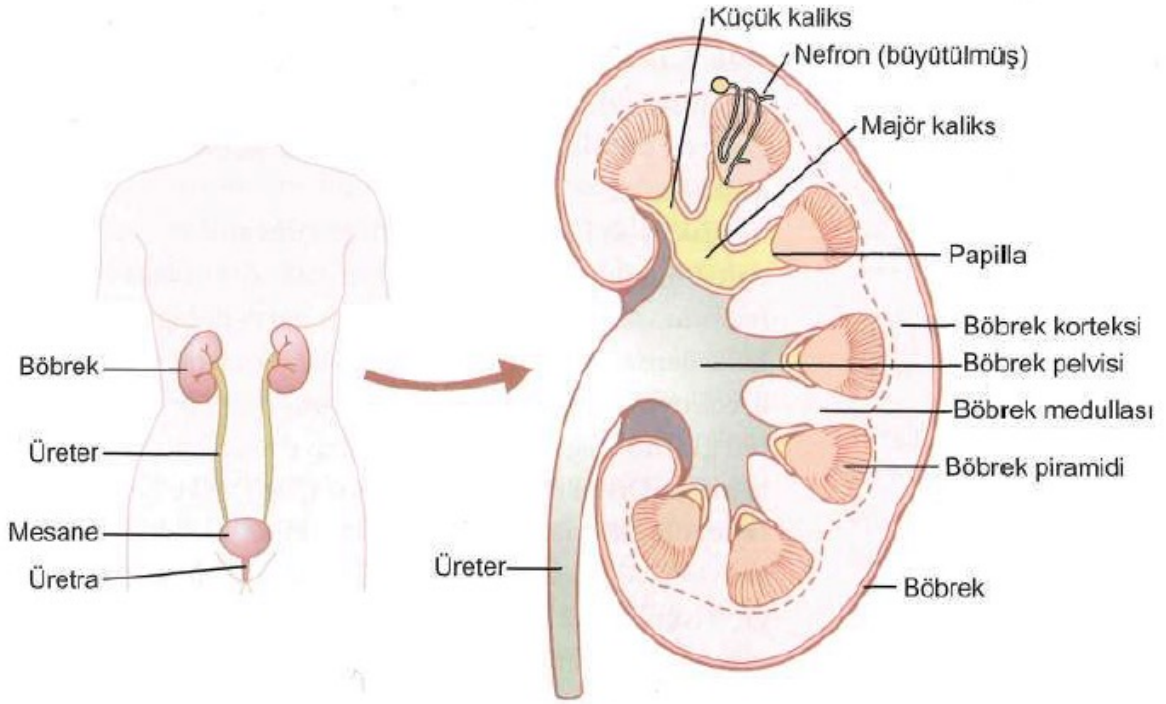
1.2. Böbrek

Yetişkin bir insanda ortalama ağırlığı 150 g olan iki adet böbrek bulunmaktadır. Böbrekler vücudumuzda, periton boşluğunun dışında ve karın arka boşluğunda konumlanmıştır. Böbreklerin orta kısmında yer alan; böbreğin arteri, veni, lenfatiklerin ve sinirlerin görüldüğü, böbrek ile mesanenin arasında bağlantı kuran üreterlerin girip çıktığı, çukur bölgeye hilum adı verilir. Böbrek bu kompleks iç yapısını kuvvetli fibröz bir tabaka vasıtasıyla korumaktadır. Böbrekten vertikal kesit alındığında, dış kısmında korteks ve iç kısmında medulla olmak üzere iki ana bölge gözlemlenir (Şekil 3) [45].

Böbrekler yaklaşık 1 milyon nefron adı verilen işlevsel birimden meydana gelirler. 40 yaşından sonra her 10 yılda, mevcut nefron sayısı %10 oranında azalmasına rağmen, nefronlardaki adaptif değişiklikler su, elektrolit ve metabolik ürünün yeterli miktarda işlenmesine olanak sağlar.

Vücudun diğer dokularında olduğu gibi böbreğe besin taşınması ve metabolik artıkların uzaklaştırılması kan akışı ile sağlanır. Ortalama 70 kg olan yetişkin bir insanda kan akış hızı, her iki böbreğede 1100 mL/dk veya kalp debisinin %22'si olacak kadardır. Bu organın ağırlığı vücut ağırlığının sadece %0.4'ü kadar olmasına rağmen diğer organlara göre daha fazla kan akımına sahiptir [45]. Böbreklerin bilinen birçok önemli görevi vardır. Bunlardan bazıları;

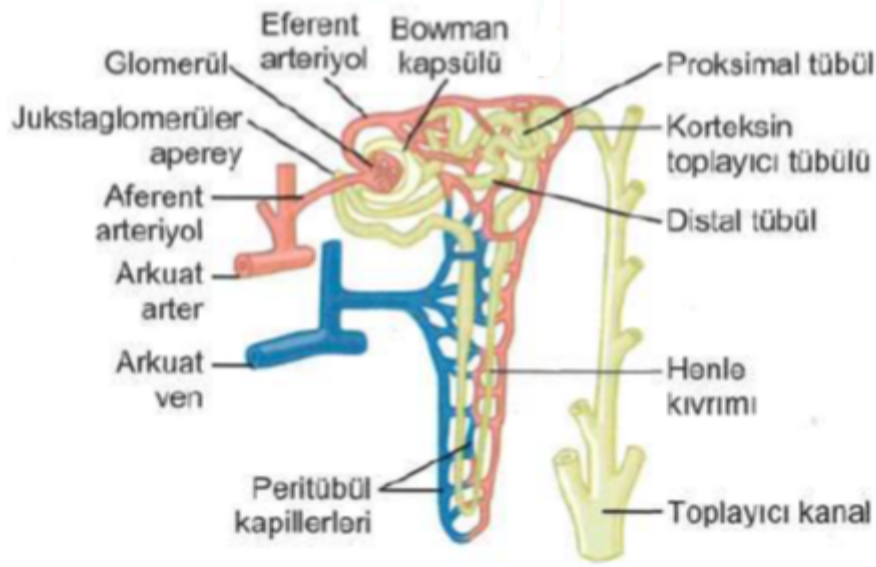
- Yabancı maddelerin, metabolik yıkım ürünlerinin, ilaçların ve hormon metabolitlerinin atılması,
- Su ve elektrolit dengesinin sağlanması,
- Arteriyel basıncın düzenlenmesi,
- Asit-baz dengesinin düzenlenmesi,
- Eritrosit yapımının düzenlenmesi,
- 1,25-dihidroksi vitamin D₃ yapımının düzenlenmesi ve
- Glikoneojenezdir [45].



Şekil 3. Böbreklerin ve üriner sistemin genel organizasyonu [45].

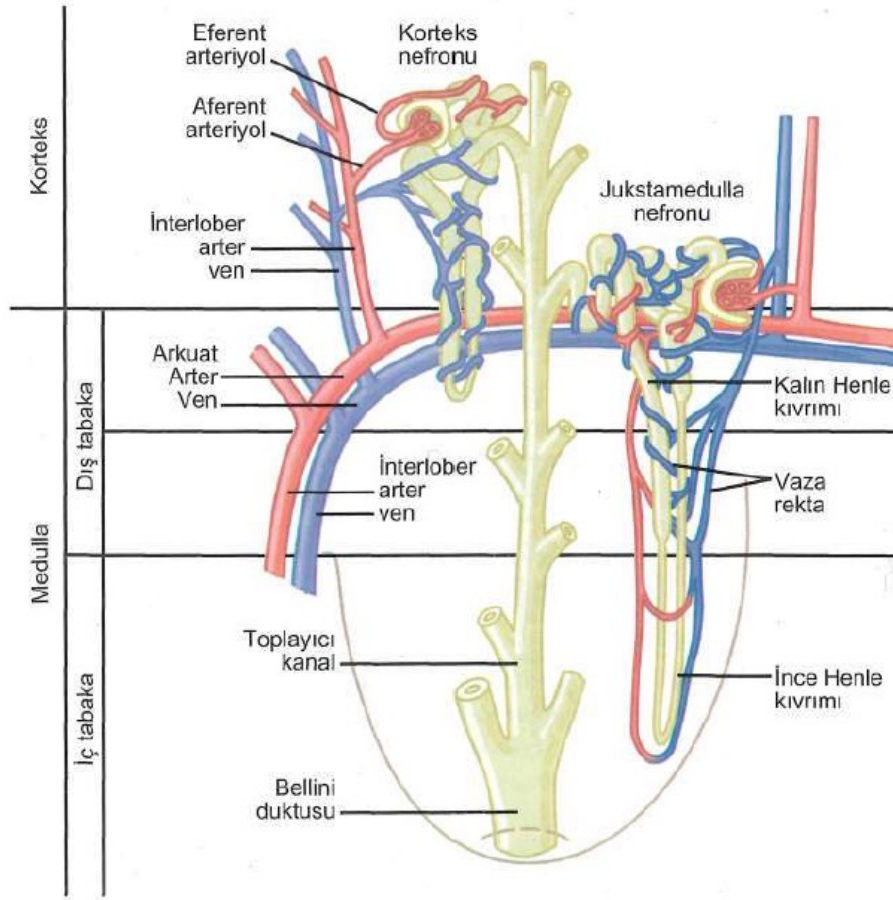
1.2.1. Böbreğin Yapısı

Böbrekler, idrar oluşturma yeteneğine sahip nefronlardan meydana gelir. Nefronlar, böbrek cisimciği (renal korpusküller) ve böbrek borucukları (böbrek tübülleri) olarak adlandırılan iki kısımdan oluşur. Böbrek cisimciği de kendi içinde glomerulus ve bowman kapsülü olarak iki alt birimden, böbrek tübülleri ise proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül ve toplayıcı tübüller olarak dört alt birimden oluşur (Şekil 4) [45, 46].



Şekil 4. Nefronun genel yapısı ve kısımları [45].

Her ne kadar tanımlanan kısımların hepsi her nefronda mevcut olsada, nefronun böbrek kütesinin içinde bulunduğu derinliğe bağlı olarak bazı farklılıklar vardır. Glomerülleri korteksin dış kısmında yerleşmiş olanlara korteks nefronları denir. Bunların medulla içinde sadece çok kısa bir mesafeye inen kısa henle kıvrımları vardır. Nefronların %20-30 kadarının glomerülleri korteksin derin kısımlarında medullaya yakın bölgede yerleşmiştir ve bu nefronlara jukstamedüller nefronlar adı verilir. Bu nefronların bazılarında uzun henle kıvrımları medullanın derinliklerine kadar iner, bazılarında ise böbrek papillasının tepesine kadar uzanır (Şekil 5).



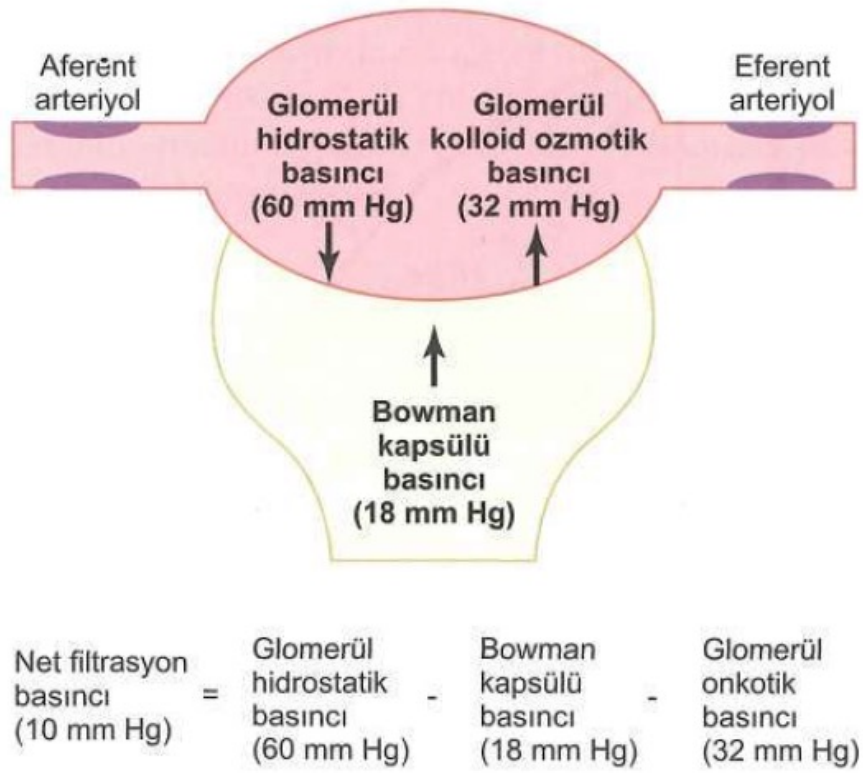
Şekil 5. Kortekste ve jukstamedullanın nefronları arasında farklılık ve kan damarları ile tübül yapıları arasındaki ilişkilerin şeması [45].

1.2.2. Böbreğin Kanlanması, Filtrasyon ve Geri Emilim

Böbrek arteri, hilum bölgesinden böbreğe girer. Buradan interlobar, arkuat, interlobüler (radyal arterler de denir) arterlere ve aferent arteriyollere ayrılır. Aferent arteriyoller, plazma proteinleri dışında, çok miktarda su ve maddenin filtre edilerek idrar yapımının başladığı yer olan glomerül kapillerlerini oluşturur. Her glomerül kapillerlerinin distal ucu bir araya gelerek, böbrek tübüllerini çevreleyen ve peritübül kapilleri denilen ikinci bir kapiller ağı oluşturan eferent arteriyolu meydana getirir.

Böbrek kan dolaşımı, iki ayrı kapiller yatağı olan özel bir dolaşımdır. Glomerüle ait ve tübül çevresindeki (peritübül) kapillerler, seri şeklinde düzenlenmişlerdir. Bunlar birbirlerinden, her iki kapiller yatakta hidrostatik basıncın düzenlenmesine yardımcı olan

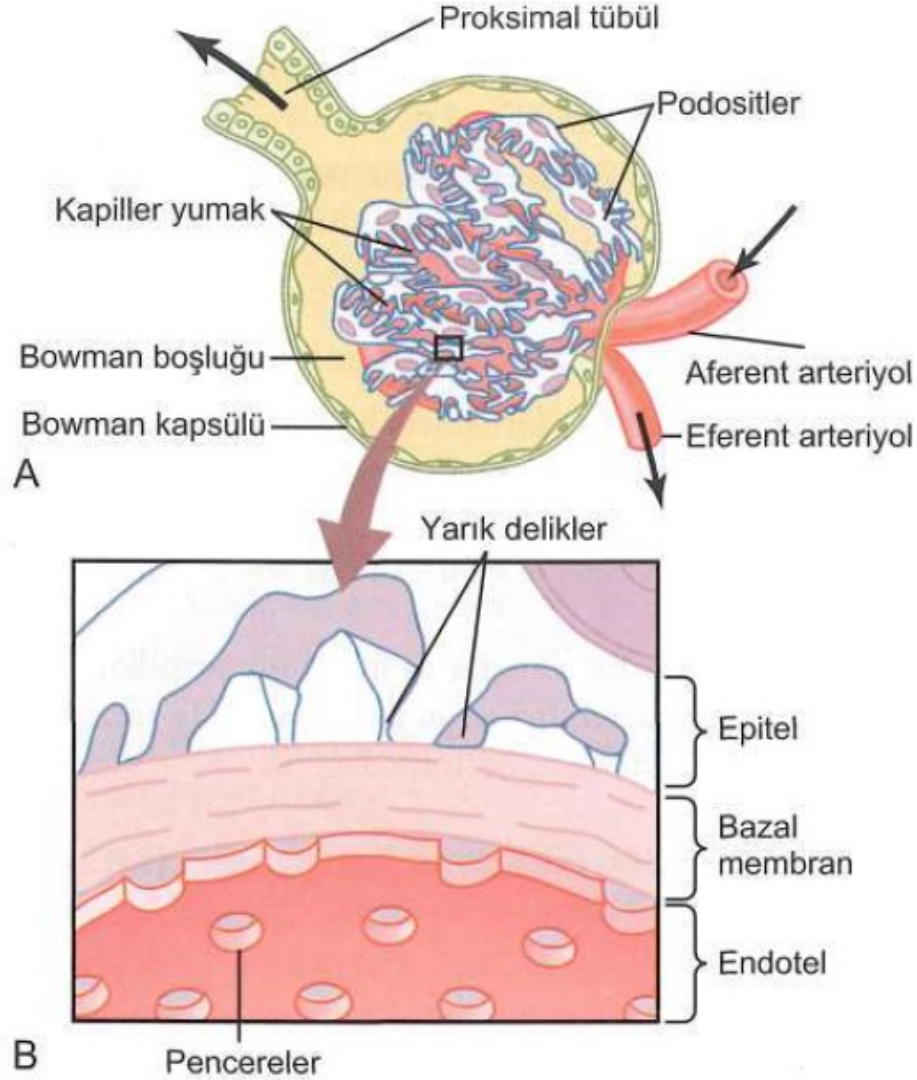
eferent arteriyol ile ayrılırlar. Glomerül kapillerlerindeki yüksek hidrostatik basınç (yaklaşık 60 mm Hg) sıvının çabuk filtrasyonuna neden olur, fakat peritübül kapillerlerinde çok daha düşük olan (yaklaşık 13 mm Hg) hidrostatik basınç sıvının çabuk geri emilimine olanak sağlar (Şekil 6). Böbrekler aferent ve eferent arteriyollerin direncini ayarlayarak, hem glomerül kapillerleri hemde peritübül kapillerlerinde hidrostatik basıncı düzenlerler. Böylece vücudun homeostatik ihtiyaçlarına cevabın glomerül filtrasyon hızını veya tübül geri emilimini değiştirirler. Peritübül kapillerleri, arteriyol damarlarına paralel seyreden venöz sistemin damarlarına boşalırlar. Bunlarda sırası ile interlobüler ven, arkuat ven, interlober ven ve son olarak renal arteri ile üreterin yanında böbreği terk eden böbrek venini oluştururlar [45].



Şekil 6. İnsanlar için glomerüler kapiller ağıdan filtrasyona sebep olan kuvvetlerin özeti [45].

Glomerüller kapiller ağı çevreleyen bowman kapsülünün epitel tabakası, kapiller endotel hücreleriyle birbirlerinden bazal membran ile ayrılmaktadır. Bazal membran bu iki

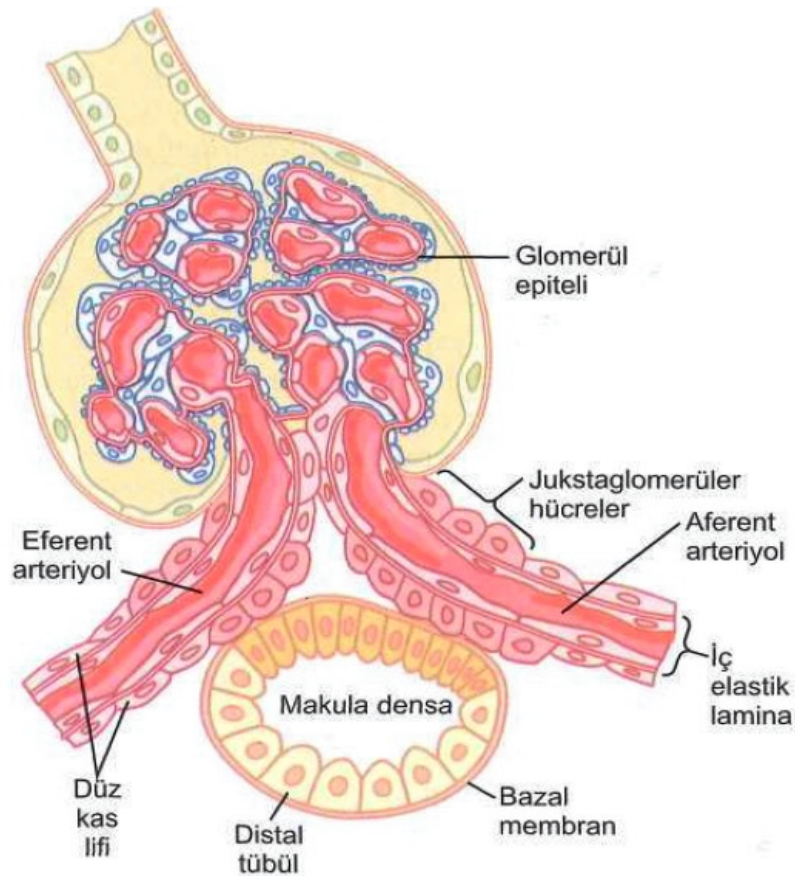
hücreyide ortaklaşa kullanır. Endotel hücreleri (kapillere ait), epitel hücresi (bowman kapsülüne ait podositler denilen) ve aralarında kesintisiz uzanan bir zar (süzücü membran) ile kanın süzülerek geçtiği bir yapı oluşturulur (Şekil 7). Glomerül kapillerlerinden gelen süzüntü (kandan süzülen filtrat), bowman kapsülüne akar ve böylece idrar oluşumunun ilk basamağı gerçekleşir (glomerüler filtrasyon) [46].



Şekil 7. Glomerül kapillerlerinin ince yapısı, B: Glomerül kapiller zarının kesiti ve ana bileşenleri; Kapiller endoteli, bazal membran ve epitel (podositler) [45].

Distal tübül, böbrek cisimciğine yaklaştığında glomerülusa giren afferent arteriol ile kısa bir komşuluk yapar. Bu bölgede kan damarının düz kas tabakasındaki bazı hücreler ve

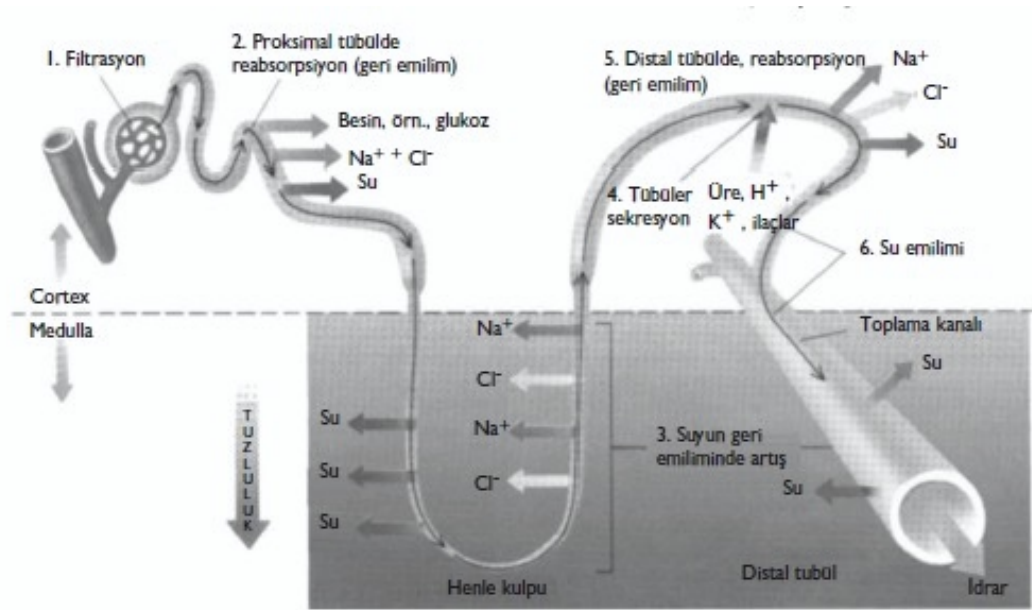
distal tübül duvarındaki hücreler, farklı özellikler kazanmışlardır. Bu özel yapı “makula densa” olarak adlandırılır (Şekil 8). Makula densanın konumunda, afferent arteriöl hücreler, efferent arteriöl hücreler ve iki arteriöl arasında bulunan hücrelerinde farklılaşmasıyla özel bir yapı oluşturdıkları tespit edilmiştir. Bu özel yapıya, “juktastaglomerüler aperey” adı verilir (Şekil 8). Makula densayı oluşturarak kıvrım şeklinde uzanan distal tübül, idrar toplama kanalları ile devam eder. İdrar toplama kanalları, etrafındaki distal tübüller ile birleşir. Bu kanallar piramitler boyunca ilerler ve toplanan idrarı pelvis renalise boşaltır. Böbrek cisimciğinden ayrılan efferent arteriöl, tübülsler çevresinde peritübüler damar yatağını meydana getirirler. Peritübüller kapillerin geçirgenlikleri çevreledikleri tübül alanına göre değişiklik gösterir. Tübül sıvısından geri emilen maddeler peritübüller kapiller vasıtasıyla alınarak kana karışmaktadır [46].



Şekil 8. Jukstastaglomerüler aygıtın yapısı, nefron fonksiyonunun kontrolünde olası geribildirim rolünü ortaya koymaktadır [45].

Süzüntü içinde yer alan su ve suda erimiş maddeler, basit difüzyon ve aktif taşınma ile önce tübül epitel hücrelerine, buradanda kana geri emilirler (Tablo 2) [46]. Geri emilim, hayati miktarda sıvı kaybı ile canlı yaşamının kısa bir süre sonra sona ermesini engellemektedir [45]. Tübüllerde gerçekleşen madde emilimi (reabsorbsiyon), organizmanın gereksinimleri doğrultusunda düzenlenir. Glomerüler süzüntü ile idrar arasındaki farklılık, tübüllerdeki geri emilim sonucunda oluşmaktadır (Şekil 9). Geri emilimin %90'ı proksimal tübülde gerçekleşir. Tübüllerde su, glukoz, sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfat, karbonat gibi iyonlar ve aminoasitler gibi maddeler geri emilirler (Tablo 2). Proksimal tübül bölgesinde suyun geri emilimi, geri emilen madde miktarı ile belirlenmektedir. Geri emilen madde miktarı arttıkça suyun geri emilimide artar [47].

Bazı maddelerin geri emilmelerine ise hormonlar etki eder. Aldosteron hormonu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan sodyum iyonunun geri emilimine, potasyum iyonunun idrara atılmasına neden olur [46].



Şekil 9. Tübüllerde madde alışverişi [46].

Tablo 2. Farklı maddelerin böbrekler tarafından filtrasyon, geri emilim ve atılma hızları [45].

	Filtre olan miktar	Geri emilen miktar	Atılan miktar	Filtre olan yükün geri emilme %'si
Glikoz (gr/gün)	180	180	-	100
Bikarbonat (mEq/gün)	4.320	4.318	2	>99.9
Sodyum (mEq/gün)	25.560	25.410	150	99.4
Klorür (mEq/gün)	19.440	19.260	180	99.1
Potasyum (mEq/gün)	756	664	92	87.8
Üre (gr/gün)	46.8	23.4	23.4	50
Kreatinin (gr/gün)	1.8	-	1.8	-

1.3. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği (ABY); böbreklerden atık maddelerin atılması, idrarın konsantre edilmesi, elektrolitlerin korunması ve sıvı dengesinin düzenlenmesi gibi görevleri aniden yitirmesi durumudur. ABY ile meydana gelen bu durumun şiddeti ile süresi, diğer organ ve sistemleride etkileyebilmektedir [48, 49].

Akut böbrek yetmezliği nedenleri temelde üç kısma ayrılır:

1. Böbreğe gelen kan akımının yetersiz olmasından kaynaklanan akut böbrek yetmezliği. Bu durum bir başka organdan (örneğin kalp) kaynaklanır ve prerenal akut böbrek yetmezliği olarak adlandırılmaktadır. Kalp debisinin azalması ile kan basıncındaki düşüşle görülen kalp yetmezliği veya ciddi bir kanama ile düşük kan basıncı görülmesi gibi durumlar sonucunda görülebilir.

2. Böbrek içinde yer alan kan damarlarını, glomerülleri ya da tübülleri etkisi altına almasıyla oluşan intrarenal akut böbrek yetmezliği.

3. Kalikslerden mesaneye kadar olan üriner toplayıcı sistemde meydana gelebilecek bir tıkanma nedeniyle görülen postrenal akut böbrek yetmezliği. Üriner kanalın tıkanmasında en önemli nedenlerinden biri böbrek taşlarıdır [45].

1.3.1. Prerenal Nedenler

Böbrek kan akışında azalmaya neden olurlar. Bu durumun görülmesi ile glomerül filtrasyon hızındaki (GFR) düşüşün yanı sıra idrar, su ve elektrolit atılımında azalma meydana

gelir. Renal kan akışının durması idrar atılımının bitmesi ile sonuçlanır ve “anüri” olarak adlandırılır. Kan akışının azalması ile ilgili durumlar şu şekilde sıralanabilir [47];

a) İntravasküler hacim azalması, kanama (travma, operasyon, doğum sonrası, gastrointestinal), ishal, kusma ve yanıklar.

b) Kalp yetmezliği (miyokard infarktüsü, kapak hasarı vb.)

c) Primer renal hemodinamik anomaliler (renal arter stenozu, renal arter veya veninin emboli veya trombozu, prostoglandin sentezinin aşırı blokajı).

d) Periferik vazodilatasyon ve bunun neticesinde oluşan hipotansiyon (anafilaktik şok, anestezi, sepsis, şiddetli enfeksiyonlar) [47].

1.3.2. Renal Nedenler

ABY'ye yol açan renal nedenler arasında, iskemi yada toksinlere bağlı gelişen ve organ hasarına yol açan akut tübüler nekroz yer almaktadır. Bu durum, glomerüler kapiller veya böbrek arteriyollerinin, böbrek tübüler epitelinin ve böbrek interstisyumunun hasarına sebebiyet vererek ABY gelişimi görülür. Renal ABY'nin nedenleri şu şekilde sıralanabilir.

a) Küçük damarlarda veya glomerüluslardaki hasarlar (kolesterol embolisi, malign hipertansiyon),

b) Tübüler epitel hasarlar (iskemi sonucunda akut tübüler nekroz, toksinler nedeniyle akut tübüler nekroz); intravasküler ve endojen toksinlere bağlı hemoliz, hemoglobinüriye neden olan etmenler, glomerülitis, postenfeksiyöz nefrit, nefrotoksinler ve iskemi),

c) Renal intestisyel hasarlar olarak sıralanabilir.

Renal ABY'de oluşan patoloji, ABY'den farklı olarak böbrek kan akımının sağlanması ile düzelmemektedir, fakat kortikal nekroz oluşturacak seviyede bir işlev bozukluğu söz konusu ise böbrek yetmezliğinin kalıcı olması söz konusudur [47, 50, 51].

1.3.3. Postrenal Nedenler

Üreterlerin, renal pelvislerin büyük taşlar ya da kan pıhtıları ile bilateral tıkanması veya üretranın tıkanması gibi durumlar ABY'ye neden olmaktadır. Bu nedenlerden dolayı ABY'den hemen önce böbrek fonksiyonları yerinde olmasına rağmen, idrar akımının kısmen

veya tamamen durması ABY ile sonuçlanmaktadır. Kan pıhtısı, renal papilla ödemi, renal daralmalar, nörolojik disfonksiyonlar, travma, çeşitli eksternal komplikasyonlar, prostat hipertrofisi, serviks kanserleri, pelvik kitleler, üretral daralmalar ve mesanede ki kitleler gibi idrar akışını engelleyen durumlar postrenal ABY'nin nedenleri arasında yer almaktadır [47, 50-53]. ABY'nin düzeltilmemesi, GFR'de ki azalma ile böbrek sıvı-elektrolit seviyesini düzenleme ve metabolik endokrin fonksiyonlarda kronik ve artan bozulma hali olarak tanımlanan kronik böbrek yetmezliğini (KBY) ortaya çıkartmaktadır [47, 54].

1.4. Kronik Böbrek Yetmezliği

KBY, glomerüler filtrasyon seviyesinde görülen düşüşle birlikte böbreğin sıvı-çözelti dengesini düzenlemekte ve metabolik-endokrin fonksiyonlarda görülen kronik bozulma halidir. KBY'ye bir çok faktör yol açabilir. Genel olarak en sık görülen nedenler arasında; diyabet, hipertansiyon, polikistik böbrek hastalığı ve interstisiyel nefritler vardır [55].

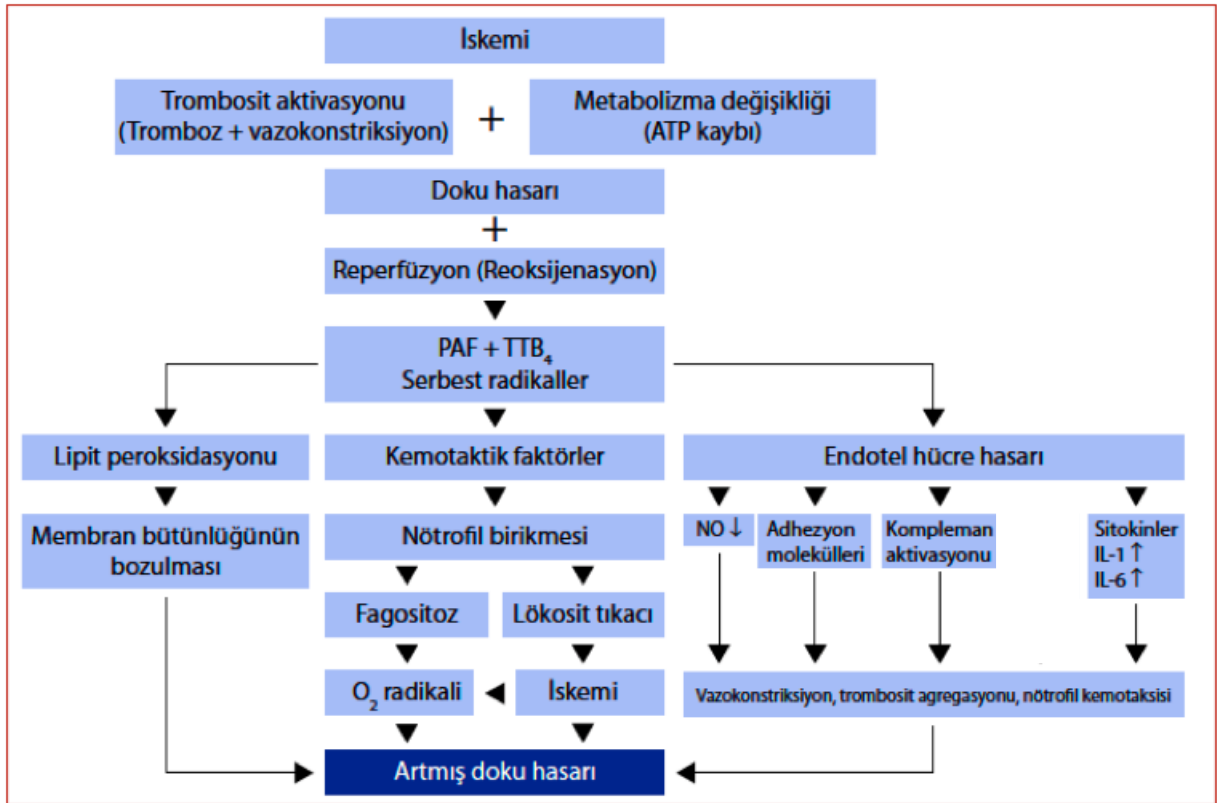
Böbreği etkileyen herhangi bir hastalıkta glomerül sayısının azalmasına rağmen, yük aynı kaldığı için glomerül başına düşen perfüzyon oranı artar (hiperperfüzyon) ve hiperfiltrasyona bağlı olarak intraglomerüler hipertansiyon gelişir. Daha sonra anjiotensin II gibi kan damarlarında kan basıncının artmasını sağlayan (vazokonstriksiyon) faktörlerin olaya karışması ile endotelde yırtılma olur ve damarlarda kitleler oluşur. Böylece glomerüller tükendikçe geride kalanlara binen yük giderek artar ve kreatinin seviyesi hızla yükselir. KBY'li hastaların büyük bir kısmında böbrek boyutları küçülmüştür ve biyopside primer nedene bağlı olmaksızın glomerüloskleroz görülür. Altta yatan sebebe bağlı olarak, belli bir süre geçtikten sonra primer neden ortadan kalksada gidişat durdurulamaz ve KBY gelişir [54, 56].

1.5. İskemi Reperfüzyon

Atardamar ve toplardamarlarda ki kan dolaşımının herhangi bir nedenle azalması veya kesilmesi ile organ ve dokunun yetersiz perfüzyonu sonucu, söz konusu doku veya organların oksijenden yoksun kalması durumuna iskemi denilmektedir. İskemi, hücresel enerji depolarının tükenmesi ve toksik metabolitlerin birikmesi neticesinde hücre ölümüne

sebebiyet vermektedir. İskemiye maruz kalan dokularda, hem hücrenin rejenerasyonu hem de toksik metabolitlerin temizlenmesi için yeniden kan akımı gerekmektedir. Fakat reperfüzyon dokuda çelişkili olarak sadece iskemi ile oluşan hasara göre çok daha ciddi bir hasara yol açabilir [7, 8].

Reperfüzyon sürecinde takip edilen hasarda, hücre içine moleküler oksijen girişi üzerine hızla oluşan serbest oksijen radikaller (SOR) ve bunların türevleri başta olmak üzere birçok mekanizma yer almaktadır. Reperfüzyon hasarına son derece duyarlı olan hücresel yapılar; zar lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir [7, 57]. İskemik dönemde hücrede birtakım metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (Şekil 10). Dokuya gelmesi gereken kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalmakta ve adenosin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi durma seviyesine gelmektedir [7, 58]. Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında lokalize olan Na^+ , K^+ -ATPaz pompası inhibe olur ve bunun sonucunda, hücre içinde Na^+ ve Ca^{2+} iyon konsantrasyonları artmaktadır [7, 59]. Hücre içinde Ca^{2+} iyon konsantrasyonunun artması durumu, hücre için sitotoksiktir [7, 60]. Aynı zamanda hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi beraberinde proinflamatuvar sitokinlerin ve lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalmaya yol açmaktadır. Ortaya çıkan tüm bu tablo hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar. İskemik dönemde adenosin trifosfat (ATP) üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den adenosin monofosfat (AMP) ve adenosin oluşmaktadır. Meydana gelen adenosin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ile hipoksantine parçalanır. İskemi sonucu ATP yıkımı, dokuda ksantin, hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. İskemik olmayan normal hücrede, hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı olarak NAD^+ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) görev alır. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle $\text{KDH} \rightarrow \text{KO}$ 'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü, KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır [61]. KO artması ile SOR salınması solunum patlaması olayını meydana getirir. Solunum patlaması, oksijen tüketiminin hızla arttığı ve süperoksit (O_2^-) radikallerinin olduğu bir süreçtir. Bu olay sırasında O_2^- molekülünden süperoksit dizmütaz (SOD) aktivitesi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşmaktadır.



Şekil 10. İskemi/reperfüzyon hasarında yer alan olaylar dizisi [7].

1.6. Serbest Radikaller

Serbest radikaller yörüngesinde eşleşmemiş “elektron” bulunduran; bu nedenle negatif yüklü elektron sayılarının, pozitif yüklü proton sayısına eşit olmadığı basit bir molekül, atom veya iyonlardır [62]. Serbest radikaller bu ortaklaşmamış elektronlarından dolayı çevrelerindeki atom ve moleküllere karşı reaktif bir tutum sergilerler. Oldukça kısa ömürlü olmalarına karşın, radikal olmayan moleküllerle reaksiyona girerek radikalleşmelerine neden olurlar. Böylece bir dizi zincir reaksiyonu başlatıp, birçok radikal oluştururlar. Bu tutumlarından dolayı serbest radikalleri oldukça tehlikelidirler [3, 63-65].

Biyomoleküllerin çoğu atomları birbirlerine kovalent bağlı ve nonradikal yapılardır. Atomlar arası kovalent bağlar, elektron çiftlerinin paylaşılmasıyla oluştuğundan serbest radikallerde yarım kalmış bağ gibi bakılabilir. Bu radikaller fizyolojik şartlarda, dış etkenlere karşı organizmanın savunmasında da belirli oranda oluşabilmekte ve içsel mekanizmalarla organizmada görülebilecek zararlı etkileri önlenmektedir. Biyolojik sistemlerde oluşan serbest

radikallerin endojen kaynakları oksijen, nitrik oksit (NO), uyarılmış nötrofil, mitokondriyal elektron transport sistemi, endoplazmik retikulum, peroksizom ve plazma membranı olarak sayılabilir. Solunan oksijenin yaklaşık %5'i organizmada son yörüngelerinde ortaklanmamış elektron içeren toksik serbest radikallere dönüşmektedir [66].

İskemik dokunun tekrar kanlanması ile O_2^- , hidroksil (OH^-), hipoklorik asit, H_2O_2 ve NO'dan oluşan peroksinitrit gibi reaktif oksijen radikalleri oluşur. İskemik dokuda ATP kullanımı devam ettiği halde, üretimi azalmaktadır. ATP kullanımı sonucu ATP'den adenosin monofosfat ve adenosin oluşur. Adenosin hücre dışına difüze olurken, inozin ve hipoksantine dönüşür. Normal şartlarda hipoksantin, KDH aracılığıyla ksantine parçalanır, fakat iskemik durumda kalsiyum ile aktive edilen ve "kalpein" olarak tanımlanan sitozolik proteaz enzimi ile KDH, KO'ya dönüşmektedir [67, 68].

1.7. Oksidatif Stres

Oksidasyon, bir atom ya da molekülün bir alıcıya elektron vermesi süreci olarak tanımlanmaktadır. Yükseltgenme potansiyeli karşısındakine göre yüksek olan madde yükseltgenirken diğeri indirgenir [69]. Oksidatif stresin baş sorumluları reaktif oksijen ve azot türleridir [70]. Vücudumuzdaki ve besinlerdeki lipitler, proteinler, karbonhidratlar, nükleik asitler oksidasyona uğrayabilmekte ve canlı organizma için zararlı olabilecek oksidasyon ürünleri oluşabilmektedir [69].

Serbest radikallerin proteinlere, nükleik asitlere, DNA'ya, membran lipitlerine ve karbonhidratlara etkileri kısaca aşağıda belirtilmiştir;

1. Proteinler: Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin histidin, metionin, sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler [71-73].

2. Nükleik Asitler ve DNA: Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar [74, 75].

3. Membran Lipidleri: Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Lipid peroksidasyonu organizmada oluşan kuvvetli yükseltgen bir radikalın membran yapısında bulunan

poliansature yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir H atomu uzaklaştırılması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu radikalin O_2^- radikali ile OH^- radikali olduğu kabul edilmektedir [76, 77].

Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden bir H atomunun uzaklaştırılması sonucu, zincir radikal niteliğini kazanmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali (L^*) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Özellikle molekül içi çift bağ aktarılmasıyla dien konjugatları ve daha sonra lipid radikalının moleküler oksijenle etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir. Bu lipid peroksit radikalleri, zar yapısındaki diğer poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileride açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid peroksitlerine ($LOOH$) dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendine katalizlenerek yürümektedir [78, 79].

Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona erer. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiobarbitirik asit (TBA) testiyle ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır [78, 79].

4. Karbohidratlar: Serbest radikallerin karbohidratlar üzerine önemli etkileri vardır. Glukoz, mannoz ve deoksi şekerler fizyolojik şartlarda otooksidasyona uğrayarak, O_2^- ve H_2O_2 'i meydana getirirler. Monosakkaritlerin otooksidasyonunun, protein çapraz bağlanmalarına yol açarak agarega olmalarına sebep olduğu gibi bazal membran kalınlaşmasına ve sonuçta katarakt, mikroanjiopati gelişiminde sebep oldukları ileri sürülmektedir [80].

1.8. Antioksidanlar

Organizmada oksidan moleküllerin oluşturdukları hasara karşı koruyucu mekanizmalar bulunur. Oksidan düzeyi ile antioksidan sistem arasında denge söz konusudur. Oksidanların düzeyi yükselir ve antioksidanlar yetersiz kalırsa bu denge bozulur ve oksidan moleküller hücrenin birçok bileşenini (protein, lipid, karbohidrat, nükleik asit, enzimler) etkileyerek hücre hasarına yol açarlar [4, 81]. Antioksidanların fonksiyonları arasında serbest radikal oluşumunu sınırlandırması, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlaması, oluşan serbest

radikallerin ortadan kaldırılması, hasarlı moleküllerin tamir ve temizlenmesi yer alır [82-84]. Antioksidan ajanlar oksidan moleküllere karşı etkilerini dört yolla gösterirler.

Bunlar;

i. Süpürücü/temizleyici etki gösterenler: Radikal oluşumunu engellerler ve oluşmuş olan radikalleri daha az zararlı hale getirirler. Örnek olarak, SOD ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimleri ve metal bağlayıcı bazı proteinler verilebilir.

ii. Giderici etki gösterenler: Oksidanlarla etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini inaktif hale getiren bileşiklerdir. Örnek olarak, vitaminler (A, C ve E vitaminleri), flavonoidler, mannitol ve antosiyanidinler verilebilir.

iii. Zincir kırıcı etki gösterenler: Zincirleme olarak devam eden tepkimeleri belli yerlerinden kırarak, oksidan etkiyi durdururlar. Örnek olarak bazı vitaminler, ürik asit, bilirubin ve albümin gösterilebilir.

iv. Tamir edici etki gösterenler: Bu grupta DNA tamir enzimleri, metionin sülfoksit redüktaz sayılabilir.

Canlılarda mevcut mekanizmalar sonucu oluşan serbest radikaller, çoğu zaman lipid oksidasyonuna ve buna bağlı olarak da hücre ölümlerine neden olmaktadır. Antioksidanlar, oksidasyonun çeşitli aşamalarında yukarıda özetlenen mekanizmaların devreye girmesinde etkili olan maddelerdir. Sentetik olarak üretilbildiği gibi doğal kaynaklardanda elde edilebilirler. Bu tür maddeler, oluşan serbest radikalleri ya doğrudan temizleyerek ya da elektron veya hidrojen aktarımı yaparak etkisiz hale getirir [85].

İskemiye maruz kalan dokunun reperfüzyonu sırasında aynı anda ortaya çıkan reaksiyonlar sonrasında doku hasarı artar. Görülen bu doku hasarı aşağıdaki gibi özetlenebilir;

1. Serbest oksijen radikali oluşumu: Reperfüzyon ile oksijenin hızla dokuya geçişi, pürinlerin KO ile oksidasyonuna ve böylece O_2^- radikalleri ve urat oluşumuna neden olmaktadır [7, 86].

2. NO miktarının peroksinitrit ($ONOO^-$) oluşumuyla azalması: İskemik dokunun reperfüzyonu, arteriyollerde endotel bağımlı dilatasyonun bozulmasına, kapillerlerde lökosit tıkaçlarının oluşması ve sıvı filtrasyonunun artmasına, postkapiler venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasına ve böylece mikrovasküler fonksiyonun bozulmasına neden olur [86, 87].

3. Nötrofil aktivasyonu: I/R hasarında reaktif oksijen türevlerinin ve makrofajların nötrofil aktivasyonu ve adezyonuna neden olmak suretiyle doku hasarına yol açtıkları ileri sürülmektedir. Reperfüzyon hasarını önlemeye yönelik antinötrofil serumlarla ya da lökosit adezyon moleküllerine karşı monoklonal antikorlarla yapılan çalışmalar, reperfüzyonda mikrovasküler permeabilitedeki artıştan başlıca nötrofillerin sorumlu olduğunu göstermiştir [7].

4. Proinflamatuvar sitokin salınımı: İskemik dokunun reperfüzyonu ile başlıca dokuda bulunan makrofajlar tarafından dolaşımdaki nötrofillerin ve lenfositlerin inflamasyon bölgesine çekilebilmesi için çeşitli mediatörler salgılanır. Bu mediatörlerin en önemlileri Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) ve interlökin-1 beta (IL-1 β)'dır.

Tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α): Herhangi bir operasyon sonucunda doku travması ya da enfeksiyonlarla meydana gelen inflamatuvarlar, proinflamatuvar sitokin döngüsünün devreye girmesini sağlamaktadır. TNF- α sentezinin kaynağını, periton ve iç organa ait dokularda bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleri oluşturmaktadır. Karaciğerde özelleşmiş makrofajlardan olan kupffer hücreleri, insan vücudunda bir arada bulunan en büyük makrofaj topluluğudur. Bu hücreler, iç organlardaki cerrahi veya travmatik yaralanmalarla, inflamatuvar mediatörlerin oluşumu ve akut faz proteinlerinin yapımı gibi homeostatik cevabın oluşumunda önemli bir etkiye sahiptir. Akut travmaya cevap olarak TNF- α salınımı kısa süreli oluşmaktadır [86, 88].

İnterlökin-1 (IL-1): TNF- α , makrofajlardan ve endotelial hücrelerden IL-1 biyosentezi ve salınımını indüklemektedir. IL-1'in IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki proinflamatuvar türü vardır; IL-1 α hücre zarı ile ilgili olup, etkisini hücreler arası etkileşimlerle gösterir. Dolaşımda bulunan IL-1 β , IL-1 α 'ya oranla daha fazla miktarda sentezlenir ve travma sonrasında oluşan sistemik değişiklikleri indükler. TNF- α ve IL-1 β reseptörleri farklı olmasına rağmen etki bakımından TNF- α ile benzer fizyolojik ve metabolik değişikliklere sebep olurlar [86].

TNF- α , IL-1 β ve IL-6 proinflamatuvar sitokinlerin bir anahtarıdır. Merkezi sinir sisteminin inflamatuvar hasar üzerinde önemli görevleri vardır. Hücre membranlarına doğrudan hasarlarının yanı sıra, serbest radikaller nötrofil birikimini aktive eder ve TNF- α ile IL-1 β üreten çeşitli hücre tiplerini uyarırlar. Böylece, diğer sitokinlerin ve endotelial hücre hasarı ile

spinal kord iskemisinde meydana gelen endotel kökenli lökosit adezyonunun oluşumuna katkıda bulunurlar [89].

İnterlökin-6 (IL-6): 26 kD'luk bir sitokin olan IL-6, mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktif T hücreleri tarafından da sentezlenmektedir. IL-1 ve TNF- α 'nın beraberinde salgılanıp, birlikte sinerjistik etki gösterirler. IL-6'nın etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olmaktadır. Akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından oksidasyonu, yağ dokusu lipoprotein lipaz (LPL) aktivite azalması ile katabolik reaksiyonları anımsatan fizyolojik değişikliklerin ortaya çıkarılabileceği gösterilmiştir. IL-6 üzerine yapılan araştırmalar insülinin hepatik glikojen metabolizması üzerine ters etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [40].

2. MATERYAL METOD

Çalışma Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı tarafınca onaylanan (Toplantı sayı: 2013/02; Karar no: 32, Ek 1.) çalışmadaki bütün uygulamalar etik kurul protokolüne uygun şekilde gerçekleştirildi.

2.1. Deneysel Hazırlık

2.1.1. Apelin-13'ün Hazırlanması

Deneyde kullanılan apelin-13 hormonu Sigma-Aldrich Co.'dan (ABD, Katalog No: A6469) alındı. Çalışmaya başlanmadan hemen önce, apelin-13'ün üç farklı konsantrasyonu (1, 10 ve 100 µg/kg) serum fizyolojik (SF) içerisinde hazırlandı.

2.1.2. Deney Hayvanları

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden temin edilen 320-370 g ağırlığında, Sprague-Dawley cinsi toplam 35 adet erkek sıçan kullanıldı. Deneysel süre boyunca sıçanlar 21-22°C sıcaklık aralığında, 12 saat aydınlık-karanlık periyodunda tutuldu. Deney süresince sıçanlar *ad libitum* olarak standart sıçan yemi yediler ve musluk suyu içtiler.

2.2. Grupların Oluşturulması

Sıçanlar ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde, rastgele 5 gruba ayrıldı (herbir grup n=7). Gruplar ve yapılan uygulamalar aşağıda belirtilen şekilde gerçekleştirildi.

1. Sham grubu (Sham): Hayvanların sağ böbrekleri diseke edildi.
2. I/R grubu: Sağ böbrek diseke edilerek sol böbreğe 45 dk iskemi ve sonrasında 3 saat reperfüzyon uygulandı.

3. Düşük doz apelin-13 uygulanan grup (APLN-1 µg): Sağ böbrek diseke edilip, sol böbreğe 45 dk iskemi ve sonrasında 3 saat reperfüzyon uygulandı. İskemi başlangıcında 1 µg/kg apelin-13 i.p. olarak verildi.
4. Orta doz apelin-13 uygulanan grup (APLN-10 µg): Sağ böbrek diseke edilip, sol böbreğe 45 dk iskemi ve sonrasında 3 saat reperfüzyon uygulandı. İskemi başlangıcında 10 µg/kg apelin-13 i.p. olarak verildi.
5. Yüksek doz apelin-13 uygulanan grup (APLN-100 µg): Sağ böbrek diseke edilip, sol böbreğe 45 dk iskemi ve sonrasında 3 saat reperfüzyon uygulandı. İskemi başlangıcında 100 µg/kg apelin-13 i.p. olarak verildi.

2.3. Cerrahi Uygulamalar

Hayvanlarda anestezi intramusküler yolla 8 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, İstanbul/Türkiye) ve 70 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul/Türkiye) ile sağlandı [90]. Anestezi derinliği göz refleksi ile değerlendirildi.

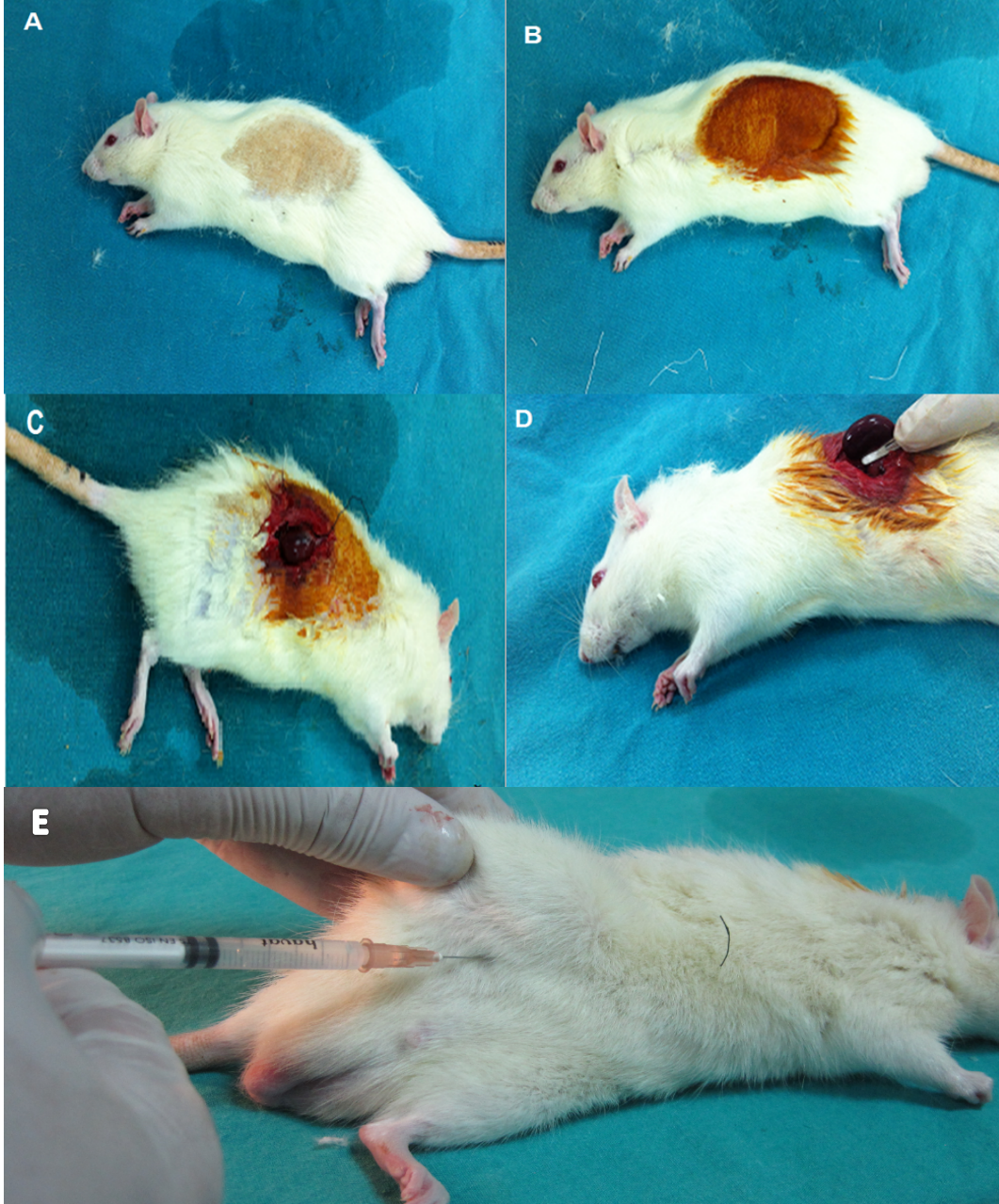
Sağ böbreğin diseke edilmesi

Sham, I/R ve apelin-13 uygulanan gruplardaki sıçanlar anesteziye alındıktan sonra sırt bölgeleri (sağ ve sol) tıraş edildi (Şekil 11). Öncelikle bütün gruplardaki hayvanların sağ böbrekleri diseke edildi. Bu amaçla sıçanların tıraş edilen sırt bölgeleri %10 povidon iyodin sürülerek dezenfekte edildi. Sağ taraftan sırt bölgesi (böbrek hizasında) bistüri kullanılarak yaklaşık 2-3 cm boyutunda iç organlara zarar verilmeden açıldı. Sağ böbrek net olarak görüldü ve renal arter atravmatik 4,0 ipek cerrahi iplikle bağlanarak diseke edildi. Kan akımının kesilmesi böbrekteki renk değişimi izlenerek belirlendi. Sıçanların maruz kaldığı operasyonda sıvı replasmanı sağlamak için 40 dk aralıklarla 3 defa (500 µL) SF i.p. olarak uygulandı.

Sol böbreğe I/R uygulaması

I/R ve apelin-13 gruplarındaki sıçanların sol taraf sırt bölgelerinde 2-3 cm uzunluğunda açılarak sol böbreğin görülmesi sağlandı. İskemi oluşturmak üzere sol böbrekteki kan akımı renal artere klemp takılarak 45 dk süresince engellendi (Şekil 11). Apelin-13 gruplarındaki hayvanlara iskemi başlangıcında i.p. olarak apelin-13'ün 3 farklı konsantrasyonu uygulandı (Şekil 11). Sol böbrekte kan akımının durduğu renk değişimi ile belirlendi. İskemi

sonrasında renal artere takılan klemp açılarak böbreğin tekrardan kanlanması sağlandı. Kan akımı 3 saat süre ile gerçekleştirildikten sonra sıçanlar feda edildi [91, 92].



Şekil 11. Cerrahi hazırlık ve işlemler.

(a:Çalışma öncesi ratların traş edilmesi. b:Tıraş edilen bölgenin povidon iyot ile temizlenmesi. c:Sağ böbreğin diseke edilmesi. d:Sol böbreğin klemplenmesi. e:Apelin-13'ün i.p. enjeksiyonu.)

2.4. Dokuların Toplanması

Deney sonrasında sıçanların kan ve sol böbrek dokuları alındı. Kan örnekleri 3500 rpm'de 15 dk santrifüj edildi ve serumları toplandı. Numuneler analizler yapılincaya kadar eksi 80°C'de saklandı.

2.5. Dokuların Analizi

2.5.1. Serum Örneklerinin Analizi

2.5.1.1. Biyokimyasal Analiz

Serum kan üre azotu (BUN), kreatinin, klor, sodyum, potasyum, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), gama glutamil transferaz (GGT), total protein ve albumin düzeyleri Fırat Üniversitesi Merkez Laboratuvarında Olympus AU 600 (Optical Co Ltd., Japan) otoanalizörü kullanılarak belirlendi.

2.5.1.2. ELISA Analizleri

Deney gruplarının serum TNF- α , IL-1 β , IL-6, TAS ve TOS düzeyleri rat spesifik ELISA kitleri kullanılarak belirlendi. Analizler Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ELISA laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışmalar BIOTEK ELx50 model plaka yıkayıcı (ABD), BIOTEK ELx800 model ELISA okuyucu (ABD) ve Panasonic KX-P1150 Multimod ELISA yazıcısı (Japon) kullanılarak yapıldı.

2.5.1.2.1. TNF- α , IL-1 β ve IL-6 Seviyelerinin Ölçülmesi

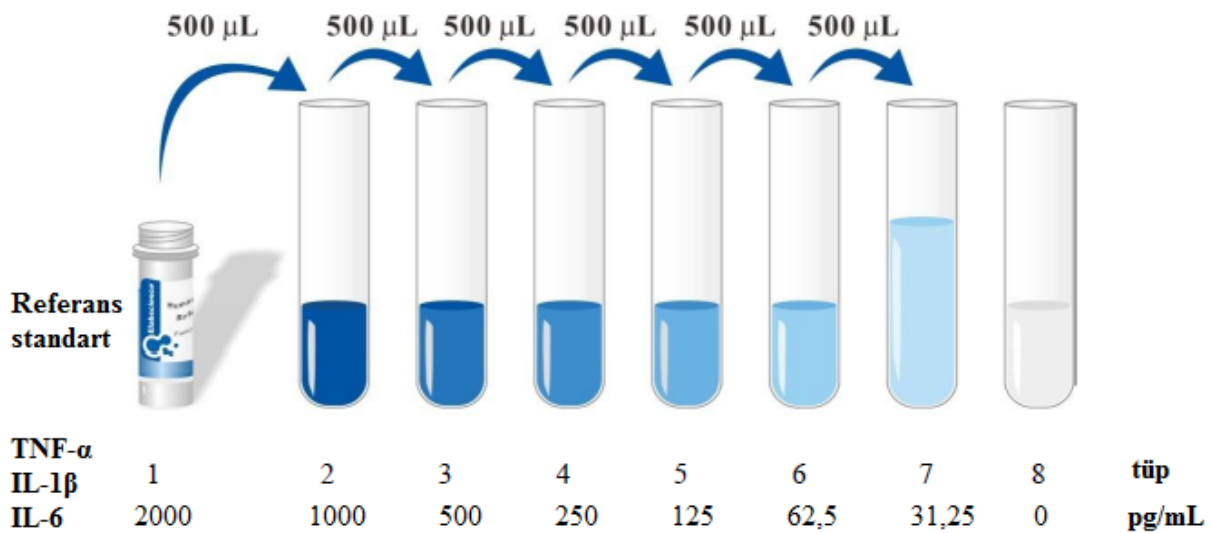
Grupların serum TNF- α , IL-1 β ve IL-6 seviyeleri rat spesifik ELISA kitleri (TNF- α , E-EL-R0019; IL-1 β , E-EL-R0012; IL-6, E-EL-R0015; Elabscience, Çin) kullanılarak belirlendi. ELISA analizi aşağıda belirtildiği gibi kit protokolü takip edilerek gerçekleştirildi.

2.5.1.2.2. Reaktiflerin Hazırlanması

Çalışma öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına (25°C) getirildi. Yıkama tamponu 30 mL konsantre halde olduğundan 750 mL distile su ile seyreltme işlemi yapıldı. Kit protokolündeki

öneri üzerine 40°C’de ki su banyosunda kristaller tamamen kayboluncaya kadar karıştırıldıktan hemen sonra çözelti oda sıcaklığına getirildi.

Standart ise kullanmadan hemen önce hazırlandı. Hazırlık için 1 mL referans standardı ve örnek dilisyonu sulandırılarak, 10.000 x g’de 1 dk santrifüj edildi. Böylece 1000 pg/mL’lik bir stok solüsyonu elde edildi. Daha sonra 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 0 pg/mL olacak şekilde standart seri dilüsyonları oluşturuldu (Şekil 12).



Şekil 12. Kit standartlarının dilüe edilmesi.

Biyotinlenmiş antikor ve konsantre HRP konjugatı 100 µL/kuyu olacak şekilde hazırlandı. Bu aşamada biyotinlenmiş antikor ile antikor dilüenti ve konsantre HRP konjugatı ile HRP dilüenti 1:100 olacak şekilde seyreltildi ve stok tüplerine alındı. Substrat reaktifi ışıktan etkilendiğinden dolayı sadece ihtiyaç duyulduğunda kullanıldı.

2.5.1.2.3. Yıkama Prosedürü

ELISA yıkayıcıyla her bir kuyuya 350 µL yıkama tamponu eklenerek belirtilen süre (enjeksiyon ve emme arasındaki aralık 60 saniye) boyunca yıkama işlemi gerçekleştirildi.

2.5.1.2.4. Çalışma Prosedürü

Örnek, standart ve kör için her bir kuyuya 100 µL yükleme yapıldı. Kör kuyusuna sadece referans standart ve örnek seyreltici karışımı eklendi. Plakalar adeziv film (seal) ile kaplanarak 37°C’de 90 dk inkübe edildi. Biyotinlenmiş antikör uygulaması için kuyular boşaltıldı, fakat yıkama yapılmadı. Kuyulara hazırlanan biyotinlenmiş antikordan 100µL eklenerek 37°C’de 60 dk inkübe edildi. Daha sonra herbir kuyu 3 defa aspire edildi ve yıkandı. Hazırlanan HRP konjugat çözeltisinden kuyulara 100 µL yükleme yapıldı ve plakalar adeziv film ile kaplanarak 37°C’de 30 dk inkübe edildi. Yıkama işlemi bu aşamada 5 kez uygulandı. Her bir kuyuya 90 µL substrat çözeltisi eklendi ve plakalar adeziv film ile kaplanarak, 37°C’de 15 dk inkübe edildi. Bu işlem sırasında plakalar ışıktan korundu. Standart kuyularında belirgin bir gradient görüldüğünde durdurma işlemine başlandı. Bu işlem için herbir kuyuya 50 µL durdurma solüsyonu (stop solution) eklendi ve renklerin sarıya döndüğü görüldü. Son olarak elde edilen preparat 450 nm dalga boyunda ELISA okuyucu kullanılarak okundu. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi.

2.5.1.3. Serumda Total Antioksidant Durumunun Ölçülmesi

Serum örneklerinin total antioksidan seviyeleri Total Antioxidant Status (TAS) kiti (Katalog no; RL0017, Rel Assay, Türkiye) kullanılarak belirlendi. ELISA analizi kit protokolüne uygun şekilde gerçekleştirildi.

Kitin çalışma prensibi antioksidant moleküllerin koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna indirgemesine dayanmaktadır. Her bir kuyuya 500 µL reaktif 1 eklendikten sonra 30’ar µL standart 1, standart 2 ve serum örneği eklendi. Meydana gelen karışımın ilk absorbans değeri 660 nm’de belirlendi. Daha sonra her bir kuyuya 75 µL reaktif 2 eklendi ve 5 dk 37°C’de inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon sonrası son absorbans değeri 660 nm’de okunarak kaydedildi. Örneklerin total antioksidan durumları aşağıda ki formül kullanılarak hesaplandı.

$$\text{Sonuç} = [(\Delta\text{ABS STD1}) - (\Delta\text{ABS Örnek})] \div [(\Delta\text{ABS STD1} - \Delta\text{ABS STD2})]$$

$$\Delta \text{ ABS STD 1} = (\text{İkinci okuma Standart 1} - \text{İlk okuma Standart 1})$$

$$\Delta \text{ ABS STD 2} = (\text{İkinci okuma Standart 2} - \text{İlk okuma Standart 2})$$

$$\Delta \text{ Örnek Absorbansı} = (\text{Örnek için ikinci okuma} - \text{Örnek için ilk okuma})$$

2.5.1.4. Serumda Total Oksidant Durumunun Öçülmesi

Örneklerin total oksidant seviyeleri Rel Assay marka Total Oxidant Status (TOS) kiti (Katalog no; RL0024, Türkiye) kullanılarak belirlendi. Bu kapsamda stok sabitleyici standart solüsyonu (SSSS) deiyonize su ile 40,000 kez seyreltilti. 50 µL SSSS üzerine 10 mL deiyonize su ileve edildi ve vortekslendi (birinci aşama seyreltme). Tekrar 50 µL SSSS üzerine 10 mL deiyonize su ileve edildi ve vortekslendi (ikinci aşama seyreltme). Çalışma standardının nihai konsantrasyon 20 µM H₂O₂ oldu. Sonrasında her bir kuyuya 500 µL reaktif 1 ve 75'er µL standart 1 ile örnekler eklendi. İlk okuma 530 nm'de gerçekleştirildi ve sonrasında karışımın üzerine 25 µL reaktif 2 eklenerek inkübasyona (37°C, 5 dk) bırakıldı. Inkübasyon sonrası oluşan karışımın absorbasns değeri 530 nm'de okunarak belirlendi. Sonuçlar aşağıda ki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Sonuç} = (\Delta\text{ABS Örnek} - \Delta\text{ABS STD 2}) \times 20 (\text{STD 2 Değeri})$$

$$\Delta \text{ Örnek Absorbansı} = (\text{Örnek için ikinci okuma} - \text{Örnek için ilk okuma})$$

$$\Delta \text{ ABS STD 2} = (\text{İkinci okuma Standart 2} - \text{İlk okuma Standart 2})$$

$$\text{Standart 2 Değeri} = 20 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}$$

Kitin çalışma prensibi, örnekte mevcut olan oksidantların demir iyon-şelat kompleksini, ferrik iyonla okside etmesine dayanmaktadır. Ferrik iyon, bir asidik ortam içinde kromojen ile renkli bir kompleks yapar. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarı ile ilgilidir.

2.5.2. Böbrek Dokusunun Analizleri

Tris-HCl tamponunun hazırlanması

Böbrek dokularının homojenizasyonunda kullanılmak üzere Tris-HCl tamponu hazırlandı. Bu amaçla 12.1 g Tris 500 mL distile su içerisinde çözüldü. Ayrı bir beher içerisinde 406.1 mL distile su konuldu ve üzerine 7.1 mL %37'lik HCl yavaş yavaş ilave edildi. Tris ve HCl çözeltileri karıştırılarak son hacim 2000 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı (pH:7.4).

Doku Homojenizasyonu

Derin dondurucudan çıkartılan böbrek dokuları oda sıcaklığında çözüldükten sonra SF içerisinde 3 defa yıkandıktan sonra tartıldı. 1 g doku örneği homojenizasyon işleminin

yapılacağı cam tüpe konuldu ve üzerine 2 mL 0.2 M Tris-HCl tamponu eklendi. Homojenizasyon işlemi sırasında dokuların bozulmaması için cam tüpler, içerisinde buz olan kaba alındı. Dokular 16.000 devir/dk hızda 3 dk homojenize edildi (IKA, Almanya). Homojenata 6 mL Tris-HCl eklenerek karışması sağlandı. Elde edilen homojenatın bir bölümü MDA ölçümü için ependorf tüplere alındı. Homojenatın kalanı SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitesi ölçümü için 10 saniye olmak üzere 3 defa sonifike edilip, 3220 rpm'de 4°C sıcaklıkta 30 dk santrifüj edildi. Oluşan supernatant kısımdan enzim aktiviteleri belirlendi.

2.5.2.1. SOD Enzim Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi Sun vd. metoduna göre ölçüldü [93]. Bu metoda göre SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz etkisiyle üretilen süperoksidin nitrobluetetrazoliumu (NBT) indirgemesiyle belirlenmektedir. O_2^- radikali NBT'yi redükte ederek renk değişimine neden olur. Renk değişimi 560 nm'de maksimum absorbans verir. SOD enzimi bulunmadığında indirgeme olduğundan mavi-mor renk oluşur. SOD enzimi bulunduğunda ise NBT indirgemesi olmayıp enzim aktivitesi oranına göre açık renk oluşmaktadır. Bu amaçla aşağıdaki çözeltiler hazırlandı.

- Assay Reaktifi: 200 mL 0.3 mmol/L Ksantin
100 mL 0.6 mmol/L Na_2EDTA
100 mL 150 μ mol/L NBT
60 mL 400mmol/L Na_2CO_3
30 mL 1g/L sığır serum albumin (BSA)
- KO: 167 U/L 2M'lık $(NH_4)_2SO_4$ ile 1 mL'ye tamamlandı.
- $CuCl_2$: 0.8 mmol/L (100 mL)
- $(NH_4)_2SO_4$: 2M (10 mL)
- Kloroform-Etanol çözeltisi: 3 hacim kloroform 5 hacim etanol ile karıştırıldı.

Kör tüpüne ve test tüplerine 2.45 mL assay reaktifi; 0.5 mL numune test tüpüne, 0.5 mL distile su kör tüpüne; 50 μ L KO ilave edildi. 20 dk 25°C'de inkübe edildikten sonra üzerlerine 1 mL $CuCl_2$ eklendi ve reaksiyon durduruldu. Örneklerin absorbans değeri 560 nm'de köre karşı okundu.

Ölçülen absorbansların aşağıdaki formülle numunelerdeki % inhibisyon değeri bulundu.

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_k - A_n) / A_k \times 100$$

A_k = Absorbans kör, A_n = Absorbans numune

1 U SOD, NBT indirgemesini % 50 inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

2.5.2.2. Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü

Katalaz (CAT) aktivitesi Aebi'nin metoduna göre ölçüldü [94]. Ölçüm, eklenen H_2O_2 'nin CAT enzimi tarafından su ve oksijene ayrıştırması prensibine dayanmaktadır. Bu amaçla aşağıdaki çözeltiler hazırlandı.

➤ Fosfat tampon (PBS; pH=7.5): 50mM K_2HPO_4 'den 413 mL alınarak, üzerine 50 mM Na_2HPO_4 ilave edildi.

➤ H_2O_2 çözeltisi: 240 nm dalga boyunda optik dansitesi 0.5 olacak şekilde, 100 mL PBS üzerine %30'luk H_2O_2 çözeltisi eklendi.

Kör küvetine 2.99 mL fosfat tampon, 10 μ L H_2O_2 çözeltisi ilave edilip 240 nm'de okundu. Numune küvetine ise 2.99 mL H_2O_2 çözeltisi 10 μ L numune kondu ve 240 nm'de absorbans azalması 15 saniye aralıkla kaydedildi.

İlk okunan absorbans A_1 , son okunan absorbans A_2 (60. saniye), süre Δt olarak

$$K = (2.3 \log A_1 / A_2) / \Delta t \text{ (saniye)}$$

Aktivite K/mg protein şeklinde ifade edildi.

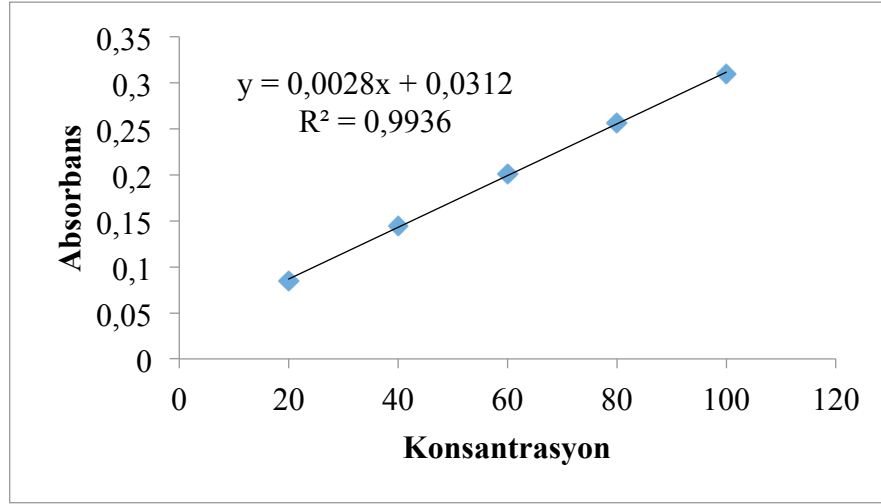
2.5.2.3. Malondialdehit Ölçümü

Lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA ölçümü Uchiyama ve Mihara'nın metoduna göre yapıldı [95]. Metod örnek içerisindeki MDA'nın tiyobarbitürik asitle (TBA) tepkimeye girmesi sonucu oluşan renk değişiminin (pembe renk) ölçülmesi prensibine dayanır.

Analizlere başlamadan önce TBA solüsyonu hazırlandı. (TBA solüsyonu: 100 mL distile su içerisinde 75 mM $(NaH_2)PO_4$ hazırlandı. Bu çözeltinin içerisine 0.418 g TBA ilave edildi. 0.1 N HCl ile çözeltinin pH'sı 2.8 olarak ayarlandı.) Analizi yapılacak örnekler %15'lik KCl ile 1:10 oranında seyreltilti. Deney tüpleri içerisine 500 μ L homojenat (kör için 500 μ L distile su) 3000 μ L %1'lik H_3PO_4 ve üzerine 1000 μ L hazırlanan TBA solüsyonu

eklendi. 45 dk 95°C’de ki inkübasyonun ardından 4 mL *n*-butanol eklenerek 10 dk 4000 rpm’de santrifüj edildi ve süpernatant 532 nm’de okundu.

1,1,3,3-Tetrametoksipropan ile hazırlanan farklı yoğunluklardaki standartlar ve bunlardan çizilen standart grafiği ile sonuçlar değerlendirildi (Şekil 13). Sonuçlar nmol/mg yaş doku olarak ifade edildi.



Şekil 13. MDA çalışma eğrisi.

2.5.2.4. Glutasyon Peroksidaz Ölçümü

GSH-Px aktivitesi Paglia vd.’in metoduna göre çalışıldı [96]. GSH-Px, H₂O₂ varlığında GSH’ın GSSG’ye yükseltgenmesini katalizler. H₂O₂’in bulunduğu ortamda GSH-Px’in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH’ya indirgenir.

Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

- Fosfat Tamponunun Hazırlanması:
 - a) 3.9 g NaH₂PO₄ · 2H₂O tartıldı ve 500 mL distile suda çözülürdü.
 - b) 17.907 g Na₂HPO₄ · 12H₂O tartıldı ve 1000 mL distile suda çözülürdü.

A çözeltisinden 390 mL ve B çözeltisinden 610 mL alındı ve karıştırıldı. Bu çözeltinin içerisine 2.08 g EDTA ilave edildi ve pH: 7 olacak şekilde ayarlandı.

- 150 mM GSH (redükte glutasyon) Hazırlanması:
225 mg GSH, 4.5 mL fosfat tampon içerisinde çözülürdü.

- 3 mM NADPH ve 1 M NaN₃ fosfat tampon ile hazırlandı.

- Sulandırılmış GSH redüktaz enziminin hazırlanması:

1,5 mL 3.2 M (NH₄)₂SO₄ çözeltisi içerisine 50 mL GSH redüktaz enzimi eklendi. Karışım +4°C’de saklandı.

Fosfat tamponundan 2.65 mL alınarak üzerine 100 µL 150 mM redükte GSH ve 100 µL 1 mM NaN₃ eklendi. Daha sonra karışımın üzerlerine 100 µL 3 mM NADPH ve 100 µL sulandırılmış GSH redüktaz enzim çözeltisi ilave edildi. Son olarak 200 µL numune eklenerek 30 dk oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda H₂O₂ çözeltisi (0.1 mL) eklenerek 3 dk boyunca absorbans düşüşü takip edildi.

Dalga boyu 340 nm’ye ayarlanan spektrofotometrede numunelerin absorbans değerleri 3 dk boyunca kaydedildi. Lineer aktivite azalışının 3 dk’lık süresi esas alındı. Bu süre sonunda ölçülen absorbans farkı 3’e bölünerek dakika başına düşen absorbans değişimi tespit edildi.

GSH-Px’in aktivite düzeyleri aşağıda verilen formülle U/L olarak hesaplandı ve spesifik aktiviteye (U/g protein) çevrildi.

$$U/L (\mu M/min/L) = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{\epsilon \times V_s \times L} \times 10$$

ϵ = NADPH’in ekstinksiyon sabiti (6.22 x 10³ L.mol⁻¹.cm⁻¹)

V_t = Total reaksiyon volümü (mL)

V_s = Total reaksiyon içindeki numune hacmi (mL)

L = Küvet çapı (1cm)

$\Delta A/t$ = Dakikadaki absorbans değişimi

10⁶ = Molü µM’e çevirme sabiti

10x = Sulandırma faktörü

$$GSH - Px \text{ Spesifik Aktivitesi (U/g protein)} = \frac{GSH - Px (U/L)}{Protein (g/L)}$$

$$U/L = \frac{\Delta A/t \times V_t \times 10^6}{6.22 \times 10^3 \times 0.22 \times 1} = \Delta A/t \times \frac{3 \times 10^6}{124.4}$$

$$U/L = \frac{A_{ilk} - A_{son}}{3} \times \text{sulandırma oranı} \times 24115$$

2.5.2.5. Protein Ölçümü

Homojenattan protein tayini Lowry yöntemiyle yapıldı [97]. Bu yöntemin prensibi alkali ortamda bakır-protein kompleksi meydana gelerek Folin & Ciocalteu's phenol reaktifini redükte etmesi ve mavi renk oluşmasıdır. Protein yoğunluğu yüksekse oluşan mavi renk daha koyu olur.

Çözeltilerin hazırlanması:

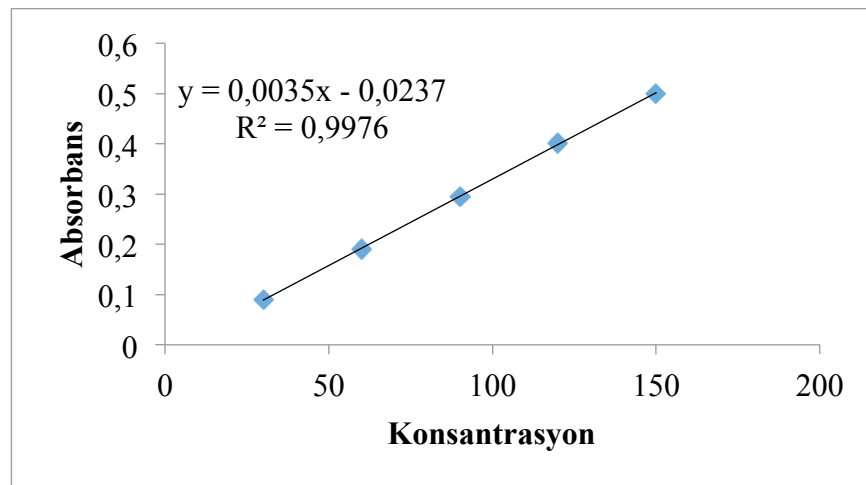
A= %1 (w/v) Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi

B= %2 (w/v) Sodyum potasyum tartarat

C= 0.2 M Sodyum hidroksit

D= %4 (w/v) Sodyum karbonat

Protein ile ilgili deneyler için 49 mL C reaktifi üzerine 49 mL D reaktifi daha sonra 1 mL A ve 1 mL B reaktifinden ilave edildi. Bu çözeltilerin karışımından hazırlanan reaktife E solüsyonu adı verildi. Daha sonra protein çözeltisinden deney tüpüne alınıp üzerine 4 mL E reaktifinden ilave edilerek karıştırıldı ve 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. Bekleme süresi sonunda 500 μL Folin (10 mL Folin-Ciocalteu reaktifi üzerine 10 mL saf su ilave edilerek hazırlanır) karışımında eklenerek 30 dk tekrar oda sıcaklığında bekletildi ve sonra 750 nm'de köre karşı spektrofotometrede okundu. Standart olarak sığır serum albumin kullanıldı ve kalibrasyon eğrisi hazırlandı (Şekil 14) Sonuçlar $\mu\text{g/mL}$ olarak ifade edildi



Şekil 14. Protein çalışma eğrisi.

2.6. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında elde edilen verilerin istatistiksel değeriendirilmesi IBM SPSS Statistics 21.0 (for Windows) paket program kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ile değeriendirildi ve normal dağılıma uymadığı gözlendi. Gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda Dunn testi kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. İstatistiksel değeriendirmede $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Kan Örneklerinde ki Bazı Parametrelerin Otoanalizörde İncelenmesi

Kan örneklerinde ki bazı biyokimyasal parametrelerin değerleri. Tablo 3 ve 4’de verilmiştir.

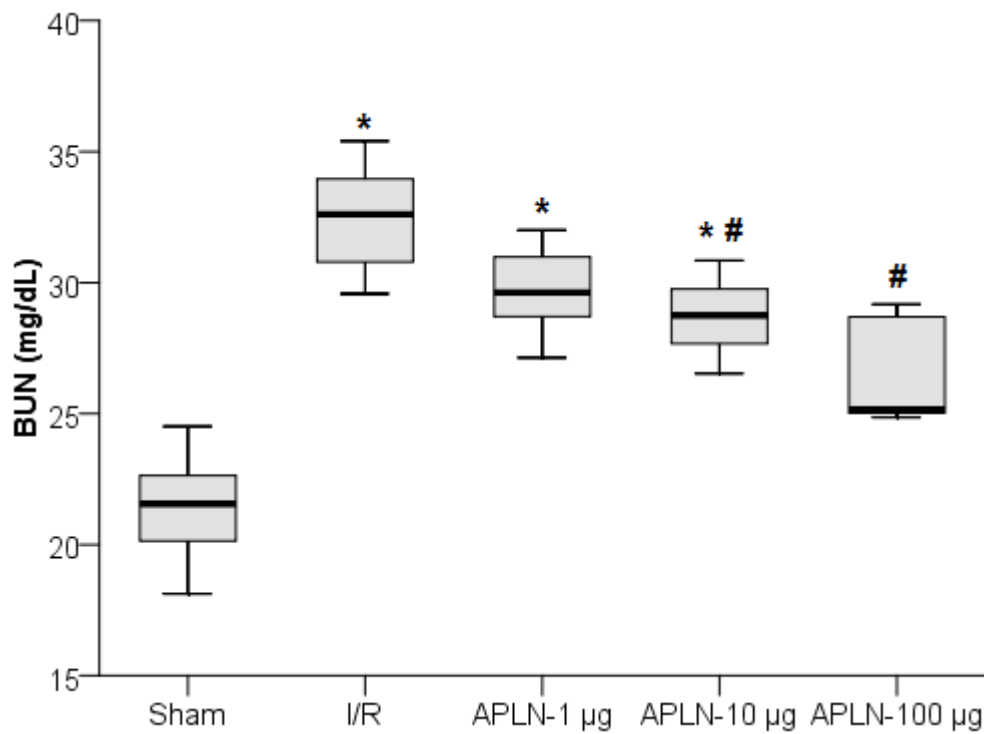
Tablo 3. Kan örneklerinde ki bazı parametrelerin otoanalizör ile değerlendirilmesi.

		GRUPLAR					
		Sham	I/R	APLN-1 µg	APLN-10 µg	APLN-100 µg	Sig. (p)
BUN (mg/dL)	Ortanca	21,56	32,61*	29,62*	28,75* [#]	25,14 [#]	<0,0001
	En büyük	24,51	35,4	32,0	30,85	29,17	
	En küçük	18,12	29,57	27,13	26,53	24,86	
KREATİNİN (mg/dL)	Ortanca	0,41	0,72*	0,66*	0,62* [#]	0,59 [#]	<0,0001
	En büyük	0,46	0,8	0,7	0,67	0,66	
	En küçük	0,34	0,65	0,59	0,58	0,47	
SODYUM (nmol/L)	Ortanca	140	132*	133*	134*	136	<0,01
	En büyük	143	139	135	138	138	
	En küçük	136	129	130	128	132	
POTASYUM (mEq/L)	Ortanca	6,5	8,2*	7,8*	7,6*	7,4 [#]	<0,0001
	En büyük	7	8,4	8,7	8,2	7,8	
	En küçük	6,1	8	6,8	7,2	7	
KLOR (nmol/L)	Ortanca	121	125	124	124	124	,104
	En büyük	123	132	130	130	127	
	En küçük	116	120	120	118	118	

(Verilerin analizi Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda Dunn testi kullanılarak yapıldı. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. * p<0.05, sham grubuna göre, [#] p<0.05, I/R grubuna göre diğer gruplar anlamlı kabul edildi. (n=7))

3.1.1. BUN Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

I/R sonrası uygulanan apelin-13'ün serum BUN seviyesi üzerine etkileri Şekil 15'de gösterilmiştir. Buna göre sham grubuna kıyasla hem I/R hemde 1 ve 10 µg apelin-13 uygulanan grupların BUN seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı artış sergiledi ($p<0.05$). I/R grubuna kıyasla apelin-13'ün orta ve yüksek konsantrasyonları serum BUN seviyesini önemli düzeyde azalttı ($p<0.05$)

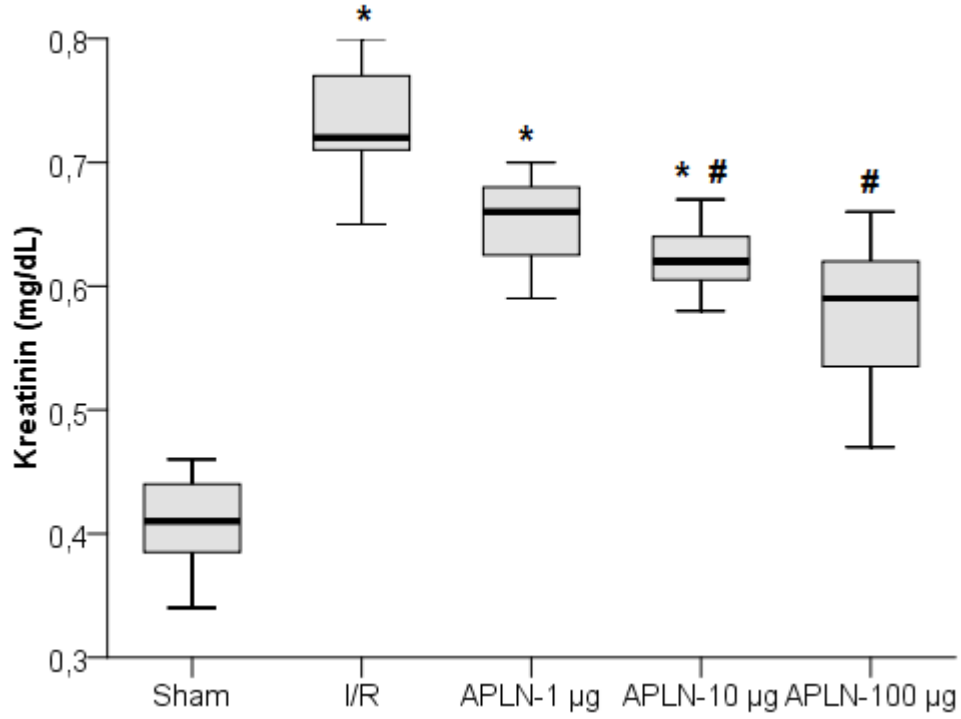


Şekil 15. BUN Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.1.2. Kreatinin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

Çalışma sonunda apelin-13'ün Kreatinin üzerine meydana getirdiği etki Şekil 16'da gösterilmiştir. I/R grubu; sham grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). Apelin uygulamalarında ise I/R grubuna göre, APLN-10 µg ve APLN-100 µg ($p<0.05$) gruplarında önemli ölçüde azalma görülmektedir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları

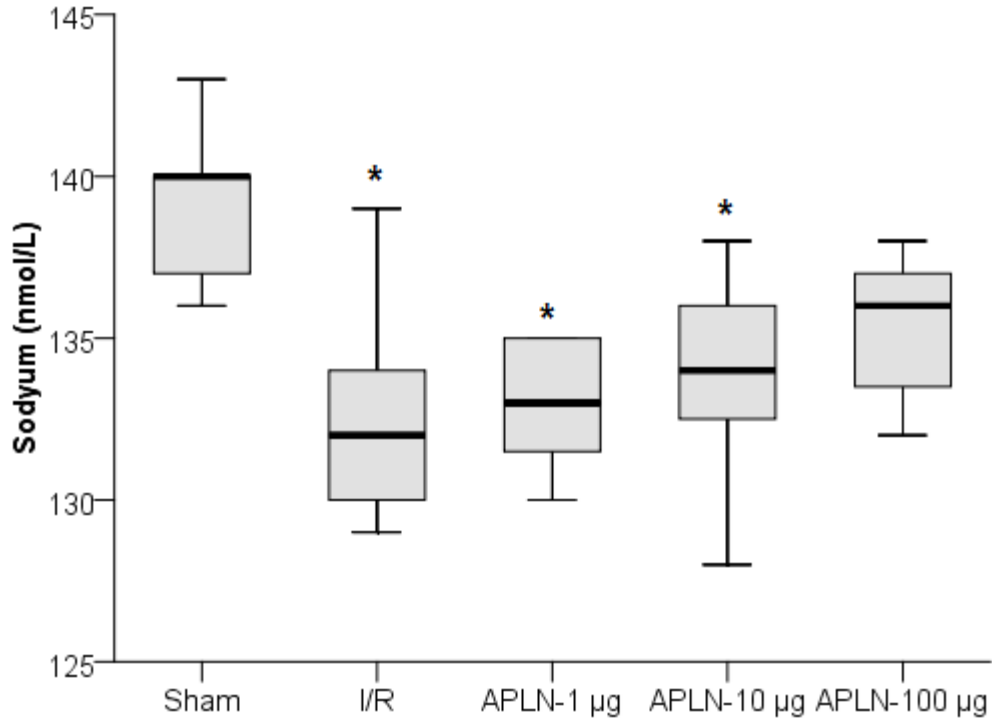
karşılaştırıldığında ise APLN-1 µg ve APLN-10 µg ($p<0.05$) grupları istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 16. Kreatinin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.1.3. Sodyum İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

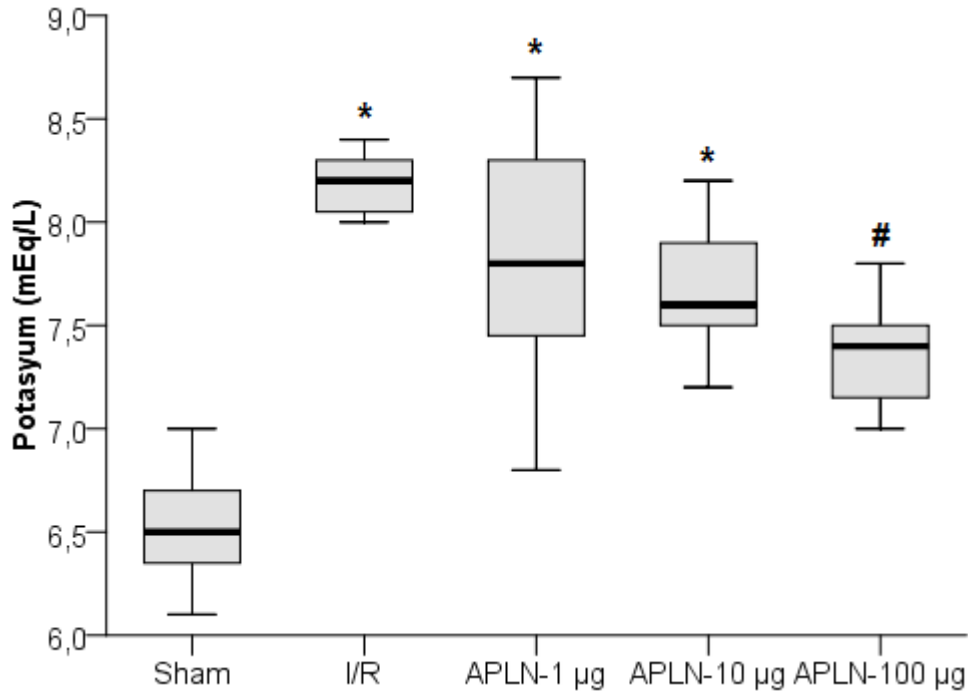
Çalışma sonunda apelin-13'ün Na iyonu üzerinde meydana getirdiği etki Şekil 17'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli bir azalma olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Diğer taraftan Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında sayısal olarak yükselme görülse de bu durum istatistiksel olarak önem arz etmemektedir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında ise APLN-1 µg ve APLN-10 µg ($p<0.05$) grupları istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 17. Sodyum İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna göre anlamlı).

3.1.4. Potasyum İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

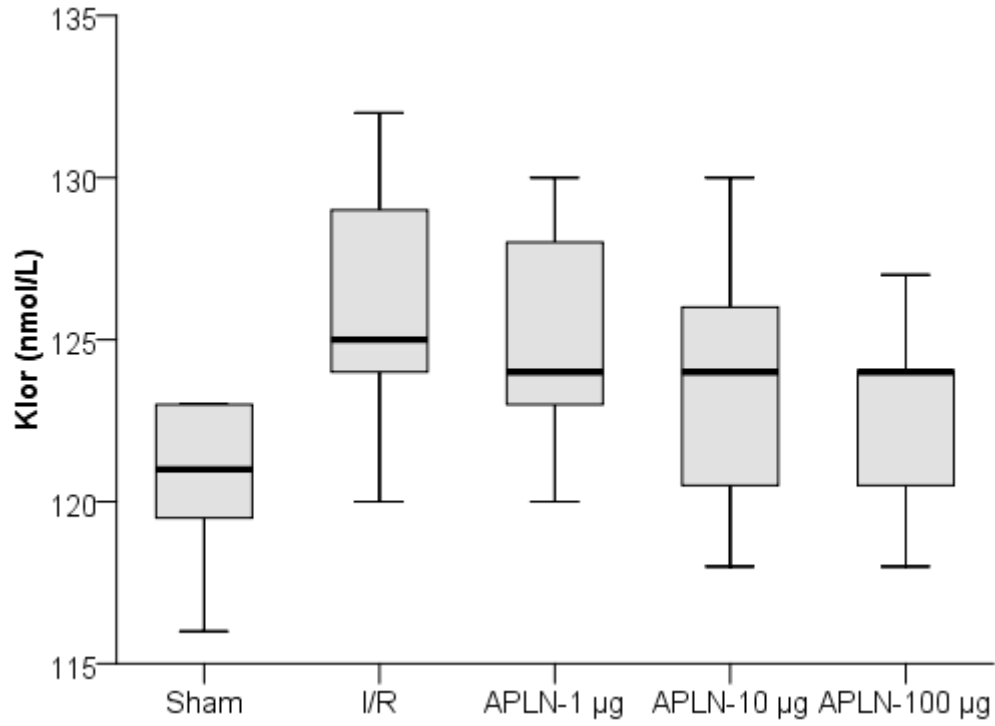
Çalışmada apelin-13'ün K iyonu üzerindeki etkisi Şekil 18'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli bir artış olduğu görülmektedir ($p<0.05$). APLN-1 µg ve APLN-10 µg grupları, I/R grubuna kıyasla azalma gösterebilir, sadece APLN-100 µg grubu istatistiksel olarak anlamlı görülmektedir ($p<0.05$). Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında ise APLN-1 µg ve APLN-10 µg ($p<0.05$) grupları istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 18. K İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.1.5. Klor İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

Çalışma sonunda apelin-13'ün K iyonu üzerinde meydana getirdiği etki Şekil 19'da gösterilmiştir. Buna göre I/R grubu, sham grubuna göre artış gösterecek şekilde istatistiksel olarak anlamlı görülmemektedir ($p>0.05$). Apelin gruplarında incelendiğinde I/R grubuna göre azalma göstermektedir, fakat bu azalış anlamlı değildir ($p>0.05$).



Şekil 19. Cl İyonu Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (p>0.05).

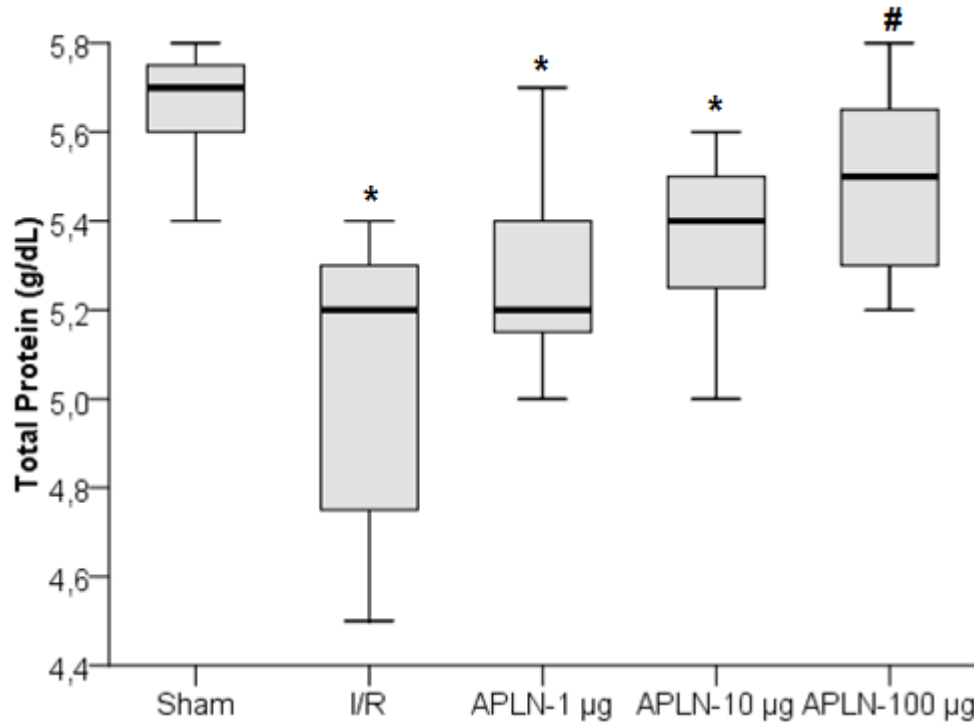
Tablo 4. Kan örneklerinde ki bazı parametrelerin otoanalizör ile değerlendirilmesi.

		GRUPLAR					
		Sham	I/R	APLN-1 µg	APLN-10 µg	APLN-100 µg	Sig. (p)
TOTAL PROTEİN (g/dL)	Ortanca	5,7	5,2*	5,2*	5,4*	5,5 [#]	<0,01
	En büyük	5,8	5,4	5,7	5,6	5,8	
	En küçük	5,4	4,5	5,0	5,0	5,2	
ALBUMİN (g/dL)	Ortanca	3,4	3,1*	3,2*	3,3	3,3	<0,01
	En büyük	3,7	3,4	3,3	3,4	3,5	
	En küçük	3,3	2,8	3,0	3,1	3,1	
AST (U/L)	Ortanca	120	210*	130 [#]	126 [#]	123 [#]	<0,01
	En büyük	139	226	138	144	136	
	En küçük	110	176	128	110	118	
ALT (U/L)	Ortanca	81	110*	92*	91 [#]	86 [#]	<0,01
	En büyük	97	121	101	96	92	
	En küçük	64	92	86	81	83	
GGT (U/L)	Ortanca	1	2	1	1	1	,521
	En büyük	2	2	2	2	2	
	En küçük	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	

(Verilerin analizi Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda Dunn testi kullanılarak yapıldı. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. * p<0.05, sham grubuna göre, [#] p<0.05 I/R grubuna göre diğer gruplar anlamlı görüldü. (n=7))

3.1.6. Total Protein Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

Çalışma sonunda apelin-13'ün Total Protein üzerine meydana getirdiği etki Şekil 20'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli bir azalma olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Diğer taraftan Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında sayısal olarak yükselme görülse de bu durum sadece APLN-100 μg grubunda istatistiksel olarak önem arz etmektedir ($p<0.05$). Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında ise APLN-1 μg ve APLN-10 μg ($p<0.05$) grupları istatistiksel olarak anlamlı görüldü.

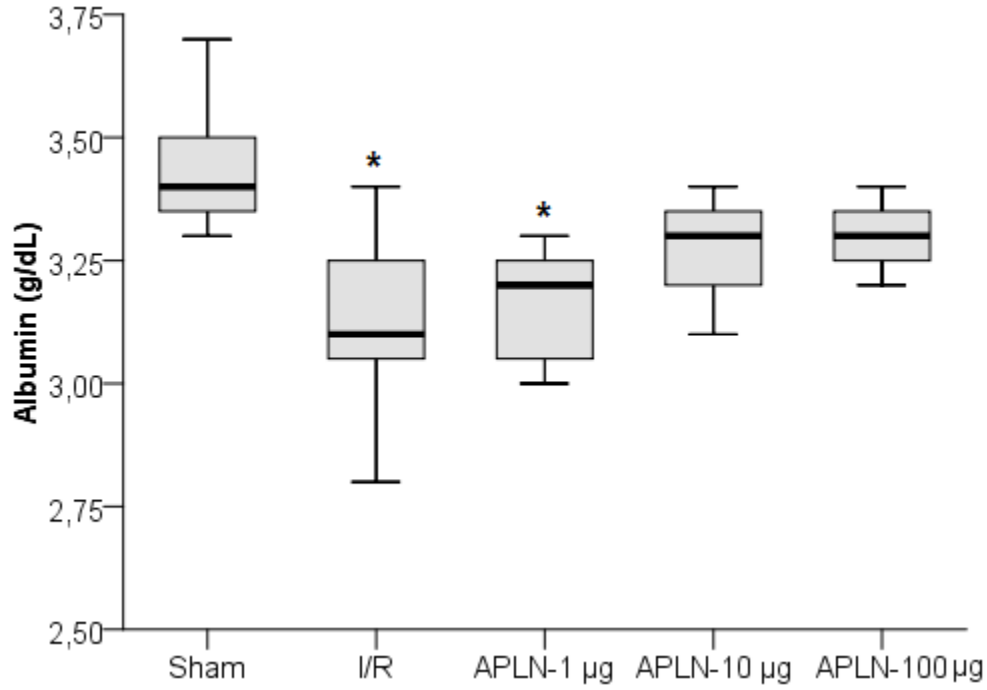


Şekil 20. Total Protein Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.1.7. Albumin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

Çalışmada apelin-13'ün Albumin üzerine meydana getirdiği etki Şekil 21'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli bir azalma olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Diğer taraftan Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında sayısal

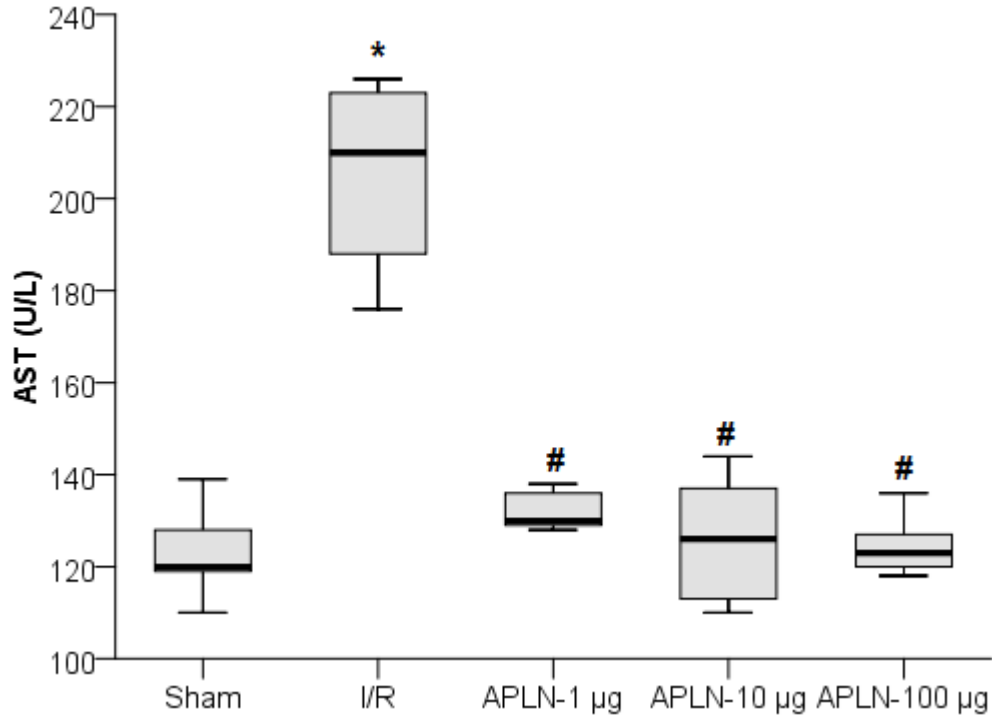
olarak yükselme görülse de bu durum istatistiksel olarak önem arz etmemektedir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında ise APLN-1 μg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 21. Albumin Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna göre anlamlı).

3.1.8. AST Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

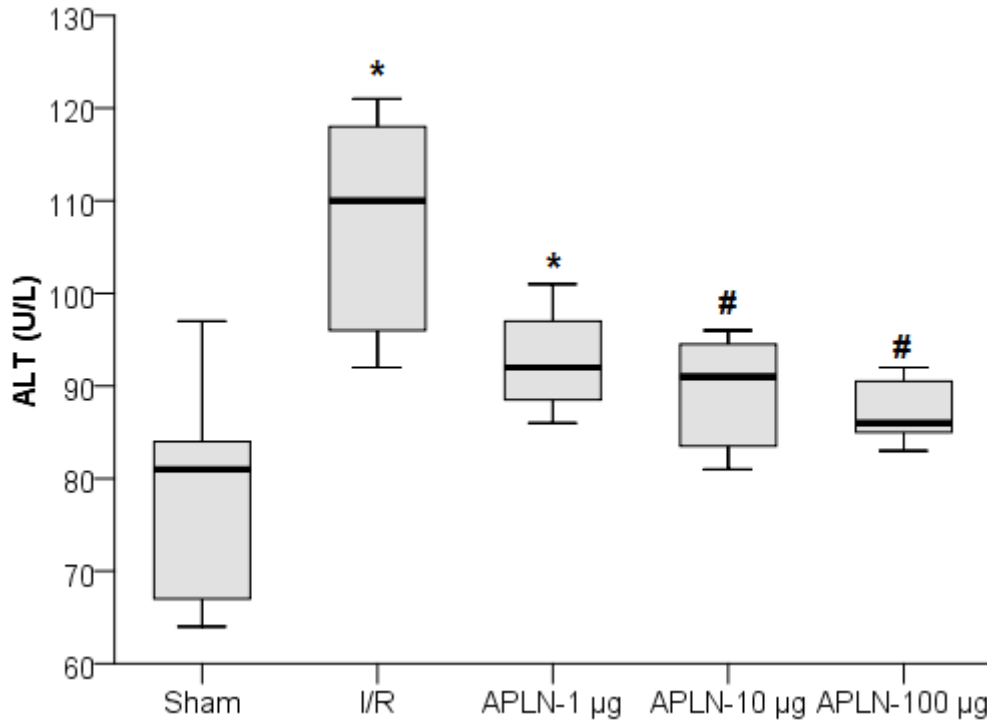
Çalışmada apelin-13'ün AST üzerine meydana getirdiği etki Şekil 22'de gösterilmiştir. I/R grubu; sham grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). Apelin uygulamalarında ise I/R grubuna göre, APLN-1 μg , APLN-10 μg ve APLN-100 μg ($p<0.05$) gruplarında önemli ölçüde azalma görülmektedir.



Şekil 22. AST Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.1.9. ALT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

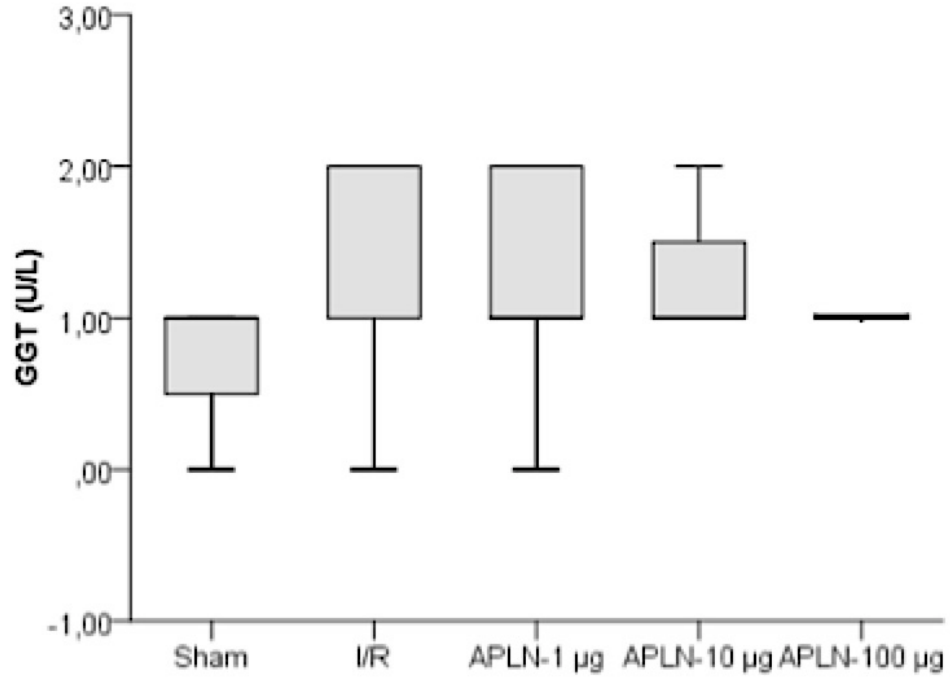
Çalışma sonunda apelin-13'ün ALT üzerine meydana getirdiği etki Şekil 23'de gösterilmiştir. I/R grubu; sham grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). Apelin uygulamalarında ise I/R grubuna göre, APLN-10 µg ve APLN-100 µg ($p<0.05$) önemli ölçüde azalma görülmektedir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 µg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 23. ALT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p < 0.05$ sham grubuna, # $p < 0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.1.10. GGT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri

Çalışma sonunda apelin-13'ün GGT üzerine meydana getirdiği etki Şekil 24'de gösterilmiştir. Buna göre I/R grubu, sham grubuna göre artış gösterecek şekilde istatistiksel olarak anlamlı görülmemektedir ($p > 0.05$). Apelin uygulamaları incelendiğinde I/R grubuna göre azalma göstermektedir, fakat bu azalış anlamlı değildir ($p > 0.05$).



Şekil 24. GGT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri ($p>0.05$).

3.2. Dokuların Biyokimyasal Analizi

Böbrek dokusunda belirlenen SOD, CAT, GSH-Px ve MDA miktarları Tablo 5'de verilmiştir.

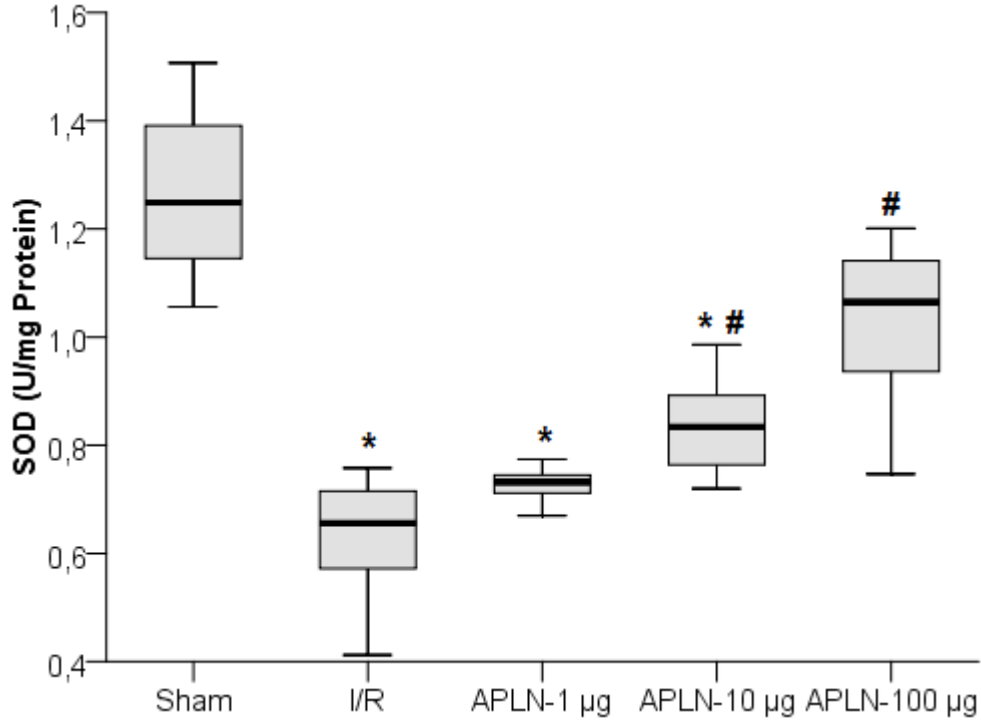
Tablo 5. Dokuların biyokimyasal analizi.

		GRUPLAR					
		Sham	I/R	APLN-1 µg	APLN-10 µg	APLN-100 µg	Sig. (p)
SOD (U/mg Protein)	Ortanca	1,25	0,66*	0,73*	0,83* #	1,07 [#]	<0,0001
	En büyük	1,51	0,76	0,77	0,99	1,20	
	En küçük	1,06	0,41	0,67	0,72	0,75	
CAT(K/mg Protein)	Ortanca	0,06	0,05*	0,06*	0,06 [#]	0,06 [#]	<0,0001
	En büyük	0,07	0,05	0,06	0,06	0,07	
	En küçük	0,06	0,04	0,05	0,05	0,05	
GSH-Px (U/g Protein)	Ortanca	506,28	352,15*	456,15*	459,20*	474,45* #	<0,0001
	En büyük	513,46	365,03	468,98	469,56	486,38	
	En küçük	499,81	344,13	450,82	452,19	468,98	
MDA (nmol/mg Doku)	Ortanca	0,10	0,13*	0,13*	0,12* #	0,12 [#]	<0,0001
	En büyük	0,11	0,15	0,14	0,13	0,12	
	En küçük	0,10	0,13	0,12	0,12	0,12	

(Verilerin analizi Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda Dunn testi kullanılarak yapıldı. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. * p<0.05 sham grubuna göre diğer gruplar, # p<0.05 I/R grubuna göre diğer gruplar anlamlı kabul edildi (n=7))

3.2.1. SOD Enzim Aktivitesi

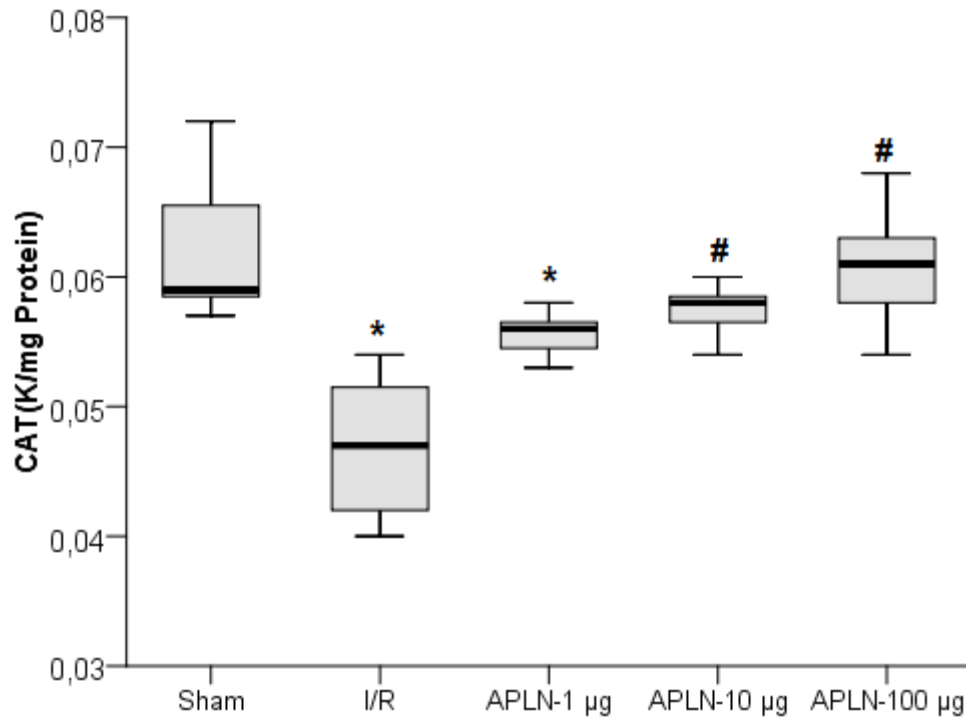
Çalışma sonunda apelin-13'ün SOD üzerine etkisi Şekil 25'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda azalma olduğu görülmektedir (p<0.05). Apelin uygulamalarında da sham grubuna kıyasla sadece APLN-1 µg istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldı (p<0.05). Diğer taraftan Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında sayısal olarak yükselme görülmektedir. Bu artış APLN-10 µg ve APLN-100 µg (p<0.05) gruplarında istatistiksel olarak önem arz etmektedir.



Şekil 25. SOD Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.2.2. Katalaz Enzim Aktivitesi

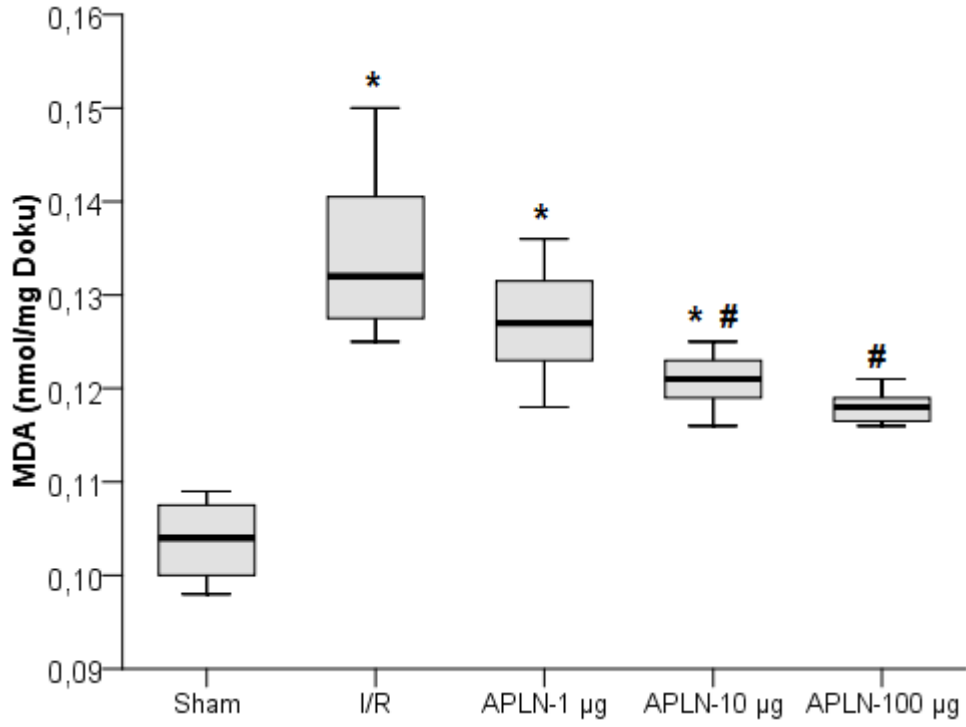
Apelin-13'ün CAT üzerine meydana getirdiği etki Şekil 26'da gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda azalma olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Apelin uygulanan gruplarda ise apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında sayısal olarak yükselme görülmektedir ve bu artış istatistiksel olarak APLN-10 µg ile APLN-100 µg ($p<0.05$) gruplarında önem arz etmektedir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 µg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 26. CAT Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.2.3. Malondialdehit Tayini

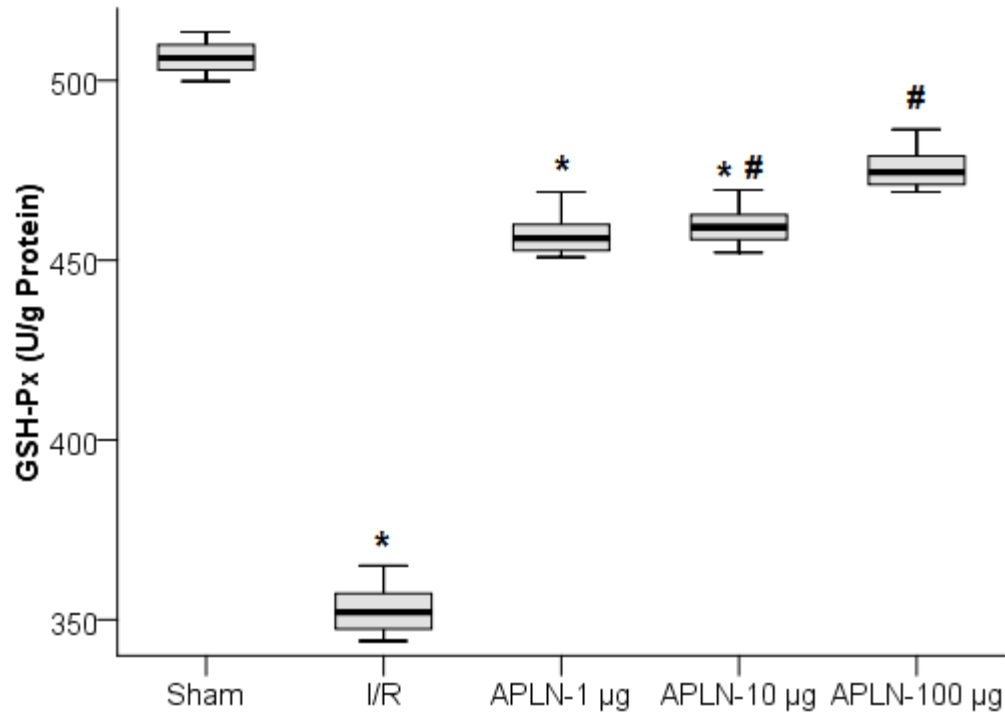
Apelin-13'ün MDA üzerine etkisi Şekil 27'de gösterilmiştir. I/R grubu; sham grubuna kıyasla önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). Apelin gruplarında ise I/R grubuna göre, APLN-10 µg ve APLN-100 µg ($p<0.05$) önemli ölçüde azalma görülmektedir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 µg ve APLN-10 µg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görüldü.



Şekil 27. MDA Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.2.4. Glutasyon Peroksidaz

Çalışmada apelin-13'ün GSH-Px üzerine meydana getirdiği etki Şekil 28'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda azalma olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında sayısal olarak yükselme görülmektedir ve bu artış APLN-10 µg ve APLN-100 µg ($p<0.05$) gruplarında istatistiksel olarak önemli görüldü. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 µg ve APLN-10 µg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görülmektedir.



Şekil 28. GSH-Px Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p < 0.05$ sham grubuna, # $p < 0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.3. Serum Örneklerinin ELISA Yöntemiyle Değerlendirilmesi

Serum örneklerinde TNF- α , IL-1 β , IL-6, TAS ve TOS ELISA seviyeleri Tablo 6'da verilmiştir.

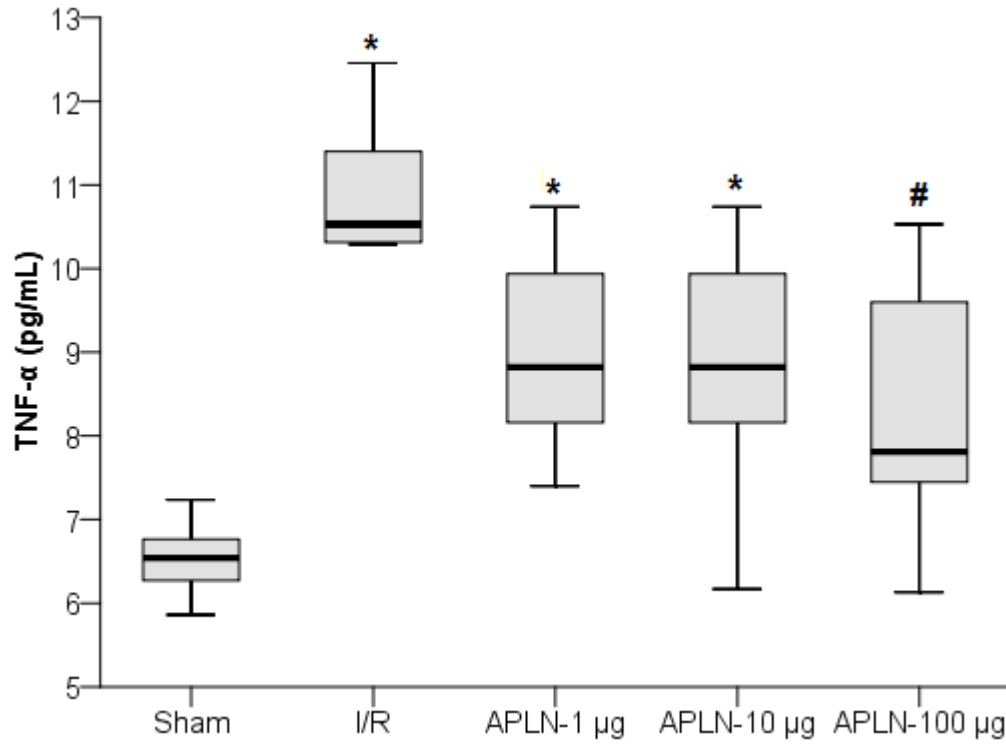
Tablo 6. Serum örneklerinin ELİSA yöntemiyle değerlendirilmesi.

		GRUPLAR					
		Sham	I/R	APLN-1 µg	APLN-10 µg	APLN-100 µg	Sig. (p)
TNF- α (pg/mL)	Ortanca	6,540	10,530*	8,820*	8,820*	7,810 [#]	<0,01
	En büyük	7,236	12,456	10,740	10,740	10,530	
	En küçük	5,860	10,290	7,400	6,170	6,130	
IL-1 β (pg/mL)	Ortanca	10,15	11,56*	11,09	10,93	10,60 [#]	<0,05
	En büyük	10,76	12,96	13,12	12,60	11,48	
	En küçük	9,65	10,45	9,53	9,94	9,65	
IL-6 (pg/mL)	Ortanca	1232,71	1352,85*	1257,63	1236,91 [#]	1201,35 [#]	<0,0001
	En büyük	1267,38	1412,31	1284,92	1276,58	1244,97	
	En küçük	1204,83	1265,72	1239,54	1213,51	1163,70	
TAS (µmol Trolox Eq/L)	Ortanca	1,58	1,18*	1,20*	1,44 [#]	1,53 [#]	<0,0001
	En büyük	1,71	1,26	1,32	1,56	1,64	
	En küçük	1,47	1,12	1,12	1,34	1,41	
TOS (µmol H ₂ O ₂ Eq/L)	Ortanca	21,35	95,35*	85,63*	83,50* [#]	82,80* [#]	<0,0001
	En büyük	27,16	105,03	96,75	89,85	89,64	
	En küçük	18,75	86,25	78,64	74,25	74,56	

(Verilerin analizi Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda Dunn testi kullanılarak yapıldı. Değerler ortanca (en küçük-en büyük) olarak ifade edildi. * p<0.05 sham grubuna göre diğer gruplar, [#] p<0.05 I/R grubuna göre diğer gruplar anlamlı görüldü. (n=7))

3.3.1. Serumda Rat TNF- α 'nın Ölçülmesi

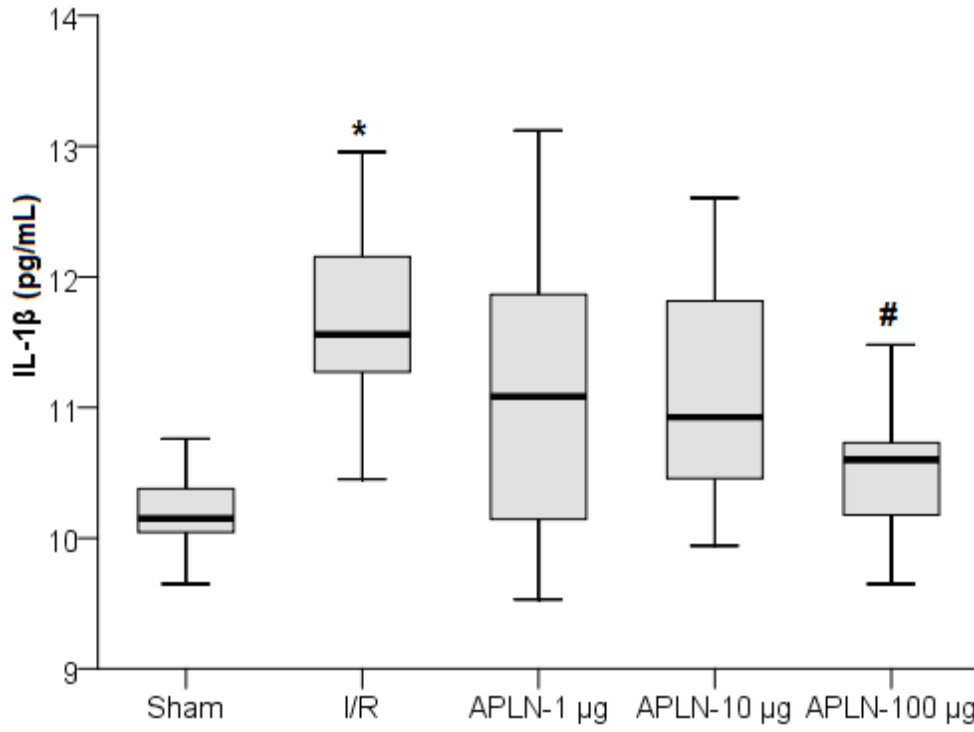
Apelin-13'ün TNF- α üzerine meydana getirdiği etki Şekil 29'da gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda artma olduğu görülmektedir (p<0.05). Diğer taraftan, apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında ise düşüş görülmektedir ve bu düşüş, istatistiksel olarak APLN-100 µg grubunda önem arz etmektedir (p<0.05). Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 µg ve APLN-10 µg (p<0.05) grubu istatistiksel olarak anlamlı görülmektedir.



Şekil 29. TNF- α Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p < 0.05$ sham grubuna, # $p < 0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.3.2. Serumda Rat IL-1 β 'nın Ölçülmesi

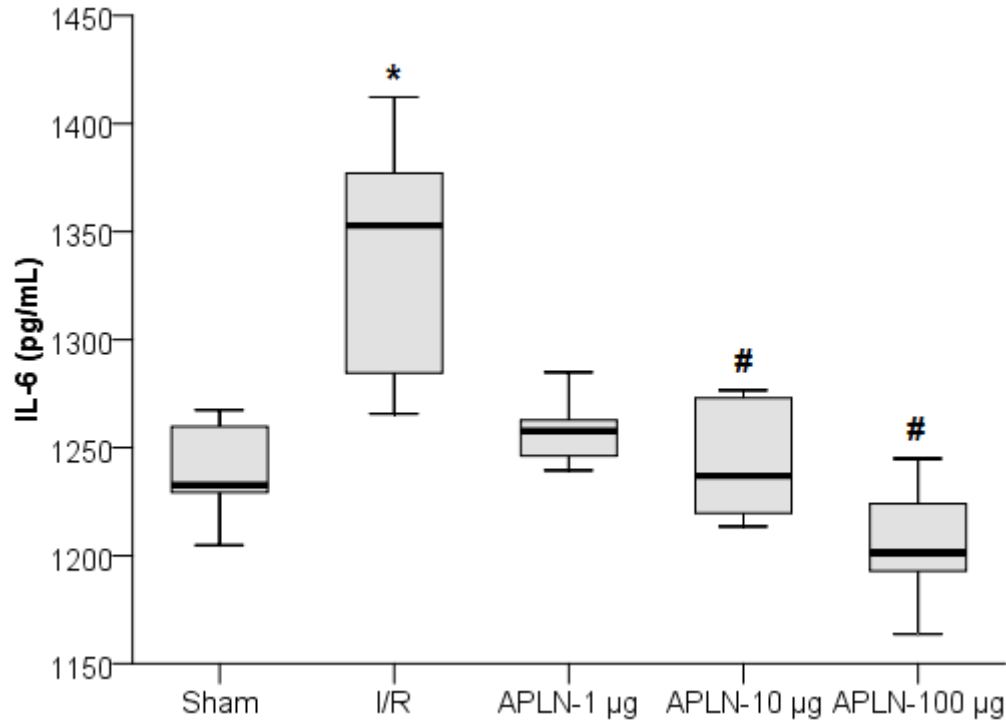
Bu çalışmada apelin-13'ün IL-1 β üzerine meydana getirdiği etki Şekil 30'da gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli derecede artış görülmektedir ($p < 0.05$). Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında ise düşüş görülmektedir ve bu düşüş, istatistiksel olarak APLN-100 μg ($p < 0.05$) grubunda önem arz etmektedir ($p < 0.005$).



Şekil 30. IL-1 β Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* p<0.05 sham grubuna, # p<0.05 I/R grubuna göre anlamlı).

3.3.3. Serumda Rat IL-6'nın Ölçülmesi

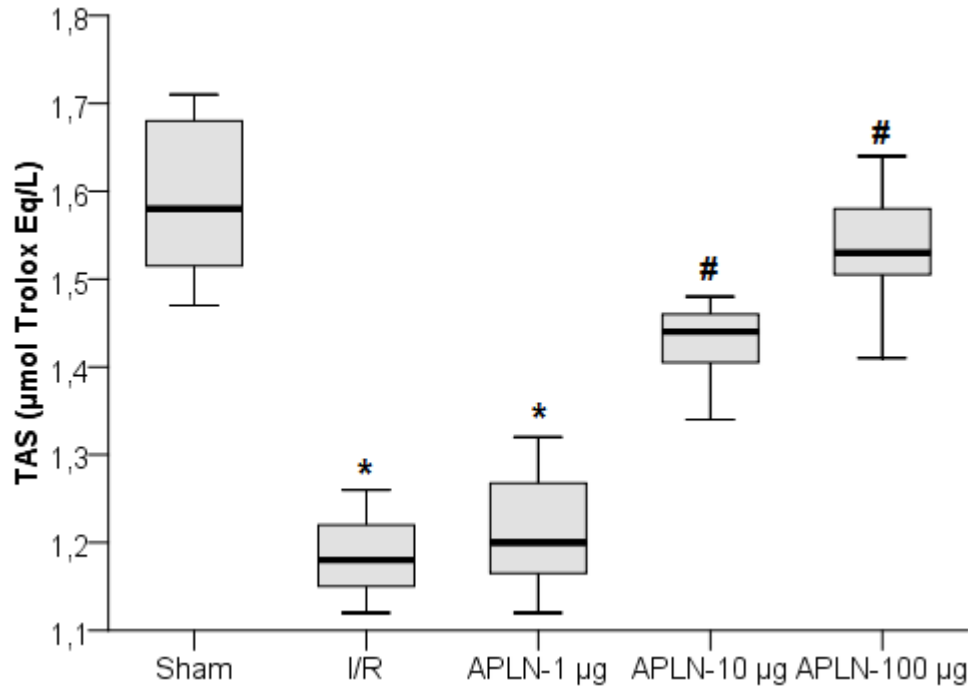
Çalışmada apelin-13'ün IL-6 üzerine meydana getirdiği etki Şekil 31'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli derecede artış görülmektedir (p<0.05). Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında ise düşüş görülmektedir ve bu düşüş, istatistiksel olarak APLN-10 μ g ve APLN-100 μ g (p<0.05) gruplarında önemlidir.



Şekil 31. IL-6 Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.3.4. Serumda Total Antioksidant Durumunun Ölçülmesi

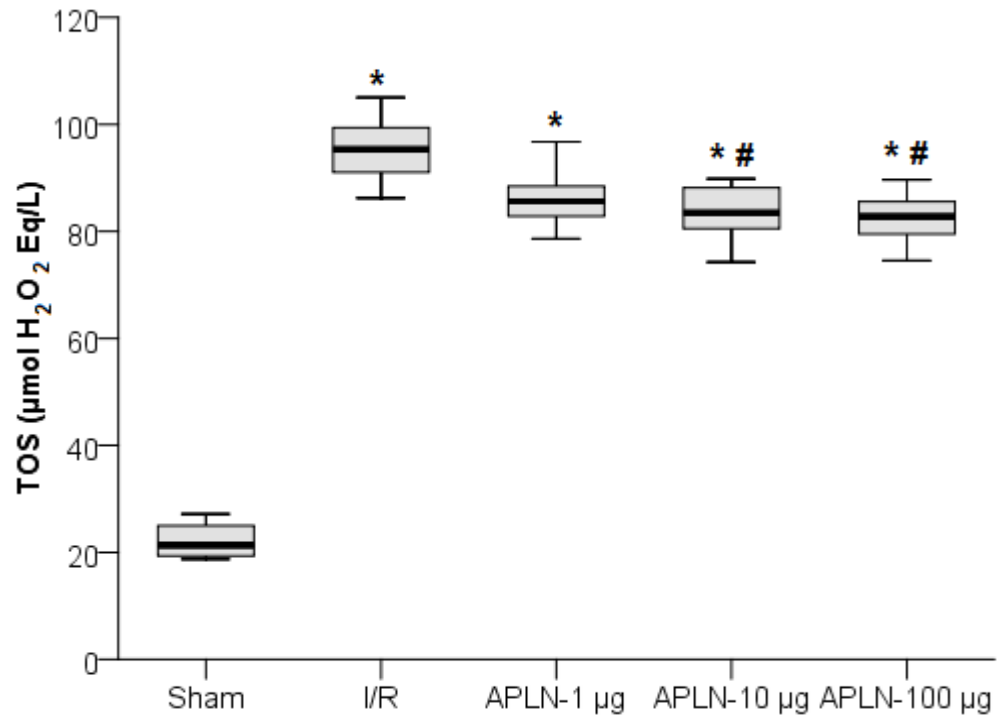
Apelin-13'ün TAS üzerine meydana getirdiği etki Şekil 32'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli derecede düşüş görülmektedir ($p<0.05$). Apelinin farklı dozları iskemi grubuna göre kıyaslandığında ise artış söz konusudur ve bu artış istatistiksel olarak APLN-10 µg ve APLN-10 µg ($p<0.05$) gruplarında önemlidir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 µg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görülmektedir.



Şekil 32. TAS Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* $p<0.05$ sham grubuna göre, # $p<0.05$ I/R grubuna göre anlamlı).

3.3.5. Serumda Total Oksidan Durumunun Ölçülmesi

Apelin-13'ün TOS üzerine etkisi Şekil 33'de gösterilmiştir. Sham grubuna göre I/R grubunda önemli derecede artış görülmektedir ($p<0.05$). Apelinin farklı dozları I/R grubuna göre kıyaslandığında ise bir düşüş söz konusudur ve bu azalış, istatistiksel olarak APLN-10 μg ve APLN-100 μg ($p<0.05$) gruplarında önemlidir. Sham grubuna göre apelin uygulamaları karşılaştırıldığında da APLN-1 μg , APLN-10 μg ve APLN-100 μg ($p<0.05$) grubu istatistiksel olarak anlamlı görülmektedir.



Şekil 33. TOS Üzerine Apelin-13'ün Etkileri (* p<0.05 sham grubuna, # p<0.05 I/R grubuna göre anlamlı).

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

I/R hasarında böbrek kan akımındaki azalma sonucunda ciddi akut böbrek yetmezliği oluşabilmektedir [98, 99]. I/R sonucunda böbrek kan akımında görülen ciddi azalma ile yüksek enerjili fosfatlar tüketilmektedir. Böylece hücre membranında fizyolojik iyonlara karşı geçirgenlik bozulur ve hücre içi kalsiyum artışı hücre hasarına yol açar. İskemi sırasında serbest radikaller üretilir ve kemoakraktan maddeler (lökositlerin hareketine yol açan endojen veya ekzojen kaynaklı maddeler) salınır. Sonuçta biriken nötrofil akımında hasarın oluşumuna katkıda bulunur [99].

Akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında ani düşmeler ve bununla ilişkili olarak vücutta BUN, Cre gibi atık ürünlerin birikiminin olduğu bir durumdur [67]. BUN ve Cre seviyesindeki yükselmeler böbrek fonksiyonundaki bozulmanın bir göstergesidir [100]. Bu hasarın derecesi iskeminin süresiyle direkt bağlantılıdır. Literatürde böbreklerde I/R hasarının ortaya çıkabilmesi için minimum iskemi süresi 30 dk olarak belirtilmektedir [101-103]. Sıçan böbreğinde Williams vd. 45 dk'lık iskemi süresinden sonra doku hasarının ortaya çıktığını göstermişlerdir [104]. Bu nedenle, çalışmada böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde serumların biyokimyasal analizinden yararlanıldı ve çalışmada verilerin sağlıklı elde edilebilmesi için tek taraflı nefrektomi gerçekleştirildi.

Çalışmada iskemi sonucu BUN ve Cre değerlerinde anlamlı artış görüldü (Tablo 3). Sham grubunda BUN ve Cre değerleri sırasıyla 21.39 ± 2.16 ve 0.40 ± 0.04 mg/dL, I/R grubunda ise yine sırasıyla 32.43 ± 2.17 ve 0.73 ± 0.05 mg/dL olarak belirlendi. Gruplar arasındaki bu artış istatistiksel olarak anlamlı görüldü (Şekil 15 ve 16). Bu bulgu, bize I/R sonrası böbrekte akut tübüler hasarın gerçekleştiğini akla getirmektedir.

Literatürde yer alan çalışmalar, elde ettiğimiz veriler ile paralellik göstermektedir. Buncharoen vd. yaptıkları deneysel araştırmada, kontrol grubu ratlarda BUN ve Cre düzeylerini sırasıyla 20.08 ± 2.38 ve 0.70 ± 0.03 mg/dL olarak tespit etmişlerdir [105]. Ienaga vd. sağlıklı ratlarda Cre ve BUN düzeylerini sırasıyla 0.45 ve 12 mg/dL olarak belirlediklerini [106], Zhang vd. ise sağlıklı erkek ve dişi ratlarda BUN düzeyini sırasıyla 16.30 ± 3.60 ve 18.97 ± 4.13 mg/dL, Cre düzeyini ise 0.74 ± 0.17 ve 0.80 ± 0.16 mg/dL tespit ettiklerini bildirmişlerdir [107].

Apelin-13 uygulanan gruplar incelendiğinde BUN ve Cre seviyelerinde belirlenen düşüşler APLN-10 µg ve APLN-100 µg gruplarında istatistiksel olarak önem arz etmektedir. Bir çalışmada apelin-13 ve leptin uyguladıklarını ve apelin-13 uygulanan grupta ki BUN ve Cre seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir [108]. Söz konusu veriler ışığında akut böbrek yetmezliklerinde araştırılması gereken iki önemli parametre olan BUN ve Cre sonuçlarımız literatürle uyumluluk göstermektedir.

Na^+ - K^+ ATPaz, ATP'ye bağlı hücre içi Na^+ ve K^+ değişimi ile intraselüler elektrolit homeostazını sağlayan bir enzimdir [86, 109]. Renal I/R modellerinde Na^+ - K^+ ATPaz aktivitesinin bozulmasına bağlı olarak tübüler sodyum reabsorpsiyonu ve GFR'de azalma olduğu gösterilmiştir [110]. Akut böbrek yetmezliğinin temel fizyolojik etkisi kanda ve hücre dışı sıvıda su, metabolik ürünler ve elektrolitlerin birikmesidir. Böbrek kan akımı azaldığında, GFR ve glomerüllerden filtre edilen sodyum klorür miktarı da (aynı zamanda su ve diğer elektrolitlerin filtrasyon hızları da) azalır. Bu işlem, normal böbreğin enerjisinin ve oksijen tüketiminin büyük çoğunluğunu kullanan tübüller tarafından geri emilmesi gereken sodyum klorür miktarını da düşürür [45].

Aydın vd. iskemi çalışmalarında kontrol grubunda sodyum ve potasyum miktarlarını sırasıyla 151 ± 0.56 ve 4.57 ± 0.27 uygulama grubunda ise 148.42 ± 1.15 ve 4.80 ± 0.28 mEq/L olarak belirlemişlerdir [111].

Bir başka çalışmada ise yine renal I/R modeli kullanılmış iskemi öncesi serum sodyum ve potasyum değerleri sırasıyla 141.5 ve 4.3 mmol/L olara belirlenmişken iskemi sonrası bu değerler 133.6 ve 5 mmol/L olarak bildirilmektedir [112].

Çalışmada, sham grubuna göre I/R grubunda sodyum miktarında azalma olduğunu potasyum ve klor miktarlarında ise artış olduğu belirlendi (Tablo 3). Sodyum ve potasyum verileri istatistiksel olarak sham'e göre I/R gruplarında anlamlı olarak değişse de klor miktarındaki değişiklik anlam ifade etmedi. Apelin-13 uygulanan ratlar incelendiğinde, sadece potasyumun I/R göre APLN-100 µg grubunda istatistiksel olarak önemli bir düşüş görülmektedir. Elde edilen veriler literatür ışığında incelendiğinde birçok araştırmacının verileri ile paralellik gösterdiği görülmektedir [111, 112].

Bazı böbrek hastalıklarında böbrekte fark edilir bir histolojik değişiklik olmadan önce bazal membranın negatif yükü kaybolur. Minimal değişiklik nefropatisi adı verilen bu durumda bazal membrandaki negatif yüklerin kaybı sonucu, bazı düşük molekül ağırlıklı

proteinler, özellikle albümin filtre edilir ve idrara çıkar. Bu duruma proteinüri veya albüminüri adı verilir [45].

Çalışmada albümin ve total protein sham grubunda sırasıyla 3.44 ± 0.15 ve 5.65 ± 0.15 , I/R grubunda ise 3.12 ± 0.19 ve 5.02 ± 0.38 g/dL olarak belirlendi. Sağıroğlu vd. renal iskemi çalışmalarında total protein miktarını kontrolde 6.29 ± 0.38 iskemi grubunda ise 5.80 ± 0.27 g/dL olarak [113], bir başka çalışmalarında ise albümin miktarını kontrol grubunda 2.81 ± 0.59 ve iskemi grubunda ise 2.93 ± 0.22 g/dL olarak saptanmıştır [108]. Apelin grupları incelendiğinde ise sadece total protein I/R grubuna göre APLN-100 µg grubu istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmaktadır.

AST özellikle kas hücrelerinde sınırlandırılmıştır. Daha az miktarlarda kalp kası ve karaciğerde bulunur. AST organa özel bir enzim değildir. AST, yumuşak doku nekrozunun nonspesifik göstergesidir. ALT'nin büyük kısmı karaciğerde ve daha az oranda ise iskelet kası, böbrek ve kalpte bulunur. Serum ALT düzeyindeki artışın çeşitli nedenleri vardır. Yüksek olduğu durumlar; viral hepatit, toksik karaciğer nekrozu, şok ve hipoksi ile birlikte olan dolaşım yetmezliğidir [47, 114, 115].

GGT serumda ve birçok hücrenin dış yüzeyinde bulunan ve aminoasit ya da küçük peptidlerin gama glutamil artıklarının transferini kataliz eden bir enzimdir. Serumdaki GGT'nin en önemli kaynağı karaciğer olmakla birlikte, böbrek, pankreas ve ince barsak az miktarda da olsa serumdaki aktivitesine katkıda bulunan dokulardır. GGT aktivitesindeki değişimlerin böbrek fonksiyonlarının da takibinde kullanılabilecek bir parametre olduğu bildirilmiştir [116-118].

Literatürde yer alan verileri incelendiğinde; Saad vd. ratlarda yaptıkları çalışmada kontrol grubunda AST düzeyini 144.3 ± 2.2 , ALT düzeyini 47 ± 4.1 U/L olarak tespit etmişlerdir [119]. Sağıroğlu vd. iskemi çalışmalarında kontrol grubu AST ve ALT seviyelerini sırasıyla 144 ± 56.4 ile 60.1 ± 14.4 U/L iskemi grubunda ise 301.1 ± 57.6 ve 130.0 ± 34.5 U/L olarak bildirmişlerdir [113]. Bir başka iskemi çalışmasında kontrol grubunda ki GGT miktarı 1.25 ± 0.52 U/L, uygulama grubunda ise 3.40 ± 0.77 U/L olarak bildirmektedirler [111].

Tablo 4'de yer alan veriler incelendiğinde: AST, ALT ve GGT sham grubunda sırasıyla; 123.28 ± 9.35 , 77.71 ± 12.10 ve 0.85 ± 0.69 U/L, I/R grubunda ise; 204.85 ± 20.74 , 107.28 ± 12.39 ve 1.42 ± 0.78 U/L olarak belirlendi. Bu artış AST ve ALT parametrelerinde istatistiksel olarak önemli görülsede GGT'de anlam ifade etmemektedir. Apelin uygulanan gruplar

incelendiğinde yine AST’de tüm gruplar I/R grubuna göre anlamlı olarak azaldı. ALT’de ise bu durum sadece APLN-10 µg ve APLN-100 µg gruplarında görülmektedir. GGT incelendiğinde hiçbir grup arasında istatistiksel farklılık görülmedi. Yapılan bir çalışmada diyaliz hastalarının apelin düzeylerinin daha düşük olduğu görülmüştür ve kronik böbrek yetmezliği ile kardiyovasküler hastalıkların patafizyolojisinde apelinin rol aldığı düşünülmektedir [120].

Literatür araştırmasında apelin-13 ile gerçekleştirilen az sayıda oksidatif stres çalışması yer almaktadır. Farklı deney modellerinde gerçekleştirilen birçok oksidatif stress parametresinde genel olarak olumlu sonuçlar elde edilmiştir [121-123]. Son çalışmalar karaciğer üzerinde oluşturulan I/R hasarına karşı apelin-13’ün leptinle benzer şekilde histolojik doku hasarını azalttığını göstermektedir [124]. Başka bir çalışmada ise apelin-12’nin kardiyak antioksidan savunma sistemlerinde miyokardial I/R hasarına karşı lipid peroksidasyonunu azalttığı belirlenmiştir [125, 126].

O_2^- radikallerinin yol açtığı oksidatif hasara karşı antioksidan savunmada görev alan SOD enzimi, O_2^- radikallerini H_2O_2 ve oksijene dönüştürür. CAT ya da GSH-Px ise H_2O_2 ’i zararsız yan ürünlere dönüştürüp hücre hasarını şiddetinde önemli rol oynarlar. H_2O_2 ’in zararsız hale getirilmesinde, glutatyon, GSH-Px ile okside glutatyona dönüştürülür. Glutatyon okside glutatyona katalizlenirken glutatyon redüktaz kullanılarak NADPH üretilir [122]. CAT bir hemoprotein olup aktif formda olabilmesi için NADPH’ye ihtiyaç duyar. Bu yüzden NADPH, SOD ve CAT’ın iş görebilmesinde önemli bir role sahiptir. NADPH seviyesi, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesine bağlıdır. Glutatyon redüktaz/GSH-Px hücre sitoplazmasında aktifken, CAT enzimi başlıca peroksisomlarda aktiftir. Glutatyon ve CAT’ın üretimi için gerekli olan NADPH pentoz fosfat yolunda üretilmektedir [122, 127].

Çalışmada, sham grubuna göre I/R grubunda böbrek dokusu SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlendi (Tablo 5). I/R grubunda, sham grubuna göre SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde meydana gelen azalmanın, iskemisi sırasında hücre içi pH düşmesi ya da diğer metabolik değişikliklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Reperfüzyon ile böbrekte meydana gelen SOR oluşumuna ilk maruz kalan yapının kan olduğu bilinmektedir. Serumda ki total antioksidan (TAS) ve total oksidan (TOS) seviyeleri incelendiğinde; sham grubunda sırasıyla 1.59 ± 0.10 µmol Trolox Eq/L ve 22.28 ± 3.54 µmol

H₂O₂ Eq/L, I/R gruplarında ise 1.18±0.05 µmol Trolox Eq/L ve 95.35±6.64 µmol H₂O₂ Eq/L olarak tespit edildi. Serum parametrelerinde ki antioksidan durumun azalması ve oksidatif durumun gösterdiği önemli artış, böbrek dokusundan elde edilen verilerle uyum sağlamaktadır. Apelin grupları ile serum üzerinde yapılan çalışmada da yine böbrek dokusunda ki verileri destekleyici bulgular görülmektedir (Tablo 6).

Çalışmada böbrek dokusunun MDA seviyeleri incelendiğinde, I/R grubunda sham grubuna göre anlamlı bir artış görüldü. MDA seviyesindeki bu artış (Tablo 5), iskemi esnasında oluşan oksidatif hasarın göstergesidir. Reperfüzyon uygulamasından sonra toksik oksijen radikallerinin artması ile lipid peroksidasyonunun geliştiği ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeylerinde önemli yükselmeler olduğu gösterilmektedir [128]. Çalışmada iskemi sonrası yükselen MDA düzeylerinin apelin-13 uygulamasıyla azalması durumu, bu durumun SOR oluşumunun azaltılması ile sağlandığını düşündürmektedir.

İskemi sonrası, hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflatuar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olmaktadır [7]. Bu esnada güçlü kemotaktik ajanlar olduğu bilinen TNF-α ve IL-1β gibi proinflatuar sitokinler salınır. Bu proinflatuar sitokinler; serbest oksijen radikali oluşumu gibi çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin salınımı ile de ilişkili olup, doku harabiyetine en erken hücrel yanıtı oluşturmaktadırlar. Bu sitokinler daha sonra böbrek hasarının oluşmasında majör rolleri olduğu bildirilen IL-6 salınımını indükleyerek inflamatuvar cevabı arttırmaktadırlar [129]. Literatürde yer alan bir çalışmada TNF-α'nın insan ve farede apelin ekspresyonunu regüle ettiği bildirilmektedir [130].

Bir derlemede ise yağ hücresinden leptin, resistin, TNF- α, adiponektin, adipsin, IL-6, plazminojen aktivatör inhibitör-1 (PAI-1), transforming büyüme faktörü- α (TGF- α), anjiyotensinojen, asilasyon stimüle edici protein (ASP), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-I), prostaglandin I₂ (PG I₂), prostaglandin F_{2α} (PG F_{2α}), gibi çok sayıda protein salgılandığı bildirilmiştir [40].

Bu çalışmada, TNF- α, IL-1β ve IL-6 ELISA parametreleri sham grubunda sırasıyla; 6.52±0.45, 10.20±0.36 ve 1240.41±22.72 pg/mL, I/R grubunda ise 10.95±0.82, 11.68±0.83 ve 1336.29±58.69 pg/mL olarak belirlendi (Tablo 6). Tüm parametrelerde sham grubuna kıyasla I/R grubunda ki bu artış istatistiksel olarak önemli görüldü. Apelin gruplarında ise tüm parametreler I/R grubuna kıyasla azalma gösterdi. Fakat bu azalma TNF-α ve IL-1β

parametrelerinde APLN-100 µg grubunda, IL-6 parametresinde ise APLN-10 µg ve APLN-10 µg gruplarında anlamlılık gösterdi.

Apelin üzerine yapılan birçok araştırma, bu peptidin metabolizmadaki rollerini ortaya koymaya çalışmıştır. Yang vd. apelinin kalp, beyin, karaciğer ve böbrek I/R hasarını önlemek için birden fazla koruyucu mekanizmanın aktive olabileceğini ve apelin/APJ sisteminin ilgili hastalıklar için umut verici terapötik bir ajan olabileceğini bildirmektedir [131]. Bir çalışmada apelinin rat kardiyomiyositlerinde apoptotik hücre ölümünü, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi, malondialdehit içeriğini ve laktat dehidrogenaz sızıntısını azalttığına dair bilgi verilmiştir [132]. Foussel vd. kalp fonksiyonlarını korumak için apelinin oksidatif stresi azalttığını ve katalaz aktivitesini artırdığını bildirmektedir [133]. Beyin üzerine yapılan bir iskemik çalışmada apelin-13'ün nöronları koruduğu ve felçli hastalarda umut verici terapötik etkilerinin araştırılması gerektiği vurgulanmıştır [134]. Son çalışmaların birinde 3 gün süre ile oluşturulan I/R hasarında MDA hasarı ve karaciğer fonksiyonları araştırılmıştır. Bu çalışmada leptin ve apelin-13 uygulaması ile benzer şekilde koruyucu etkiler gösterdiği belirlenmiştir [124], fakat Yanjie vd. derlemelerinde hepatik iskemi hasarına karşı apelinin gösterdiği koruyucu etkinin hangi mekanizmalar tarafından sağlandığı hakkında kesin bir bilgi elde edilemediğini bildirmektedir [131]. Małyszko vd. koroner kalp hastalığı olan diyaliz hastalarında apelin düzeyinin önemli miktarda düştüğünü ve bu durumun kardiyak fonksiyonlarla ilişkili olduğunu bildirmiştir [135]. KBY'li hastalarda apelinin E-selektin ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) ile ilişkili olduğu, adezyon moleküllerinin endotelden eksprese edildiği bildirilmiştir [136]. Başka bir çalışmada ise APJ mRNA'sının sıçanların tüm nefron segmentlerinde bulunduğu ve tubüler fonksiyon üzerinde etkili olduğu aktarılmaktadır [137].

Yapılan bu çalışma ile birçok memelinin böbrek dokusunda yer alan apelin-13'ün, çeşitli nedenlerle oluşabilecek akut böbrek yetmezliği kaynaklı oksidatif stres üzerindeki koruyucu rolünü ortaya koymaya çalışıldı. Elde edilen veriler ve mevcut literatür doğrultusunda apelin-13'ün böbrekte deneysel I/R modeli ile oluşturulan oksidatif hasarın azaltılabileceğini akla getirmektedir.

ÖNERİLER

Apelinin akut böbrek yetersizliği sonucu ortaya çıkan BUN, kreatinin, potasyum ve total protein gibi serum parametreleri üzerinde ki düzenleyici etkisi ile hem kendisinin hemde reseptörünün bu dokuda lokalize olmasının önemini vurgulamaktadır.

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, apelinin böbrek fonksiyonlarını düzenleyici, oksidatif hasarı azaltıcı ve bu hasar sonucu meydana gelen proinflamatuvar sitokinleri baskılayıcı rollerinin olduğunu ortaya koymaktadır. İleride yapılacak olan daha kapsamlı çalışmalarla apelinin bu etkiyi hangi alt mekanizmalar ile sağladığı araştırılabilir. Apelinin renal I/R hasarına karşı gösterdiği koruyucu etkisi sayesinde, bu peptidin klinik tedavi yöntemleri arasında yer alması en büyük beklenti ve önerilerimiz arasındadır.

KAYNAKLAR

- [1] **Wood, E.J.**, 1997. Biochemistry. A case-oriented approach. Sixth edition: By R Montgomery, T W Conway, A A Spector and D Chappell. pp 683. Mosby, St Louis MO. 1996. £24.95 ISBN 0-8151-6483-1, *Biochemical Education*, **25**(2), 95-95.
- [2] **Davies, M.J. and Slater, T.F.**, 1988. The use of electron-spin-resonance techniques to detect free-radical formation and tissue damage, *Proceedings of the Nutrition Society*, **47**(03), 397-405.
- [3] **Grisham, M.B. and Granger, D.N.**, 1989. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion, *Clin Chest Med*, **10**(1), 71-81.
- [4] **Southorn, P.A. and Powis, G.**, 1988. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions, *Mayo Clin Proc*, **63**(4), 381-9.
- [5] **Porter, N.A.**, 1984. Chemistry of lipid peroxidation, *Methods Enzymol*, **105**, 273-82.
- [6] **Ozan, E., Koyutürk, L., and Sapmaz, T.**, 2004. Böbrek İskemi-Reperfüzyon Hasarında Antioksidan Olarak Prostoglandin E (PGE) Kullanımının İncelenmesi: Deneysel Çalışma, *Fırat Tıp Dergisi*, **9**(3), 67-71.
- [7] **Şener, G. and Yeğen, B.Ç.**, 2009. İskemi reperfüzyon hasarı, *Klinik Gelişim*, **22**(3), 5-13.
- [8] **Zimmerman, B.J. and Granger, D.N.**, 1992. Reperfusion injury, *Surg Clin North Am*, **72**(1), 65-83.
- [9] **Keller, J.N., Pang, Z., Geddes, J.W., Begley, J.G., Germeyer, A., Waeg, G., and Mattson, M.P.**, 1997. Impairment of glucose and glutamate transport and induction of mitochondrial oxidative stress and dysfunction in synaptosomes by amyloid beta-peptide: role of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal, *J Neurochem*, **69**(1), 273-84.
- [10] **Butterfield, D.A.**, 2002. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review, *Free Radic Res*, **36**(12), 1307-13.

- [11] **Tatemoto, K., Hosoya, M., Habata, Y., Fujii, R., Kakegawa, T., Zou, M.X., Kawamata, Y., Fukusumi, S., Hinuma, S., Kitada, C., Kurokawa, T., Onda, H., and Fujino, M., 1998.** Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor, *Biochem Biophys Res Commun*, **251**(2), 471-6.
- [12] **Katugampola, S. and Davenport, A., 2003.** Emerging roles for orphan G-protein-coupled receptors in the cardiovascular system, *Trends Pharmacol Sci*, **24**(1), 30-5.
- [13] **Sandal, S. and Tekin, S., 2013.** Adipoz Dokudan Salgılanan Bir Hormon: Apelin, *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **1**, 55-62.
- [14] **Reaux, A., De Mota, N., Skultetyova, I., Lenkei, Z., El Messari, S., Gallatz, K., Corvol, P., Palkovits, M., and Llorens-Cortes, C., 2001.** Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain, *J Neurochem*, **77**(4), 1085-96.
- [15] **Wozniak, S.E., Gee, L.L., Wachtel, M.S., and Frezza, E.E., 2009.** Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article, *Dig Dis Sci*, **54**(9), 1847-56.
- [16] **Liu, Y., Song, C.Y., Wu, S.S., Liang, Q.H., Yuan, L.Q., and Liao, E.Y., 2013.** Novel adipokines and bone metabolism, *Int J Endocrinol*, **2013**, 895045.
- [17] **Beltowski, J., 2006.** Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines upregulated in obesity?, *Med Sci Monit*, **12**(6), RA112-9.
- [18] **Kawamata, Y., Habata, Y., Fukusumi, S., Hosoya, M., Fujii, R., Hinuma, S., Nishizawa, N., Kitada, C., Onda, H., Nishimura, O., and Fujino, M., 2001.** Molecular properties of apelin: tissue distribution and receptor binding, *Biochim Biophys Acta*, **1538**(2-3), 162-71.
- [19] **O'Carroll, A.M., Lolait, S.J., Harris, L.E., and Pope, G.R., 2013.** The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis, *J Endocrinol*, **219**(1), R13-35.
- [20] **Japp, A.G., Cruden, N.L., Amer, D.A., Li, V.K., Goudie, E.B., Johnston, N.R., Sharma, S., Neilson, I., Webb, D.J., Megson, I.L., Flapan, A.D., and Newby, D.E., 2008.** Vascular effects of apelin in vivo in man, *J Am Coll Cardiol*, **52**(11), 908-13.
- [21] **Japp, A.G., Cruden, N.L., Barnes, G., van Gemeren, N., Mathews, J., Adamson, J., Johnston, N.R., Denvir, M.A., Megson, I.L., Flapan, A.D., and Newby, D.E.,**

2010. Acute Cardiovascular Effects of Apelin in Humans: Potential Role in Patients With Chronic Heart Failure, *Circulation*, **121**(16), 1818-1827.
- [22] **Hashimoto, T., Kihara, M., Ishida, J., Imai, N., Yoshida, S., Toya, Y., Fukamizu, A., Kitamura, H., and Umemura, S.**, 2006. Apelin stimulates myosin light chain phosphorylation in vascular smooth muscle cells, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **26**(6), 1267-72.
- [23] **Zhong, J.C., Huang, D.Y., Liu, G.F., Jin, H.Y., Yang, Y.M., Li, Y.F., Song, X.H., and Du, K.**, 2005. Effects of all-trans retinoic acid on orphan receptor APJ signaling in spontaneously hypertensive rats, *Cardiovasc Res*, **65**(3), 743-50.
- [24] **Taheri, S., Murphy, K., Cohen, M., Sujkovic, E., Kennedy, A., Dhillon, W., Dakin, C., Sajedi, A., Ghatei, M., and Bloom, S.**, 2002. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats, *Biochem Biophys Res Commun*, **291**(5), 1208-12.
- [25] **O'Carroll, A.M., Selby, T.L., Palkovits, M., and Lolait, S.J.**, 2000. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues, *Biochim Biophys Acta*, **1492**(1), 72-80.
- [26] **Lee, D.K., Cheng, R., Nguyen, T., Fan, T., Kariyawasam, A.P., Liu, Y., Osmond, D.H., George, S.R., and O'Dowd, B.F.**, 2000. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor, *J Neurochem*, **74**(1), 34-41.
- [27] **O'Dowd, B.F., Heiber, M., Chan, A., Heng, H.H., Tsui, L.-C., Kennedy, J.L., Shi, X., Petronis, A., George, S.R., and Nguyen, T.**, 1993. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11, *Gene*, **136**(1), 355-360.
- [28] **Devic, E., Rizzoti, K., Bodin, S., Knibiehler, B., and Audigier, Y.**, 1999. Amino acid sequence and embryonic expression of msr/apj, the mouse homolog of Xenopus X-msr and human APJ, *Mechanisms of Development*, **84**(1-2), 199-203.
- [29] **Tobin, V.A., Bull, P.M., Arunachalam, S., O'Carroll, A.-M., Ueta, Y., and Ludwig, M.**, 2008. The Effects of Apelin on the Electrical Activity of Hypothalamic Magnocellular Vasopressin and Oxytocin Neurons and Somatodendritic Peptide Release, *Endocrinology*, **149**(12), 6136-6145.

- [30] **Xia, Y. and Krukoff, T.L.**, 2003. Differential neuronal activation in the hypothalamic paraventricular nucleus and autonomic/neuroendocrine responses to I.C.V. endotoxin, *Neuroscience*, **121**(1), 219-31.
- [31] **Cayabyab, M., Hinuma, S., Farzan, M., Choe, H., Fukusumi, S., Kitada, C., Nishizawa, N., Hosoya, M., Nishimura, O., Messele, T., Pollakis, G., Goudsmit, J., Fujino, M., and Sodroski, J.**, 2000. Apelin, the natural ligand of the orphan seven-transmembrane receptor APJ, inhibits human immunodeficiency virus type 1 entry, *J Virol*, **74**(24), 11972-6.
- [32] **Kagiyama, S., Fukuhara, M., Matsumura, K., Lin, Y., Fujii, K., and Iida, M.**, 2005. Central and peripheral cardiovascular actions of apelin in conscious rats, *Regul Pept*, **125**(1-3), 55-59.
- [33] **Eyries, M., Siegfried, G., Ciumas, M., Montagne, K., Agrapart, M., Lebrin, F., and Soubrier, F.**, 2008. Hypoxia-Induced Apelin Expression Regulates Endothelial Cell Proliferation and Regenerative Angiogenesis, *Circulation Research*, **103**(4), 432-440.
- [34] **Kidoya, H., Naito, H., and Takakura, N.**, 2010. Apelin induces enlarged and nonleaky blood vessels for functional recovery from ischemia, **115**(15), 3166-3174.
- [35] **Sunter, D., Hewson, A.K., and Dickson, S.L.**, 2003. Intracerebroventricular injection of apelin-13 reduces food intake in the rat, *Neurosci Lett*, **353**(1), 1-4.
- [36] **Ly, S.Y., Yang, Y.J., Qin, Y.J., Mo, J.R., Wang, N.B., Wang, Y.J., and Chen, Q.**, 2012. Central apelin-13 inhibits food intake via the CRF receptor in mice, *Peptides*, **33**(1), 132-8.
- [37] **Clarke, K.J., Whitaker, K.W., and Reyes, T.M.**, 2009. Diminished Metabolic Responses to Centrally-Administered Apelin-13 in Diet-Induced Obese Rats Fed a High-Fat Diet, *J Neuroendocrinol*, **21**(2), 83-89.
- [38] **Attane, C., Foussal, C., Le Gonidec, S., Benani, A., Daviaud, D., Wanecq, E., Guzman-Ruiz, R., Dray, C., Bezaire, V., Rancoule, C., Kuba, K., Ruiz-Gayo, M., Levade, T., Penninger, J., Burcelin, R., Penicaud, L., Valet, P., and Castan-Laurell, I.**, 2012. Apelin treatment increases complete Fatty Acid oxidation, mitochondrial oxidative capacity, and biogenesis in muscle of insulin-resistant mice, *Diabetes*, **61**(2), 310-20.

- [39] **Zhu, S., Sun, F., Li, W., Cao, Y., Wang, C., Wang, Y., Liang, D., Zhang, R., Zhang, S., Wang, H., and Cao, F.**, 2011. Apelin stimulates glucose uptake through the PI3K/Akt pathway and improves insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes, *Molecular and Cellular Biochemistry*, **353**(1-2), 305-313.
- [40] **Altaş, S., Gürsü, M.F., and Bulmuş, F.G.**, 2011. Adipoz Dokudan Salınan Yeni Adipokinler *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, **6**(17), 83-97.
- [41] **Boucher, J., Masri, B., Daviaud, D., Gesta, S., Guigne, C., Mazzucotelli, A., Castan-Laurell, I., Tack, I., Knibiehler, B., Carpene, C., Audigier, Y., Saulnier-Blache, J.S., and Valet, P.**, 2005. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity, *Endocrinology*, **146**(4), 1764-71.
- [42] **Kleinz, M.J. and Davenport, A.P.**, 2005. Emerging roles of apelin in biology and medicine, *Pharmacol Ther*, **107**(2), 198-211.
- [43] **Dray, C., Debard, C., Jager, J., Disse, E., Daviaud, D., Martin, P., Attane, C., Wanecq, E., Guigne, C., Bost, F., Tanti, J.F., Laville, M., Vidal, H., Valet, P., and Castan-Laurell, I.**, 2010. Apelin and APJ regulation in adipose tissue and skeletal muscle of type 2 diabetic mice and humans, *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **298**(6), E1161-9.
- [44] **Dray, C., Knauf, C., Daviaud, D., Waget, A., Boucher, J., Buléon, M., Cani, P.D., Attané, C., Guigné, C., Carpené, C., Burcelin, R., Castan-Laurell, I., and Valet, P.**, 2008. Apelin Stimulates Glucose Utilization in Normal and Obese Insulin-Resistant Mice, *Cell Metabolism*, **8**(5), 437-445.
- [45] **Guyton, A.C. and Hall, J.E.**, 2007. Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- [46] **Tunçel, N., Aydın, S., and Zeytinoğlu, M.**, 2013. İnsan Anatomisi ve Fizyolojisi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- [47] **Başbuğan, Y.**, 2013. Kronik Böbrek Yetmezliği Oluşturulan Ratlarda Kalp ve Böbrek Parametreleri ile Natriüretik Peptid Düzeyleri Arasındaki İlişki, *Doktora Tezi*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, VAN.
- [48] **Mehta, R.L. and Chertow, G.M.**, 2003. Acute renal failure definitions and classification: time for change?, *J Am Soc Nephrol*, **14**(8), 2178-87.
- [49] **Coşkunfirat, N., Cengiz, M., and Yılmaz, M.**, 2010. Akut böbrek yetersizliği üzerine hayvan modelleri, *Türk Yoğun Bakım Derneği Dergisi*, **8**(1), 38-45.

- [50] **Özkan, C. and Akgül, Y.**, 2010. Deneysel Nefrotoksisite Oluşturulan Tavşanlarda Nitrik Oksit Donörü (L-Arginin) ve Nitrik Oksit Sentaz İnhibitörlerinin (Aminoguanidin, L-NAME) Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkileri, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **21**, 35-41.
- [51] **Horoz, M. and Özden, Ö.**, 2004. Akut Böbrek Yetmezliği, *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **1**(3), 48-63.
- [52] **Anderson, R.J. and Barry, D.W.**, 2004. Clinical and laboratory diagnosis of acute renal failure, *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, **18**(1), 1-20.
- [53] **Bicik, Z. and Ersan, S.**, 1999. Akut renal yetmezlik, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, **3**, 113-117.
- [54] **Tanrıverdi, M.H., Karadağ, A., and Hatipoğlu, E.Ş.**, 2010. Kronik Böbrek Yetmezliği, *Konuralp Tıp Dergisi*, **2**(2), 27-32.
- [55] **Nadir, I., Topçu, S., Gültekin, F., and Yöner, Ö.**, 2002. Kronik böbrek yetmezliğinde etyolojik değerlendirme, *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **24**(2), 62-64.
- [56] Akpolat, T. and Utaş, C., Böbrek yetmezliği: Genel bilgiler. http://www.tsn.org.tr/folders/file/bobrek_yetmezligi.pdf, 31.01.2015.
- [57] **Wilhelm, J.**, 1990. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation, *Acta Univ Carol Med Monogr*, **137**, 1-53.
- [58] **Jennings, R.B. and Reimer, K.A.**, 1991. The cell biology of acute myocardial ischemia, *Annu Rev Med*, **42**, 225-46.
- [59] **Green, C.J., Gower, J.D., Healing, G., Cotterill, L.A., Fuller, B.J., and Simpkin, S.**, 1989. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys, *Free Radic Res Commun*, **7**(3-6), 255-64.
- [60] **Orrenius, S., Burkitt, M.J., Kass, G.E., Dybukt, J.M., and Nicotera, P.**, 1992. Calcium ions and oxidative cell injury, *Ann Neurol*, **32 Suppl**, S33-42.
- [61] **Parks, D.A., Williams, T.K., and Beckman, J.S.**, 1988. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation, *Am J Physiol*, **254**(5 Pt 1), G768-74.

- [62] **Akkuş, İ.**, 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- [63] **Slater, T.F.**, 1984. Free-radical mechanisms in tissue injury, *Biochem J*, **222**(1), 1-15.
- [64] **Wheeler, C.R., Salzman, J.A., Elsayed, N.M., Omaye, S.T., and Korte, D.W., Jr.**, 1990. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity, *Anal Biochem*, **184**(2), 193-9.
- [65] **Maxwell, S.J.**, 1995. Prospects for the Use of Antioxidant Therapies, *Drugs*, **49**(3), 345-361.
- [66] **Reiter, R.J.**, 1995. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms in the aging brain, *FASEB J*, **9**(7), 526-33.
- [67] **Lameire, N.H. and Vanholder, R.**, 2004. Pathophysiology of ischaemic acute renal failure, *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, **18**(1), 21-36.
- [68] **Geldi, O.**, 2012. Sıçanlarda abdominal aortaya kros klemp konulmasının neden olduğu iskemi reperfüzyona bağlı miyokard hasarına asetaminofenin etkisi, *Uzmanlık Tezi*, Trakya Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [69] **Papas, A.M.**, 1996. Determinants of antioxidant status in humans, *Lipids*, **31 Suppl**, S77-82.
- [70] **Aruoma, O.I.**, 1997. Extracts as antioxidant prophylactic agents, *Inform*, **8**(12), 1236-1242.
- [71] **Erden, M. and Bor, N.M.**, 1984. Changes of reduced glutathion, glutathion reductase, and glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs, *Biochem Med*, **31**(2), 217-27.
- [72] **Ozsahin, A.D., Kirecci, O.A., Yilmaz, O., Erden, Y., Bircan, B., and Karaboga, Z.**, 2012. Investigating Inhibitory Effects of Punica granatum Fruit Extracts on Lipid Peroxidation in the Fenton Reagent Environment, *Asian Journal of Chemistry*, **24**(3), 1010-1014.
- [73] **Mitchell, J.B. and Russo, A.**, 1987. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity, *Br J Cancer Suppl*, **8**, 96-104.
- [74] **Blakely, W.F., Fuciarelli, A.F., Wegher, B.J., and Dizdaroglu, M.**, 1990. Hydrogen peroxide-induced base damage in deoxyribonucleic acid, *Radiat Res*, **121**(3), 338-43.
- [75] **Mason, R.P., Stolze, K., and Flitter, W.D.**, 1990. Free radical reactions with DNA and its nucleotides, *Basic Life Sci*, **52**, 119-25.

- [76] **Piretti, M.V., Pagliuca, G., and Vasina, M.**, 1987. Proposal of an analytical method for the study of the oxidation products of membrane lipids, *Anal Biochem*, **167**(2), 358-61.
- [77] **Maede, Y., Kuwabara, M., Sasaki, A., Inaba, M., and Hiraoka, W.**, 1989. Elevated glutathione accelerates oxidative damage to erythrocytes produced by aromatic disulfide, *Blood*, **73**(1), 312-7.
- [78] **Baird, M.B., Birnbaum, L.S., and Sfeir, G.T.**, 1980. NADPH-driven lipid peroxidation in rat liver nuclei and nuclear membranes, *Arch Biochem Biophys*, **200**(1), 108-15.
- [79] **Vaca, C.E., Wilhelm, J., and Harms-Ringdahl, M.**, 1988. Studies on lipid peroxidation in rat liver nuclei and isolated nuclear membranes, *Biochim Biophys Acta*, **958**(3), 375-87.
- [80] **Tekkes, Y.**, 2006. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- [81] **Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., McCord, J.M., and Harman, D.**, 1987. Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med*, **107**(4), 526-45.
- [82] **Nakazawa, H., Genka, C., and Fujishima, M.**, 1996. Pathological aspects of active oxygens/free radicals, *Jpn J Physiol*, **46**(1), 15-32.
- [83] **Yalçın, A.S.**, 1998. Antioksidanlar, *Klinik Gelişim*, **11**(1-2), 342-346.
- [84] **Yu, B.P.**, 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiol Rev*, **74**(1), 139-62.
- [85] **Acar, G.**, 2006. Crocus Cinsine Ait (Crocus biflorus Miller, Crocus baytopiorum Mathew, Crocus flavus Weston subp. dissectus T. Baytop & Mathew) Saf Ekstraktların Antimikrobiyal ve Antioksidant Etkisi, *Yüksek Lisans Tezi*, Pamukkale Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- [86] **Yıldar, M.**, 2008. Deneysel renal iskemi/reperfüzyon hasarında splenektomi ve gadolinium chloride (GdCl₃)' in koruyucu etkisi, *Uzmanlık Tezi*, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi. I. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul.

- [87] **Anaya-Prado, R., Toledo-Pereyra, L.H., Lentsch, A.B., and Ward, P.A.,** 2002. Ischemia/reperfusion injury, *J Surg Res*, **105**(2), 248-58.
- [88] **Brunicardi, F., Andersen, D., Billiar, T., Dunn, D., Hunter, J., Matthews, J., and Pollock, R.E.,** 2014. Schwartz's Principles of Surgery, McGraw-Hill Professional, New York, US.
- [89] **Hastürk, A.E.,** 2006. Rat İnkomplet Spinal Kord İskemi-Reperfüzyon Modelinde Proenflamatuar Sitokin Ekspresyonu ve Oluşan Doku Hasarı ile Korelasyonunun Araştırılması, *Uzmanlık Tezi*, Başkent Üniversitesi. Nöroşirürji Anabilim Dalı, Ankara.
- [90] **Altintas, R., Parlakpınar, H., Beytur, A., Vardi, N., Polat, A., Sagir, M., and Odabas, G.P.,** 2012. Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats, *Kidney Blood Press Res*, **36**(1), 220-30.
- [91] **Ding, Y.F., Zhang, M.M., and He, R.R.,** 2001. Role of renal nerve in cardioprotection provided by renal ischemic preconditioning in anesthetized rabbits, *Sheng Li Xue Bao*, **53**(1), 7-12.
- [92] **Ji, E.-S., Yue, H., Wu, Y.-M., and He, R.-R.,** 2004. Effects of phytoestrogen genistein on myocardial ischemia/reperfusion injury and apoptosis in rabbits, *Acta pharmacologica Sinica*, **25**(3), 306-312.
- [93] **Sun, Y., Oberley, L.W., and Li, Y.,** 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin Chem*, **34**(3), 497-500.
- [94] **Aebi, H.,** 1974. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. Methods of Enzymatic Analysis, Verlag Chemie, Weinheim.
- [95] **Mihara, M. and Uchiyama, M.,** 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test, *Anal Biochem*, **86**(1), 271-8.
- [96] **Paglia, D.E., Valentine, W.N., and Dahlgren, J.G.,** 1975. Effects of low-level lead exposure on pyrimidine 5'-nucleotidase and other erythrocyte enzymes. Possible role of pyrimidine 5'-nucleotidase in the pathogenesis of lead-induced anemia, *J Clin Invest*, **56**(5), 1164-9.
- [97] **Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.,** 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J Biol Chem*, **193**(1), 265-75.

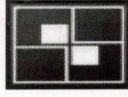
- [98] **Dosluoglu, H.H., Aktan, A.O., Yegen, C., Okboy, N., Yalcin, A.S., Yahn, R., and Ercan, S.**, 1993. The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK 36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys, *Transpl Int*, **6**(3), 138-42.
- [99] **Woolfson, R.G., Millar, C.G., and Neild, G.H.**, 1994. Ischaemia and reperfusion injury in the kidney: current status and future direction, *Nephrol Dial Transplant*, **9**(11), 1529-31.
- [100] **Humphreys, B.D. and Bonventre, J.V.**, 2008. Mesenchymal stem cells in acute kidney injury, *Annu Rev Med*, **59**, 311-25.
- [101] **Desai, M.M., Gill, I.S., Ramani, A.P., Spaliviero, M., Rybicki, L., and Kaouk, J.H.**, 2005. The impact of warm ischaemia on renal function after laparoscopic partial nephrectomy, *BJU Int*, **95**(3), 377-83.
- [102] **Islam, C.F., Mathie, R.T., Dinneen, M.D., Kiely, E.A., Peters, A.M., and Grace, P.A.**, 1997. Ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney: the effect of preconditioning, *Br J Urol*, **79**(6), 842-7.
- [103] **Laven, B.A., Orvieto, M.A., Chuang, M.S., Ritch, C.R., Murray, P., Harland, R.C., Inman, S.R., Brendler, C.B., and Shalhav, A.L.**, 2004. Renal tolerance to prolonged warm ischemia time in a laparoscopic versus open surgery porcine model, *J Urol*, **172**(6 Pt 1), 2471-4.
- [104] **Williams, P., Lopez, H., Britt, D., Chan, C., Ezrin, A., and Hottendorf, R.**, 1997. Characterization of renal ischemia-reperfusion injury in rats, *J Pharmacol Toxicol Methods*, **37**(1), 1-7.
- [105] **Buncharoen, W., Saenphet, S., Chomdej, S., and Saenphet, K.**, 2012. Evaluation of biochemical, hematological and histopathological parameters of albino rats treated with *Stemona aphylla* Craib. extract, *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**(27), 4429-4435.
- [106] **Ienaga, K., Mikami, H., and Yokozawa, T.**, 2009. First Indications Demonstrating the Preventive Effects of NZ-419, a Novel Intrinsic Antioxidant, on the Initiation and/or Progression of Chronic Renal Failure in Rats, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **32**(7), 1204-1208.
- [107] **Zhang, Z.-P., Tian, Y.-H., Li, R., Cheng, X.-Q., Guo, S.-M., Zhang, J.-X., Wang, J.-J., and Hu, L.**, 2004. The comparison of the normal blood biochemical values of

- Wistar rats with different age and sex, *Asian J Drug Metab Pharmacokinet*, **4**(3), 215-218.
- [108] **Sagiroglu, T., Torun, N., Yagci, M., Yalta, T., Sagiroglu, G., and Oguz, S.**, 2012. Effects of apelin and leptin on renal functions following renal ischemia/reperfusion: An experimental study, *Exp Ther Med*, **3**(5), 908-914.
- [109] **Skou, J. and Esmann, M.**, 1992. The Na,K-ATPase, *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, **24**(3), 249-261.
- [110] **Kwon, T.H., Frokiaer, J., Han, J.S., Knepper, M.A., and Nielsen, S.**, 2000. Decreased abundance of major Na(+) transporters in kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure, *Am J Physiol Renal Physiol*, **278**(6), F925-39.
- [111] **Aydın, C., Kennerman, E., Galip, N., Yalçın, M., Ak, F., and Kayaalp, C.**, 2004. Hepatik İskemi-Reperfüzyon Hasarının Sıçanlarda Alyuvar ve Plazma Elektrolit Dengesi, Bazı Serum Biyokimyasal Parametreleri ve Karaciğer Hücre Histolojisi Üzerine Etkisi, *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, **23**, 77-82.
- [112] **Pektaş, A., Gemalmaz, H., Balkaya, M., Ünsal, C., Yenisey, Ç., Kılıçarslan, N., and Çulhacı, N.**, 2014. The short-term protective effects of lycopene on renal ischemia-reperfusion injury in rats, *Turkish Journal of Urology*, **40**(1), 46-51.
- [113] **Sagiroglu, T., Sezer, A., Torun, N., Yalta, T., Yagci, M.A., Sagiroglu, G., and Copuroglu, E.**, 2014. Protective effect of everolimus on renal ischemia reperfusion injury in rats, *Saudi J Kidney Dis Transpl*, **25**(2), 294-302.
- [114] **Suckow, M.A., Franklin, C.L., and Weisbroth, S.H.**, 2006. The Laboratory Rat (Second Edition), Academic Press, Burlington.
- [115] **Abutarbush, S.M.**, 2010. Veterinary Medicine — A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats, 10th edition, *The Canadian Veterinary Journal*, **51**(5), 541-541.
- [116] **Noyan, T.**, 2009. Serum Gama Glutamil Transferaz: Son Elde Edilen Bulgular ve Çeşitli Hastalıkların Fizyopatolojisindeki Önemi, *Van Tıp Dergisi*, **16**(1), 48-55.
- [117] **Goldberg, D.M.**, 1980. Structural, functional, and clinical aspects of gamma-glutamyltransferase, *CRC Crit Rev Clin Lab Sci*, **12**(1), 1-58.
- [118] **Lee, D.S., Evans, J.C., Robins, S.J., Wilson, P.W., Albano, I., Fox, C.S., Wang, T.J., Benjamin, E.J., D'Agostino, R.B., and Vasan, R.S.**, 2007. Gamma glutamyl

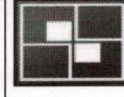
- transferase and metabolic syndrome, cardiovascular disease, and mortality risk: the Framingham Heart Study, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **27**(1), 127-33.
- [119] **Saad, S.Y., Alkharfy, K.M., and Arafah, M.M.**, 2006. Cardiotoxic effects of arsenic trioxide/imatinib mesilate combination in rats, *J Pharm Pharmacol*, **58**(4), 567-73.
- [120] Kelly, K.J. and Molitoris, B.A. *Acute renal failure in the new millennium: time to consider combination therapy*. in *Seminars in nephrology*. 2000.
- [121] **Hashimoto, T., Kihara, M., Imai, N., Yoshida, S., Shimoyamada, H., Yasuzaki, H., Ishida, J., Toya, Y., Kiuchi, Y., Hirawa, N., Tamura, K., Yazawa, T., Kitamura, H., Fukamizu, A., and Umemura, S.**, 2007. Requirement of apelin-apelin receptor system for oxidative stress-linked atherosclerosis, *Am J Pathol*, **171**(5), 1705-12.
- [122] **Şentürk, H.**, 2008. Renal İskemi-Reperfüzyonu Sırasında Sıçan Böbreğinde Olusan Oksidatif Stres Hasarına Silimarin ve Likopen Etkisi, *Doktora Tezi*, Osmangazi Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- [123] **Zeng, X.J., Zhang, L.K., Wang, H.X., Lu, L.Q., Ma, L.Q., and Tang, C.S.**, 2009. Apelin protects heart against ischemia/reperfusion injury in rat, *Peptides*, **30**(6), 1144-52.
- [124] **Sagiroglu, T., Aksoy, M., Sagiroglu, G., Tozkir, H., Oguz, S., Yalta, T., Yagci, M., and Sezer, A.**, 2014. Effect of Leptin and Apelin Preconditioning on Hepatic Ischemia Reperfusion Injury in Rats, *Indian Journal of Surgery*, **76**(2), 111-116.
- [125] **Pisarenko, O., Serebriakova, L., Pelogeïkina, I., Studneva, I., Kkhatri, D., Tskitishvili, O., Beshpalova, Z., Az'muko, A., Sidorova, M., and Pal'keeva, M.**, 2011. Involvement of NO-dependent mechanisms of apelin action in myocardial protection against ischemia/reperfusion damage., *Kardiologiia*, **52**(2), 52-58.
- [126] **Pisarenko, O.I., Serebryakova, L.I., Studneva, I.M., Pelogeykina, Y.A., Tskitishvili, O.V., Beshpalova, Z.D., Sidorova, M.V., Az'muko, A.A., Khatri, D.N., Pal'keeva, M.E., and Molokoedov, A.S.**, 2013. Effects of structural analogues of apelin-12 in acute myocardial infarction in rats, *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, **4**(3), 198-203.
- [127] **Ramakrishnan, G., Raghavendran, H.R., Vinodhkumar, R., and Devaki, T.**, 2006. Suppression of N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis by silymarin in rats, *Chem Biol Interact*, **161**(2), 104-14.

- [128] **Sener, G., Tugtepe, H., Yuksel, M., Cetinel, S., Gedik, N., and Yegen, B.C.,** 2006. Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats, *Arch Med Res*, **37**(7), 822-9.
- [129] **Kivrakdal, S.,** 2006. Ratlarda toksik duman inhalasyonu Modelinde oluşan akut Akciğer hasarı üzerine Antitrombin III'ün etkileri, *Uzmanlık Tezi*, Başkent Üniversitesi. Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara.
- [130] **Daviaud, D., Boucher, J., Gesta, S., Dray, C., Guigne, C., Quilliot, D., Ayav, A., Ziegler, O., Carpene, C., Saulnier-Blache, J.S., Valet, P., and Castan-Laurell, I.,** 2006. TNFalpha up-regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue, *FASEB J*, **20**(9), 1528-30.
- [131] **Yang, Y., Lv, S.-Y., Lyu, S.-K., Wu, D., and Chen, Q.,** 2015. The protective effect of apelin on ischemia/reperfusion injury, *Peptides*, **63**(0), 43-46.
- [132] **Zhang, Z., Yu, B., and Tao, G.-z.,** 2009. Apelin protects against cardiomyocyte apoptosis induced by glucose deprivation, *Chinese medical journal*, **122**(19), 2360-2365.
- [133] **Foussal, C., Lairez, O., Calise, D., Pathak, A., Guilbeau-Frugier, C., Valet, P., Parini, A., and Kunduzova, O.,** 2010. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy, *FEBS letters*, **584**(11), 2363-2370.
- [134] **Khaksari, M., Aboutaleb, N., Nasirinezhad, F., Vakili, A., and Madjd, Z.,** 2012. Apelin-13 protects the brain against ischemic reperfusion injury and cerebral edema in a transient model of focal cerebral ischemia, *Journal of Molecular Neuroscience*, **48**(1), 201-208.
- [135] **Malyszko, J., Malyszko, J.S., Kozminski, P., and Mysliwiec, M.,** 2006. Apelin and cardiac function in hemodialyzed patients: possible relations?, *Am J Nephrol*, **26**(2), 121-6.
- [136] **Malyszko, J., Pawlak, K., and Mysliwiec, M.,** 2008. Visfatin and apelin, new adipocytokines, and their relation to endothelial function in patients with chronic renal failure, *Advances in Medical Sciences*, **53**(1), 32-36.
- [137] **Hus-Citharel, A., Bouby, N., Frugière, A., Bodineau, L., Gasc, J.-M., and Llorens-Cortes, C.,** 2008. Effect of apelin on glomerular hemodynamic function in the rat kidney, *Kidney international*, **74**(4), 486-494.

EK 1: Etik Kurul Belgesi



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU BAŞKANLIĞI



ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR NO	ÖZÜ
06.03.2013	2013/02	32	Prof. Dr. Sevda KIRBAĞ

KARAR

“Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyonu İle Oluşturulan Oksidatif Hasarda Apelin Hormonu’nun Etkisi” başlıklı araştırma projenizde 35 Adet Sprague Dawley ırkı rat kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı beyan edilmiştir. Bu çerçevede, anılan projenin “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik” hükümleri yönünden uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

GÖREVİ	ADI SOYADI	BÖLÜMÜ	İMZA
Başkan	Prof. Dr. İbrahim H. ÖZERCAN	Tıp Fakültesi Patoloji A.D.	
Raportör	Yrd. Doç. Dr. Mehmet TUZCU	Fen Fak. Moleküler Biyoloji A.D.	
Üye	Doç. Dr. Mete ÖZCAN	Tıp Fakültesi Biyofizik A.D.	
Üye	Prof. Dr. Abdullah ÖZEN	Veteriner Fakültesi Deontoloji A.D.	
Üye	Doç. Dr. Cihan GÜNAY	Veteriner Hekim	
Üye	Tahsin AVCI	Sivil üye	
Üye	Hıdır DOĞAN	Sivil üye	

ADRES : F.Ü. Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı ELAZIĞ / TEL : 0 (424) 237 00 00 / 4639
BİLGİ : Hüseyn İPEK Dahili Tel: 4639 / e mail : huseyinipek@firat.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad Soyad : Burak BİRCAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Ankara-1986
Adresi : Ziyabey Cad. No:18/6 Balgat/Ankara
Tel : 0 532 643 43 88
e-mail : burak.bircan@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

- Lise (Hacı Ömer Tarman Anadolu Lisesi 2003 Almanca)
- Üniversite (Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümü 2009)
- Yüksek Lisans (Fırat Üniversitesi-Genel Biyoloji 2011)
- Doktora (Fırat Üniversitesi-Genel Biyoloji 2015)

YABANCI DİL

- İngilizce

İŞ TECRÜBELERİ

- İnvitrolab Laboratuvarı (2010) (Satış-Pazarlama Uzmanı)
- MedSanTek Lab. Mlz. San. Tic. Ltd. Şti. (2012-2014) (İç Anadolu Satış-Pazarlama Uzmanı ve Eğitmen)

BİLİMSEL ETKİNLİKLER VE KURSLAR

- Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası 2010
- 20. Ulusal Biyoloji Kongresi 2010 Denizli
- Elazığ Enfeksiyon Günleri Sempozyumu
- ISO 17025:2005 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarlarının Yeterliliği Sertifikası 2011
- ISO 9001, ISO 14001, OHSAS 18001 Entegre Yönetim Sistemi İç Denetçi Sertifikası 2011.

YAYINLAR

Ulusal Konferans ve Sempozyumlar

- Ö.Yılmaz., M. Güvenç., A. D. Özşahin., A. Aslan., B. Bircan., Z. Baydaş. ve M. Tuzcu, Eritrositlerde LPO Oluşumu ve GSH Düzeyi Üzerine Kayısı ve Üzüm Polifenolik Bileşiklerin Etkisi, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21–25 Haziran 2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.

- S. Kırbağ., P. Erecevit., A. N. Önganer., Ö.Yılmaz., B. Bircan. ve O. Kireççi., Besin Olarak Tüketilen *Pisum sativum*' un Bazı Probiyotik Maya Türlerinin Gelişimi ve Yağ Asidi Sentezine Etkisinin Araştırılması, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21–25 Haziran 2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- A.D. Özşahin., O. Yılmaz., Z. Gökçe., P. Erecevit. ve B. Bircan, Food Contents of *Prunus armeniaca* l. CV. Kabaş Fruits Extracts and Their Effects on The Lipid Peroxidation in The Fenton Reagent Environment, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21–25 Haziran 2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- B. Bircan., Ö.Yılmaz., Y. Erden., A. D. Özşahin. ve Z. Karaboğa., *Punica granatum* l. Meyve Ekstraktinin *In Vitro* Ortamda Oluşturulan Lipid Peroksidasyonu ve DPPH Serbest Radikaline Karşı Antioksidan Etkisinin Araştırılması, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21–25 Haziran 2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- Y. Erden., Ö. Yılmaz., B. Bircan., A. D. Özşahin., M. Tuzcu. ve Z. Karaboğa., *Pistacia terebinthus* l. Ekstraktlarının Soya ile Mısırozü Yağının Bulunduğu *In Vitro* Ortamda LPO Oluşumuna Karşı Antioksidan Etkisinin Araştırılması, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21–25 Haziran 2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- Ö. Yılmaz., A. N. Önganer., P. Erecevit., S.Kırbağ. ve B. Bircan., *Musa sapientum*' un (muz) Fitokimyasal İçeriklerinin Belirlenmesi ve *Lactobacillus* sp. Üzerindeki Etkisi, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21–25 Haziran 2010, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- B. Bircan., M. Çakır., S. Kırbağ., Siçanlarda Deneysel Iskemi/Reperfüzyon Modelinde Apelin-13'ün Koruyucu Rolü, 40. Ulusal Fizyoloji Kongresi, 2-6 Eylül 2014, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye.

Uluslararası Konferans ve Sempozyumlar

- Y. Erden, B. Bircan, E. Eraslan, S. Tekin., Antioxidative Activity of Dried Apricot Determined in Vitro by Inducing Liver Lipid Peroxidation, Joint Congress Of Feps and Turkish Society of Physiological Sciences, September 3-7 2011 Yeditepe – Istanbul / Turkey.

Uluslararası Hakemli Dergilerdeki Yayınlar

- Ö. Yılmaz, A. D. Özşahin., B. Bircan., Y. Erden and Z. Karaboga., Radical Scavenging Activity of The *Pistacia Terebinthus* in Fenton Reagent Environment and Its Protective Effects on The Unsaturated Fatty Acids, Asian Journal of Chemistry Volume 22 (2010).
- D. Özşahin, O. A. Kireççi., Ö. Yılmaz., Y. Erden., B. Bircan. and Z. Karaboga., Investigating Inhibitory Effects of Punica Granatum Fruit Extracts on Lipid Peroxidation in The Fenton Reagent Environment, Asian Journal of Chemistry; Vol. 24, No. 3 (2012), 1010-1014.

Ulusal Hakemli Dergilerdeki Yayınlar

- Y. Erden., B. Bircan., Ö. Yılmaz., P. Erecevit., Antioxidative Activity and Phytochemical Composition of Dried Apricot, Turkish Journal of Science & Technology, Volume 8(2),107-113, 2013

PROJELER

- Y. Erden., N. Aslan., B. Bircan., Z. Karaboğa., *In vitro* Şartlarda Bazı Bitkisel Yağların Varlığında Oluşturulan Lipid Peroksidasyonu Üzerine *Pistacia terebinthus* & *Punica granatum* Ekstraktlarının Antioksidan Etkisinin Araştırılması 2209 – Üniversite Öğrencileri Yurt İçi / Yurt Dışı Araştırma Projeleri Destekleme Programı TÜBİTAK (Proje elemanı) 2009.
- Kırbağ S., Bircan B., *Eremurus spectabilis* Bieb., *Silene chlorifolia* Sm. ve *Plumbago europaea* L.'nın Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi FÜBAP (Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Proje No:2119), 2010-2011, Araştırmacı.
- Kırbağ S., Bircan B., Çakır M., Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyonu İle Oluşturulan Oksidatif Hasarda Apelin Hormonu'nun Etkisi, FÜBAP (Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, Proje No:FF.13.20).2013-2015, Araştırmacı.

TEZLER

- B. Bircan., 2011, *Eremurus spectabilis* Bieb., *Silene chlorifolia* Sm. ve *Plumbago europaea* L.'nın Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesi, Fırat Üniversitesi Genel Biyoloji Yüksek Lisans Tezi.
- B. Bircan., 2015, Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyonu İle Oluşturulan Oksidatif Hasarda Apelin Hormonu'nun Etkisi, Fırat Üniversitesi Genel Biyoloji Doktora Tezi.

SEMİNERLER

- B. Bircan., 2011 Doğal Besin Toksinleri, Fırat Üniversitesi Genel Biyoloji Yüksek Lisans Semineri.
- B. Bircan., 2012 Yeni Bir Yağ Doku Hormonu Apelin, Fırat Üniversitesi Genel Biyoloji Doktora Semineri.