

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA GLİSEROL İLE OLUŞTURULAN
RABDOMİYOLİZİN İNDÜKLEDİĞİ AKUT RENAL
YETMEZLİKTE KEFİRİN ETKİNLİĞİ**

Dr. Pınar KARABACAK

**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Filiz ALKAYA SOLMAZ

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim
Birimince 3209-TU-2 no' lu proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA-2013

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca benden bilgi ve birikimlerini esirgemeyen ve eğitimime büyük katkıda bulunan başta tez danışmanım sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Filiz ALKAYA SOLMAZ olmak üzere sayın Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Füsün EROĞLU, Prof. Dr. Sadık ÖZMEN, Prof. Dr. Lütfi YAVUZ, Prof. Dr. Pakize KIRDEMİR, Doç. Dr. Dilek KARAASLAN, Doç. Dr. Berit GÖKÇE CEYLAN, Yrd. Doç. Dr. Tülay TUNCER PEKER hocalarıma;

Tez çalışmamda desteklerini esirgemeyen SDÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine, SDÜ-HADYEK'e, Biyokimya ve Histoloji A.B.D. öğretim üyesi ve asistan arkadaşlarıma ve istatistik konusunda yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Yonca SÖNMEZ'e, kefir temininde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Zeynep Banu SEYDİM, Tuğba KÖK TAŞ ve SDÜ DANEM'e ;

İyi kötü pek çok şeyi paylaştığımız, asistanlık dönemim boyunca arkadaşlıklarını ve zamanlarını benimle paylaşan sevgili asistan arkadaşlarıma, tüm teknisyen, hemşire, sekreter arkadaşlarıma, yoğun bakım ve ameliyathane personeline;

Yanımda olamasalar da varlıklarını hep hissettiğim canım annem, babam ve kardeşime;

Pek çok anında yanında olamasam da, her türlü yorgunluğuma ve kaprisime katlanan, yine de beni sevmekten hiç vazgeçmeyen biricik oğlum Yunus Ege'me;

Her zaman yanımda olan, sevgili eşim Mustafa KARABACAK'a;

Ve son olarak yokluğunu yürekten hissettiğim ve özlediğim canım teyzem Seval BİNGÖL'e;

Yürekten teşekkürlerimi sunarım...

Dr. Pınar KARABACAK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	v
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Akut Böbrek Yetmezliği	4
2.1.1. Prerenal Böbrek Yetmezliği	7
2.1.2. Renal (İntrinsek) Böbrek Yetmezliği	7
2.1.3. Postrenal Böbrek Yetmezliği	7
2.1.4. Akut Tübüler Nekroz	7
2.1.5. Myoglobinürik ABY	9
2.1.6. Akut Böbrek Yetmezliğinin Tanısı	11
2.1.7. RIFLE ve AKI Sınıflaması	12
2.2. Sistatinler.....	15
2.2.1. Sistatin C	16
2.2.1.1. Yapısı, Metabolizması ve Fonksiyonu	16
2.2.1.2. Sistatin C Ölçüm Metodları	19
2.3. Kefir	19
2.4. Serbest Radikaller	21
2.4.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	22
2.4.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri	23
2.4.3. Total Oksidan Seviye- Total Antioksidan Kapasite- Oksidatif Stres İndeksi	23
2.4.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK).....	23
2.4.5. Total Oksidant Seviye (TOS).....	24
2.4.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	24
3. MATERYAL ve METOD	25
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.2. Kefirin Hazırlanması	25
3.3. Kullanılan Malzeme ve Aletler	25

3.4. Kullanılan Kimyasallar	26
3.5. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Deneyin Yapılması	26
3.6. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri.....	28
3.7. Böbreklerin Çıkarılması ve Böbrek Dokusundan Çalışılan Testler	28
3.8. Histopatolojik Analiz Yöntemleri	29
3.9. İstatistiksel Analiz	30
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA	42
SONUÇ.....	47
ÖZET.....	49
ABSTRACT	50
KAYNAKLAR	51
EK.....	59

KISALTMALAR

ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
MABY	: Miyoglobüürük Akut Böbrek Yetmezliği
GFH	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
İM	: İntramuskuler
NO	: Nitrik Oksid
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
CPK	: Kreatinin Fosfokinaz
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
RIFLE	: Risk, Injury, Failure, Loss of Function, and End-stage
SDBY	: Son Dönem Böbrek Yetmezliği
AKI	: Akut Kidney Injury
TAK	: Total Antioksidan Kapasite
TOS	: Total Oksidan Seviye
SOD	: Süperoksid Dismutaz
CAT	: Katalaz
GR	: Glutatyon Redüktaz
GPx	: Glutatyon Peroksidaz

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. ABY nedenleri	6
Tablo 2. RIFLE kriterleri.....	13
Tablo 3. AKI sınıflama/dereceleme sistemi	14
Tablo 4. RIFLE ve AKIN sınıflamasının kıyaslanması	14
Tablo 5. Sistatin süper ailesi.....	15
Tablo 6. Sistatin C ile kreatinin/ kreatinin klirensinin karşılaştırılması.....	17
Tablo 7. Ratların kilo özellikleri.....	31
Tablo 8. Ratların böbrek fonksiyon testleri.....	31
Tablo 9. Ratların böbrekteki TAK ve TOS düzeyleri	32
Tablo 10. Ratların LDH ve CPK düzeyleri.	32
Tablo 11. Grup I ve Grup II'nin karşılaştırılması	32
Tablo 13. Grup I ve Grup IV'ün karşılaştırılması	33
Tablo 14. Grup II ve grup III'ün karşılaştırılması.....	34
Tablo 15. Grup II ve Grup IV'ün karşılaştırılması.....	34
Tablo 16. Grup III ve Grup IV'ün karşılaştırılması	35
Tablo 17. Grupların karşılaştırılması.....	35
Tablo 18. Grupların histolojik karşılaştırılması	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. ATN fizyopatolojisinde etkili faktörler	8
Şekil 2. Grup I'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Böbrek cisimciği (ince ok), tübüller (kalın ok)	37
Şekil 3. Grup I'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Böbrek cisimciği (ok)	37
Şekil 4. Grup II'ye ait böbrek kesiti. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (ince ok), vasküler konjesiyon(kalın ok)	38
Şekil 5. Grup II 'ye ait böbrek kesiti. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (yıldız), tübüler epitelyal hücrelerde hidropik dejenerasyon (ice siyah ok), tübüler dilatasyon (beyaz ok), vasküler konjesiyon(kalın siyah ok).....	38
Şekil 6. Grup II' ye ait böbrek kesiti. Tübüler dilatasyon (kalın ok), vasküler konjesiyon(ince oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x20).....	39
Şekil 7. Grup III'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Medulla bölgesi, toplayıcı tübüller (oklar).	39
Şekil 8. Grup III'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Böbrek cisimciği (oklar).....	40
Şekil 9. Grup IV'e ait böbrek kesiti. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (beyaz ok), tübüler epitelyal hücrelerde hidropik dejenerasyon (ince siyah oklar), vasküler konjesiyon (siyah kalın oklar).....	40
Şekil 10. Grup IV'e ait böbrek kesiti. Vasküler konjesiyon (oklar)	41
Şekil 11. Grup IV'e ait böbrek kesiti. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (kalın ok), vasküler konjesiyon(ince oklar).	41

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Akut böbrek yetmezliği (ABY), saatler-günler içinde böbrek fonksiyonlarının bozulması ve glomerüler filtrasyon hızında (GFH) azalmayla seyreden bir tablo olup, serum kreatinin düzeyinin; bazal düzeyin en az % 50 oranında veya 0,5 mg/dL'nin üzerinde artış göstermesi olarak tanımlanabilir (1). GFH'de gelişen azalma sonucunda kan üre azotu, kreatinin ve diğer üremik toksinler vücutta birikir. ABY'de GFH düşüşü daha hızlıdır ve günler, haftalar içinde gelişir (1). Eşlik eden ciddi bir hastalık olmadığı takdirde, böbrek fonksiyonlarında düzelme gözlenebilir. Sağ kalan hastalarda, kronik renal replasman tedavisi ihtiyacı yalnızca % 5 oranında görülmektedir. Bu nedenle, bu hastalarda temel amaç, uygun koruyucu tedavi stratejileriyle ve eğer gerekirse uygun ve etkili renal replasman tedavisi ile bu hastalarda gelişebilecek üremik komplikasyonların önlenmesidir (2).

Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatmakta olan hastalarda kritik tabloya % 5-20 oranında ABY eşlik etmekte ve sıklıkla "çoklu organ yetmezliği sendromunun" bir parçası olarak yer almaktadır. Mortalite oranı ise % 35-65 arasında değişmektedir (3).

Crush sendromu, travmanın yarattığı rabdomyoliz (çizgili kasın erimesi) ve buna bağlı gelişen cerrahi/medikal belirti ve bulguları içeren komplike bir tablodur. Rabdomyoliz, iskelet kası yapısının bozulması sonucu içeriğinde bulunan miyoglobin, hücre içi protein ve elektrolitlerin dolaşıma katılması sonucu oluşan bir sendromdur. Travmatik ve non-travmatik nedenlere bağlı olarak çizgili kas hücrelerinin hasara uğraması sonucu hücre içi elemanlar dolaşıma geçerek klinik ve laboratuvar bulgulara yol açmaktadır. ABY, rabdomyolizin önemli komplikasyonlarından biridir (4). Rabdomyoliz sonucu oluşan bu ABY'ye myoglobinürik akut böbrek yetersizliği (MABY) denir. Crush sendromunun oluşturduğu rabdomyoliz sonucu; ABY, kompartman sendromu, hipovolemik şok, hiperpotasemi, asidoz, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği ve infeksiyon meydana gelir (4, 5). Bu sendrom hastalıklara, yaralanmalara, ilaç tedavisi ve toksinlere bağlı oluşur (6).

Hipertonik gliserolün sıçanlara intramuskuler (İM) enjeksiyonu ile deneysel model MABY oluşturulmaktadır (7). Bu model insanlarda gelişen MABY'ye özdeş

olarak kabul edilmektedir (8). Deneysel ABY oluşturmak için yapılan çalışmalarda sıçanlara hipertonic gliserolün (% 50'lik hazırlanmış) İM olarak enjeksiyonunun miyoliz ve hemoliz oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir. Miyoliz ve hemoliz sonucu açığa çıkan demir içeren proteinler (miyoglobin ve hemoglobin) serbest radikal oluşumuna, nitrik oksit (NO) depolarının tükenmesine ve vazokonstriksiyon oluşumuna neden olmaktadır (9). Ayrıca açığa çıkan demir, serbest radikal oluşumuna, lipid peroksidasyonuna ve NO depolarında azalmaya sebep olur. Bu durum renal fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (7, 10, 11). Böbrekte oluşan fonksiyon bozuklukları, metabolik değişikliklere (metabolik asidoz ve hiperkalemi) neden olarak vücutta sıvı elektrolit dengesini bozarak farklı organ sistemlerini etkilemektedir (12).

Kefir, sütün kefir taneleri veya kültürü ile fermentasyonu sonucu oluşan bir üründür (13). Geleneksel kefirin tat ve aroması kefir tanesinin doğal starter kültürleri olan simbiyotik metabolik aktiviteye sahip çok sayıda bakteri ve mayadan kaynaklanır. Laktik asit fermentasyonu ve alkol fermentasyonu sonucu oluşan ürünler de (laktik asit, CO₂, etanol ve diğer tat veren ürünler) kefire özgü aromayı verirler (14). Vücut için gerekli ve besinler ile alınması gereken ekzojen yağ asitleri ve aminoasitleri de bileşiminde bulundurur. Biotin açısından da iyi bir kaynak olan kefir; folik asit, pantotenik asit ve B12 gibi diğer B vitaminlerinin de vücut tarafından emilişine yardımcı olmaktadır (15). Enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini stimüle etmesi kefir ve kefir yağında bulunan sfingomyelinler tarafından olduğu bildirilmektedir (15). Kefirde bulunan mikroorganizmaların temel fonksiyonu, laktik asit, antibiyotik ve antibakterisit üretimidir. Çoğu laktik asit bakterisinin oksijen radikallerini metabolize eden sistemleri vardır. Stecchini ve arkadaşları bu antioksidan sistemin en önemlisinin süperoksit dismutaz ve yüksek magnezyum⁺² içeriği olduğunu bildirmiştir (16). Ayrıca kefirin çok tüketildiği bölgelerde tüberküloz ve sindirim bozukluğu gibi hastalıkların daha az görüldüğü bildirilmiştir (13). Daha önce yapılan çalışmalarda kefirin hayvanlarda antibakteriyel, immunolojik ve antitümör etkilerinin olduğu gösterilmiştir (13, 17). Kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (15). Düzenli olarak günde yarım litre tüketiminin metabolizma üzerinde stabilize edici etkisinin yanında karaciğer; safra, böbrek fonksiyonları ve kan dolaşımı üzerine olumlu etkiler

gösterdiği tespit edilmiştir (15). Maeda ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kefir verilen ratlarda sistolik ve diyastolik kan basınçlarının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu ve anjiotensin dönüştürücü enzim düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bildirilmiştir (18). Yapılan başka bir çalışmada sepsis oluşturulan ratlarda kefir verilen grupta akciğer, karaciğer, dalak, kalın barsaklarda ve böbreklerde histopatolojik olarak daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (19).

Doğal ve sağlıklı beslenmenin güncelliğini koruduğu şu günlerde pek çok yararlı özelliği olduğu düşünülen ve pek çok hayvan deneyinde yararlı özellikleri gösterilen kefirin taradığımız literatür sonuçlarına göre böbrek fonksiyonları üzerine yapılmış az çalışma olduğunu gördük. Çalışmamızda rabdomyoliz ile ABY oluşturulan ratlarda bir antioksidan olan kefirin böbrek dokusu ve fonksiyonları üzerinde oluşan hasarı azaltıp azaltmadığını ve koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Akut Böbrek Yetmezliği

Akut böbrek yetmezliği, GFH'de ani azalma ve nitrojen atık ürünlerin (kan üre azotu ve kreatinin) birikmesi ile karakterize bir klinik sendromdur (1). ABY serum kreatinin konsantrasyonunda başlangıç noktasından 0,5 mg/dL veya daha fazla artış ya da hesaplanan kreatinin klirens değerinden % 50 düşüş ile açıklanmaktadır (1, 20). Saatler veya günler içinde gelişen GFH azalması ve artık ürünlerin birikimi ile böbrek işlevlerinde değişik düzeylerde bozulma ortaya çıkar (21). Ancak, ABY için evrensel bir tanım bulunamamıştır ve hâlâ tartışılan bir konudur (3).

Akut böbrek yetersizliği, sıklıkla belirtisizdir ve hastanede yatan hastaların rutin biyokimyasal tetkiklerinde, kan üre ve kreatinin düzeylerinde bir artış olmasıyla tanınır. Çoğu ABY, geri dönüşümlüdür. Bununla birlikte, yatan hastalarda, özellikle yaşlılarda, eşlik eden önemli diğer hastalık ve bozukluklar nedeniyle mortalite ve morbiditenin önemli sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (21, 22).

ABY'de idrar miktarı değişkendir. Total anüri nadirdir ve bu durumda akut kortikal nekrozdan şüphelenmelidir (23). Eşlik eden ciddi bir hastalık olmadığı takdirde, böbrek fonksiyonlarında düzelme gözlenebilir (21, 22). Sıklıkla oligüri (günde 400 ml'den daha az idrar) ve anüri (günde 50 ml'den az veya hiç idrar olmaması) ile birlikte, ancak nadiren de olsa idrar miktarında azalma olmayabilmektedir (nonoligurik ABY). ABY; kronik böbrek hastalığının önemli bir nedenidir. Kronik böbrek yetmezliğinin aksine, ABY' deki GFH düşüşü daha hızlıdır ve günler ile haftalar içinde gelişir (1, 23).

ABY bilindiği üzere çoklu organ yetmezliği ile ilişkilidir. Çoklu organ yetmezliği 2 ayrı yönden ele alınabilir.

1) İlk hasarın böbrekte meydana gelmesi (renal sebepler) ABY'ye neden olabilir. Meydana gelen ABY sonucu oluşan fizyolojik düzensizlikler daha sonra diğer organ fonksiyon bozukluklarına neden olarak çoklu organ yetmezliğine neden olur.

2) Herhangi bir organda meydana gelen hasar (örn. kardiyovasküler hastalıklar) fizyolojik düzensizliğe neden olarak renal disfonksiyona ve böylece ABY'ye, aynı zamanda diğer organ hasarlarına neden olabilir. Bu olay günümüzde organ "cross-talk" olarak adlandırılır (1, 3, 24).

ABY kritik hastalığı olanlarda önemli bir morbidite ve mortalite sebebidir. Son yıllarda bütün tedavilere ve gelişen destek sistemlerine rağmen, morbidite ve mortalitesi yüksek seyretmektedir (25, 26). ABY sıklığı, özellikle yaşlılarda giderek artmaktadır ve tüm hastane başvurularının yaklaşık % 1-5'inde, yoğun bakım hastalarının ise yaklaşık % 30'unda görülmektedir (3, 21).

ABY, oluşum nedenlerine göre üç grupta incelenir (Tablo 1):

Prerenal ABY (Prerenal Azotemi): GFH'da azalmaya bağlı meydana gelir. Serum kreatinin, kan üre konsantrasyonu yeniden düzelebilecek şekilde artmakta ve renal perfüzyon azalmaktadır (12).

İntrinsik ABY (Renal azotemi): İskemik ve nefrotoksik yaralanmalar sonucunda böbrek zarar görür, histopatolojik ve patofizyolojik değişiklikler oluşur. Böbreğin glomerül, tübül, damar, interstisyum gibi bölümlerinin etkilenmesiyle yapısal değişiklikler meydana gelir (12). Tedavi edilmeyen prerenal yetmezliği takiben tübüler hasar ve nekroz meydana gelir; bu da intrinsik ABY oluşumuna neden olur (27). İntrinsik ABY'nin en büyük nedeninin akut tübüler nekroz (ATN) olmasından dolayı sıklıkla ATN ile aynı anlamda kullanılmaktadır (12).

Postrenal ABY (Postrenal Azotemi): Üriner toplama sisteminde, tübül dışı ya da içi nedenlerle obstrüksiyon oluşumu sonucu meydana gelir (12).

Tablo 1. ABY nedenleri (28, 29)

I-Prerenal A-Efektif kan volümünde mutlak azalma	-Hemoraji -Ciltten kayıplar (Yanıklar, terleme) -Gastrointestinal kayıplar (Diare, kusma) -Renal kayıplar (Diüretikler, glukozüri) -Sıvı göllenmesi (Yanıklar, peritonitis)
B-Kan volümünde göreceli azalma	-Konjestif kalp yetmezliği -Disritmik ilaçlar -Sepsis -Anaflaksi
C-Arteriyel Oklüzyon	-Bilateral tromboembolizm -Soliter böbreğin tromboembolizmi -Aort veya renal arter anevrizması
II- Renal(İntrinsik) A-Vasküler	-Vaskülitler -Malign hipertansiyon -Eklampsi -Mikroanjiopati -Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar -Hiperkalsemi -İyotlu radyokontrast maddeler
B-Glomerüler	-Akut glomerülonefrit
C-Tübüler İskemi İntratübüler pigmentler İntratübüler proteinler İntratübüler kristaller	-Prerenal yetmezliğe yol açan tüm nedenler -Transplantasyon -Hemoglobinüri, myoglobinüri -Multiple myeloma -Ürik asid, oksalat, sülfonamidler
D-Tübülointerstisyel	-Nefrotoksinler -İlaçlar -Enfeksiyon -Radyasyon -Antibiyotikler (Aminoglikozidler, sefaloridin, amfoterisin-B) -Metaller (Civa, bizmut, uranyum, arsenik, gümüş, kadmiyum, demir) -Solventler (Karbontetraklorid, glikol, tetrakloretilen) -İyotlu radyokontrast maddeler -Streptozosin -Antineoplastik ajanlar (Sisplatin, ifosfamid)
III-Postrenal Üreter obstrüksiyon	-Bilateral veya soliter böbrekte taş -Tümör -Retroperitoneal fibrozis -İatrojenik nedenli üreter obstrüksiyonu
Üretra obstrüksiyonu	-Prostatitis

2.1.1. Prerenal Böbrek Yetmezliği

Pre-renal faktörler ABY nedenlerinin en büyük bölümünü, yaklaşık % 60-70'ini oluşturmaktadır. Pre-renal faktörlerin iyileştirilememesi durumunda pre-renal ABY, iskemik akut tübül nekroza neden olur. Düşen perfüzyon basıncı, afferent arteriyoller daralma, efferent arteriyoller genişleme, glomerüler hidrostatik basıncın düşmesine neden olur (28).

2.1.2. Renal (İntrinsek) Böbrek Yetmezliği

Renal ABY; nefronun glomerül, tübül, damarsal yapılarının ya da interstisyumun hasarlanması sonucunda gelişir (29). Çoğu intrinsik ABY ise ATN gelişimiyle sonuçlanan iskemiye veya nefrotoksinlere bağlı gelişir (29). Renal parankim hücrelerinin özellikle de tübül epitelin hipoperfüzyonu iskemik hasarlanmaya, sonuçta intrinsik ABY'ye neden olabilir. İskemik ABY en sık kardiyovasküler cerrahi, ciddi travma, hemoraji, sepsis ve/veya sıvı açığı sonrası görülür (21).

2.1.3. Postrenal Böbrek Yetmezliği

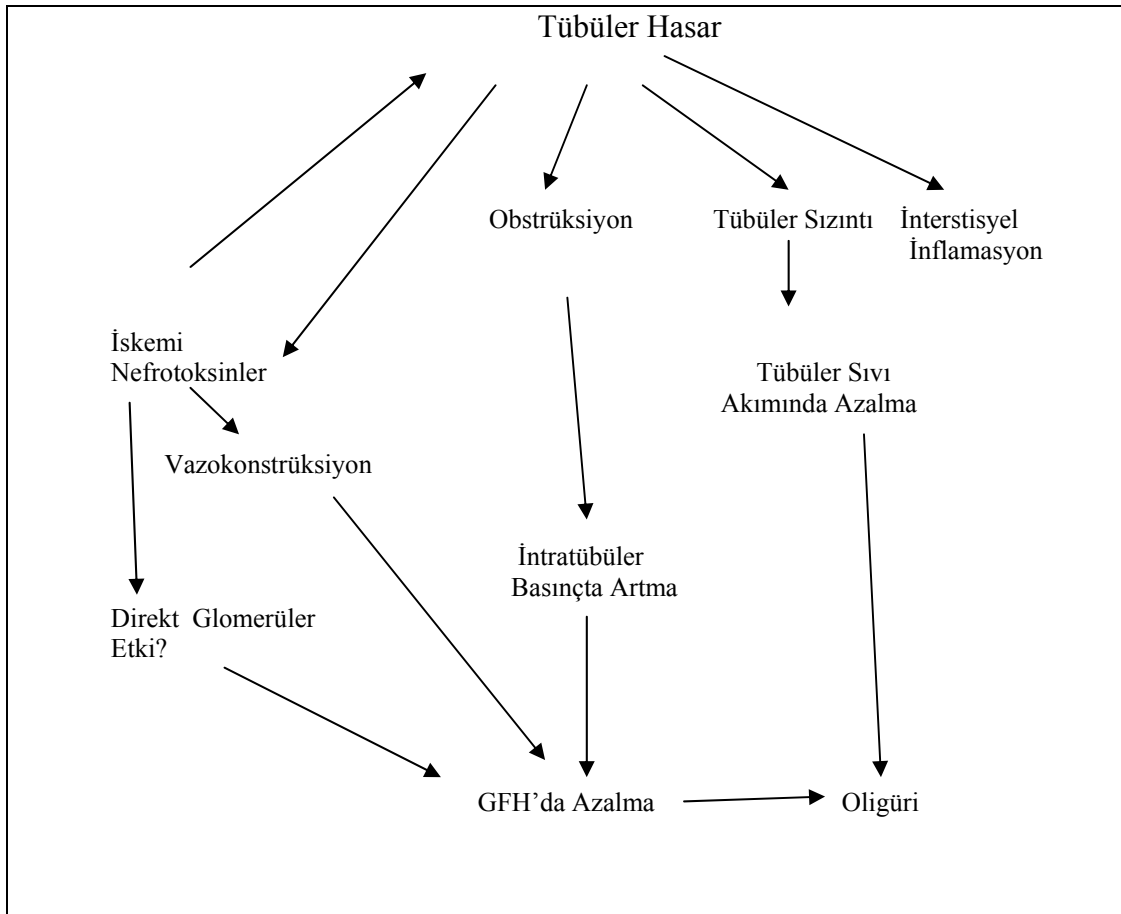
Akut böbrek yetersizliği'nin en az sıklıkta görülen formu olup, vakaların % 5-10'undan sorumludur. Postrenal azotemi gelişebilmesi için ya her iki böbreğin de idrar akımının engellenmesi ya da, işlev gören tek böbreğin idrar akımının obstrüksiyonu gerekmektedir (29). Postrenal ABY gelişimi için; dış üretral meatus ile mesane boynu arasında bir yerde tıkanıklık, bilateral üreterik tıkanıklık ya da çalışan tek böbrek olanlarda tek taraflı üreterik tıkanıklık olmalıdır (29).

2.1.4. Akut Tübül Nekroz

Tübül hasarı ön planda olup, en önemli 2 nedeni iskemi ve toksin maruziyetidir. İskemi, tübül hasara sıklıkla düşük perfüzyon durumlarında yol açarken, öncesinde hemen daima prerenal azotemi söz konusudur. İskemik ABY'de, hem yetersiz GFH, hem de parankim hücrelerinde yetersiz kanlanma vardır. Bu durum, genellikle, dehidratasyon, şok, sepsis gibi uzamış hipotansiyon ve hipoksemi hallerinde görülmektedir. Major cerrahi girişimlerde de, özellikle vazodilatasyona yol açan anestezi ajanlarla daha da artan uzamış hipotansif periyodlar görülebilir (30).

Eksojen nefrotoksinler, endojen nefrotoksinlere kıyasla çok daha sık bu tabloya neden olmaktadır. Eksojen nefrotoksinler, başlıca ilaçlar, radyolojik görüntüleme için kullanılan kontrast ajanlar, organik çözücüler ve ağır metallere oluşur. Altta yatan böbrek hastalığının olması, dehidratasyon varlığı ve ileri yaşta olmanın ATN gelişimine yatkınlaştırıcı etkenler olduğu bilinmektedir (31, 32).

Akut tübüler nekrozun fizyopatolojisinde vasküler düzensizlik, tübüler obstrüksiyon ve idrar geri sızıntısı yanında inflamasyonun, subletal hücre hasarı, apoptoz ve hasar sonrası hücre onarımı gibi faktörlerin de rol oynadığı belirlenmiştir. Tüm bunların karşılıklı etkileşimi GFH'da azalmayla sonuçlanır (33).



Şekil 1. ATN fizyopatolojisinde etkili faktörler (33).

Akut tübüler nekrozun önemli nedenlerinden biri olan rabdomiyoliz, iskelet kası yıkımı sonucunda kas hücre içeriklerinin hücre dışı sıvılara ve dolaşıma karışması ile oluşan tablodur (34-36).

Kas dokusunda crush hasarı ile kas hücre membranının (sarkolemma) bütünlüğü bozulur. Kas hücresi içerikleri hücre dışı sıvılara ve dolaşıma geçer. Bu

içerik miyoglobinin, kreatin fosfokinaz (CPK), aldolaz, laktat dehidrogenaz (LDH), serum glutamik-okzalasetik transaminaz ve potasyumdan oluşmaktadır (35, 37). Bu şekilde oluşan böbrek yetmezliği myoglobinürik böbrek yetmezliği olarak adlandırılmaktadır.

2.1.5. Myoglobinürik ABY

Rabdomiyoliz, iskelet kası yapısının bozulması sonucu içeriğinde bulunan miyoglobin, hücre içi protein ve elektrolitlerin dolaşıma katılması sonucu oluşmaktadır (6). Rabdomiyoliz farklı nedenlere bağlı olarak ve çok farklı alanlarda ortaya çıkabilmektedir. Buna bağlı olarak da (endojen- eksojen, herediter- edinsel gibi) çok farklı sınıflamaları yapılmıştır. Rabdomiyolizin nedene bağlı olarak sınıflandırılmasında ise travmatik ve travma dışı nedenler olarak iki grup mevcuttur (4, 38, 39). Rabdomiyoliz oluşmasıyla; ABY, kompartman sendromu, elektrolit bozukluğuna bağlı kardiyak disritmi, intravasküler koagülopati gibi bir takım komplikasyonlar meydana gelmektedir (6). Rabdomiyoliz sonrası oluşan böbrek yetmezliği myoglobinürik böbrek yetmezliğidir. MABY, travmatik ya da travma dışı nedenlerle iskelet kaslarının hasarı ve kas hücre içeriğinin dolaşıma geçmesi sonucu gelişen üremik bir sendromdur. Bu sendrom hastalıklara, yaralanmalara, ilaç tedavisi ve toksinlere bağlı meydana gelir (9).

Crush sendromu, travmanın yarattığı rabdomiyoliz (çizgili kasın erimesi) ve buna bağlı gelişen cerrahi/medikal belirti ve bulguları içeren komplike bir tablodur. Söz konusu bulgular; ABY, kompartman sendromu, gergin, ödemli, ağrılı kaslar, hipovolemik şok, hiperpotasemi, asidoz, kalp yetersizliği, solunum yetmezliği ve enfeksiyondur (4, 5). Crush sendromu özellikle savaş bölgelerinde, maden göçüklerinde, endüstriyel kazalarda, trafik kazalarında ve depremlerde görülür (40). Kas gruplarının baskı altında kalması sonucunda, kas hücrelerinin membranının geçirgenliği artar, böylece elektrokimyasal gradyanlara göre sodyum, klorür, su ve kalsiyum hücre içine; potasyum, pürinler, laktik asit ve diğer organik asitler, miyoglobin, tromboplastin, CPK ve kreatinin ise hücre dışına gider. Tüm bu değişimler hipovolemik şok, hiperpotasemi, asidoz, kalp yetmezliği, solunum yetmezliği, enfeksiyonlar ve ABY gelişimine neden olur (4, 41). Tüm bu sistemik

bulguların oluşumunun nedeni, travma sonucu hasar görmüş olan kaslardan dolaşıma geçen intraselüler maddelerdir (4).

Depremler neticesinde meydana gelen yaralanmaların yaklaşık olarak % 2-5'inde Crush sendromu gelişmektedir (42). Rabdomiyoliz ardından ABY gelişme riski % 4-100 arasında olup, ortalama % 30-50'dir (5).

Hipertonik gliserolün sıçanlara İM enjeksiyonu ile deneysel model MABY oluşturulmaktadır (7). Gliserol enjeksiyonu miyoliz ve hemoliz oluşumuna; hipovolemiye neden olmaktadır. Miyoliz ve hemoliz ardından hemoglobin ve miyoglobinin parçalanması ile açığa çıkan demir, serbest radikal oluşumuna, lipid peroksidasyonuna ve NO depolarında azalmaya sebep olur. Bu durum renal fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (10, 11, 43).

Sağlıklı bir insanda kaslar vücudun en büyük organıdır ve vücut ağırlığının yaklaşık % 40'ını oluştururlar. Ortalama vücut yapısında bir yetişkinde yaklaşık 30 kg kadar kas bulunur (44).

Miyoglobin molekülü, hemoglobin ile beraber demirce zengin proteinler grubunun birer üyesi olduklarından kısaca "hem proteinleri" olarak isimlendirilirler. Miyoglobin molekülünün kastaki görevi oksijeni taşımak ve artmış kas metabolizması için oksijen depolamaktır. Miyoglobinin yaklaşık % 50'si ile % 85'i plazma globulinlerine (haptoglobulin ve alfa-2 globulin) zayıf olarak bağlanır ve idrara çok az bir bölümü geçer. Miyoglobüri için renal eşik değer 1,5 mg/dl'dir. Serum miyoglobininin bu eşik değeri aşabilmesi için 100 gr kasın hasara uğraması gereklidir. Miyoglobinin yarılanma ömrü yaklaşık 3 saat olup, 6 saat içinde plazmadan kaybolarak bilirubine dönüşür. Böbrek yetmezliğinde miyoglobinin yarı ömrü uzar (4).

Crush sendromunda ortaya çıkan ABY'nin büyük çoğunluğu ATN'ye bağlıdır. MABY için 3 patolojik mekanizma söz konusudur:

- a) Direkt hem proteinlerinin oluşturduğu oksidatif stres,
- b) Tübüler obstrüksiyon ile intraluminal kast oluşumu,
- c) Renal vazokonstrüksiyondur (35, 45).

Normal serum miyogloblin düzeyi; 0-0,003 mg/dl arasındadır. Miyogloblinin yaklaşık % 50-85'i plazma globülinlerine (haptoglobin ve alfa-2 globülin) bağlı taşınır ve çok az bir kısmı idrarla atılır. Ancak rabdomiyoliz gelişimi ardından aşırı miktarda miyogloblin dolaşıma katılır ve plazmadaki serbest miyogloblin düzeyi artar (4, 46).

Küçük bir molekül olan ve glomerülden serbestçe filtre edilebilen miyogloblinin idrara geçme miktarı artar ve miyogloblinüri oluşur (4, 46). Aşırı miktarda serbest miyogloblinin glomerülden filtre edilmesiyle miyogloblinin tübüler konsantrasyonu artmaktadır. Miktarı artmış olan miyogloblin, Tamm-Horsfall proteinleri ile birleşerek distal tübülde çöküntü oluşumunu meydana getirir. Oluşan çöküntü hareketsizdir, tübüler tıkanmaya ve tübül içi basıncın artmasına neden olur. Ayrıca nekrotik epitel hücreleri de tübül lümeni içine düşerek tıkanmaya katkıda bulunur (10, 47).

Miyogloblinin moleküler yapısında bulunan porfirin halka hücre içinde metabolize edilir ve serbest demir açığa çıkar. Bu demir ferritin şeklinde depo edilir. Ancak rabdomiyoliz ardından yüksek miktarda demir açığa çıktığı için serbest demirin tamamı ferritine dönüştürülemez ve tübül hücrelerindeki serbest demir miktarı kritik düzeylere yükselir ve nefrotoksisiteye bağlı ATN oluşmasına neden olur. Oluşan nefrotoksisite tüm böbreği özellikle de proksimal tübülü etkiler (48).

2.1.6. Akut Böbrek Yetmezliğinin Tanısı

ABY'nin tanısındaki belirtilerden ilki serum kreatinin seviyesindeki artıştır. Aynı zamanda kan üre azotundaki artış da ABY semptomları arasında ilk dikkat edilmesi gereken unsurlar arasındadır. ABY tanısının konulmasında serum kreatinin seviyesindeki artışın izlenmesi BUN seviyesindeki artışın izlenmesinden daha iyi bir belirteçtir (1).

ABY gelişimini gösteren bir diğer semptom idrar atımında meydana gelen azalmadır. Oligüri varlığı veya anüri varlığı ABY varlığını gösteren belirtilerdir (49).

Hiperkalemi, asidemi, hipokalsemi, fosfat fazlalığı, magnezyum fazlalığı, anemi varlığını ortaya koyan laboratuvar testleri ile ayrıca değişen zihinsel durum, bulantı, iştahsızlık, perikardit gibi klinik bulgular da tanı için önemlidir (1). GFH ölçümü ya da kreatinin seviyelerinin ölçümü tanı için önemli olmakla birlikte bu metodun bazı sınırlamaları vardır. Örneğin; standardize edilmiş bir seviyenin olmaması, duyarlılığının ve belirleyiciliğinin az olması ve özellikle kritik hastalarda (yoğun bakım ünitesindeki hastalar) kreatinin seviyesinin sürekli değişmesi nedeniyle tanıda geç kalınmış olunması bu dezavantajlar arasında sayılabilir (49).

Akut böbrek yetersizliği tanısındaki en önemli faktörlerden biri, GFH'da düşme olmadan önce böbrekte meydana gelen hasarın saptanabilmesidir. Bu nedenle erken yetmezlik belirteçleri adı verilen biyobelirteçler kullanılmaktadır. Önerilen belirteçler arasında plazmada bulunanlar nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin ve sistatin C, idrarda bulunanlar ise nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, KIM-1, IL-18, alfa-1 mikroglobulin, fetuin-A, gro-alfa ve meprin sayılabilir. Özellikle böbrek hasar molekül-3 ve nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin seviyeleri böbrek hasarının oluşumundan 2 saat sonra, IL-18 seviyesi ise 12 saat sonra idrarda yükselir ve ABY'nin erken tespit edilmesini sağlar (50).

Bu belirteçlere verilebilecek bir diğer örnek ise Sistatin C'dir. Sistatin C'ye dayalı bulgular, serum kreatininin seviyesinde meydana gelen değişikliklerin monitorizasyonu ile karşılaştırıldığında 1- 2 gün daha önce ABY gelişimi riskinin belirlenmesini sağlamaktadır (51). Tüm bunlar ABY için risk, hasar, yetmezlik faktörlerinin genel bir sınıflandırmaya oturtulması gerekliliğini doğurmuştur ve bu amaçla RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss of Function, and End-stage) sınıflandırması ABY sendromunun kavramsal olarak anlaşılmasını sağlamış ve birçok klinik çalışma ile başarılı olduğu test edilmiştir (52).

2.1.7. RIFLE ve AKI Sınıflaması

Akut böbrek yetmezliğinin çok sayıda tanımının olması, tanı konmasını ve yoğun bakımlardaki insidansını belirlemede güçlük yaratmaktadır. Bundan yola çıkarak Acute Dialysis Quality Initiative grubunun oluşturduğu RIFLE sınıflaması ile ABY sendromu günümüzde RIFLE kriterleriyle daha da iyi tanımlanmıştır (Tablo 2) (52). RIFLE; 3 hasarlanma seviyesi (R: "risk", I: "injury", F: "failure") ve 2 de sonuç

(L: “loss”, E: “end-stage renal disease”) gösteren kısaltmalardan oluşur. RIF; serum kreatinin veya GFH ölçümlerine dayanır. Sonuçtan kasıt, hasarlanma sonrası böbreklerin son halidir.

Bu sınıflama birçok üst düzey çalışmada kullanılmış ve değeri ortaya konmuştur. Bu çalışmalara göre hasarlanma şiddeti ne kadar fazla ise hastanın sonuçta ulaştığı nokta da o kadar kötü olmaktadır (52).

Tablo 2. RIFLE kriterleri (SDBY: Son dönem böbrek yetmezliği, GFH: glomerüler filtrasyon hızı) (25, 52).

Kısaltma	GFH veya (kreatinin) serum kriteri	İdrar miktarı kriteri
R (Risk)	Kreatinin x 1,5	6 saattir, <0,5 ml/kg/saat
I (Injury: Hasar)	Kreatinin x 2	12 saattir, <0,5 ml/kg/saat 24 saattir, <0,3 ml/kg/saat
F (Failure: Yetersizlik)	Kreatinin x 3	veya 12 saattir anüri
L (Loss: Kayıp)	4 haftadır kalıcı böbrek yetmezliği olması	
E (End-stage renal disease: Son dönem böbrek yetmezliği)	3 aydan daha fazladır böbrek yetmezliği olması	

AKI (Acute Kidney Injury) böbrek fonksiyonlarında ani (48 saat) düşmeyi ifade eder. Bu düşüş için ölçüt olarak kreatinin kullanılır ise, mutlak değer olarak 0,3 mgr/dl veya daha fazla görelî artış veya serum kreatininde % 50 veya daha fazla (başlangıca göre 1,5 kat) artış varlığı aranır. İdrar miktarında düşme (6 saat boyunca 0,5 ml/kg daha az miktar) ölçüt olarak kullanılabilir. Serum kreatinin veya idrar ölçütlerinden biri sınıflama için yeterlidir. Renal replasman tedavisi uygulanan hastalar diğer ölçütlere bakılmaksızın Evre 3 olarak kabul edilir (Tablo 3) (54).

AKIN (Acute Kidney Injury Network)’ın yeni böbrek hasarı terminolojisinde, prerenal azotemi ve akut tübüler nekroz yerine, sıvı resüsitasyonuna yanıt veren veya yanıt vermeyen akut böbrek hasarı terimleri önerilmiştir. Bu terminolojinin kullanılması klinik ve araştırma açısından pek çok avantaj sağlayacaktır (54).

Tablo 3. AKI sınıflama/dereceleme sistemi

	Kreatinin değeri ölçütü	İdrar çıkışı ölçütü
Evre I	Kreatinin > 0,3 mgr/dl ya da 1,5- 2 kat artış	<0,5 ml/kg/saat >6 saat
Evre II	Kreatinin > 2- 3 kat artış	<0,5 ml/kg/saat >12 saat
Evre III	Kreatinin > 3 kat ya da > 4 mgr/dl üzerinde artış	<0,3 ml/kg/saat >24 saat veya anüri 12 saat

RIFLE ve AKIN sistemlerinin birbirleriyle kıyaslanması tablo 4’de verilmiştir. İki sistemde böbrek fonksiyonlarında zaman içerisinde gelişen bir bozulmaya odaklanmışlardır; halbuki yoğun bakım ünitesinde bu fonksiyonları zaman içerisinde düzelen hastalar olsa da, onların da akut böbrek hasarı yaşadıklarını kabul etmek gerekir (55).

RIFLE ve AKIN sınıflama sistemleri, oluşturulmalarının hemen ardından, akut böbrek hasarı konusunda epidemiyolojik, sağkalım ve erken tanı göstergelerine ilişkin araştırmalarda kullanılmışlardır (55).

Tablo 4. RIFLE ve AKIN sınıflamasının kıyaslanması

RIFLE SINIFLAMASI	AKIN SINIFLAMASI
<ul style="list-style-type: none"> • Risk, hasar (injury) ve yetersizlik (failure) • Akut böbrek hasarı sonrası dönem kayıp (loss) ve son dönem (end stage) olarak isimlendirilmiştir. • Kreatinin veya GFH değişiklikleri ve idrar miktarını kullanır. • Risk: Kreatininde 1,5 kat artış veya GFH’de > % 25 azalma • Renal replasman tedavisine başlanan hastalar için herhangi bir sınıf tanımlanmamıştır. • Akut böbrek hasarı için 1 haftalık zaman dilimi önerilmiştir. • Özellik belirtilmemiştir. 	<ul style="list-style-type: none"> • Evre I, II,III • Bu terimler kullanılmamıştır. • Evre I: Kreatininde 1,5 kat artış veya $\geq 0,3$ mgr/dl artış • Renal replasman tedavisine başlanan hastalar, idrar miktarı ve kreatinin değerinden bağımsız olarak evre III olarak sınıflanır. • Akut böbrek hasarı 48 saatlik bir dönem içerisindeki kreatinin değeri değişikliği ile konular. • Optimal hidrasyon sonrası değerlendirme yapılır.

2.2. Sistatinler

Sistatinler papain, katepsin B, H, ve L gibi sistein proteaz enzimleri içeren tüm bitkilerde, bakterilerde, virüslerde, protozoalarda ve memelilerde yaygın olarak bulunmaktadır (56, 57). Makrofajlardan epitele kadar tüm dokularda bu proteolitik süreç sürekli olarak dengede (Sistein proteaz / sistein proteaz inhibitörü) tutulmalıdır (57). Denge, proteolitik yöne kaydığında organizmada, kronik inflamasyon, kronik akciğer hasarı, tümör büyümesi ve erken ateroskleroz gibi geriye dönüşümü mümkün olmayan hasarlar oluşabildiği bildirilmektedir (56-58). Organizmada bu denge, sistein proteaz enzim düzenlemesinin son basamağında görev alan sistatin süper ailesi tarafından sağlanmaktadır (56). Memelilerde sistatin süper ailesi, vücut kompartman sıvıları dağılımına göre 3 ayrı ailede incelenmektedir (Tablo 5) (56, 58, 59).

Tablo 5. Sistatin süper ailesi (60-62)

Aile 1	Aile 2	Aile 3 (Kininojenler)
Sistatin A (Stafin A) Sistatin B (Stafin B)	- Sistatin C - Sistatin D - Sistatin E - Sistatin F - Sistatin S - Sistatin SN (Sistatin SU) - Sistatin SA	- Düşük molekül ağırlıklı kininojen - Yüksek molekül ağırlıklı kininojen - Fetuin (a2 glikoprotein)

Aile 1 üyeleri genel olarak intraselüler, Aile 2 üyeleri ekstraselüler, Aile 3 ise intravasküler dağılmıştır. Yapılan çalışmalarda;

Sistatin A: Epidermal hücrelerde ve polimorfonükleer lökositlerde bulunmuştur.

Sistatin B: Squamoz epitel hücrelerinde ve lenfositlerde bulunmuştur.

Sistatin C: Özellikle adrenal medüllada, pankreas adacıklarında, tiroid bezinde ve adenohipofizde yoğun olarak bulunmuştur. Ayrıca beyin kortikal nöronlarında da varlığı tespit edilmiştir. Sistatin C bütün dokularda ve biyolojik sıvılarda ölçülebilir miktarlardadır (63).

Sistatin S: Tükürük ve gözyaşı gibi temel sekresyonlarda bulunur.

Kininojenler: Plazmada, sinovyal sıvı ve amniyotik sıvıda bulunur (64).

Çeşitli biyolojik sıvılarda bir veya birden fazla tipte sistatin bulunduğu bilinmektedir (65). Pek çok bilim dalında sistatinler hakkında çalışmalar devam etmektedir. Sistatin C'nin yapısı, fizyolojisi ve farmakolojisi iyi bilinmektedir. Ayrıca fizyolojik sıvılarda kantitatif ölçümleri kolaylıkla yapılabilir. Sistatinlerin yeni özelliklerinin keşfi, özellikle nefroloji, nöroloji ve hematoloji-onkoloji hastalarında yeni tanı ve tedavi yaklaşımları imkanı sağlayacağı düşünülmektedir (67).

2.2.1. Sistatin C

2.2.1.1. Yapısı, Metabolizması ve Fonksiyonu

Sistatin C, 122 aminoasitli, 13 kDa ağırlığında non-glikolize polipeptidli bir sistein proteinaz inhibitörüdür. "Housekeeping gene" ürünü olup tüm çekirdekli hücrelerde sabit bir hızda üretilir. Düşük molekül ağırlığı ve bazik pH'sından (yaklaşık 9,0) dolayı glomerüllerden serbestçe süzülür, proksimal tübüllerden tamamına yakını geri emilerek tamamı katabolize edilir (68).

Sentezinden sorumlu gen 20. kromozom üzerindedir (57, 65). Beyin omurilik sıvısı, sinoviyal ve seminal sıvı başta olmak üzere, tüm vücut sıvılarında yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Ayrıca, glial, adrenal medulla, tiroid bezi, ön hipofiz bezi hücreleri ve pankreas A hücresi sitoplazmasında da bulunduğu gösterilmiştir (57). Sistemik dolaşımda sistatin C, sabit hızla üretilmekte ve elimine edilmektedir. Serum düzeyleri yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi ve inflamasyondan etkilenmediği kabul edilmektedir (57).

Sabit üretim hızı, glomerülden serbestçe süzülmesi, kreatininden farklı olarak vücut kas kitlesinden etkilenmemesi nedeniyle GFH'nin değerlendirilmesi için daha duyarlı bir parametredir. Sistatin C serum düzeyleri yaş ve cinsiyete bağlı olarak değişiklik göstermez (68, 69). Sistatin C'nin gün içerisinde belirgin bir diurnal ritmi yoktur (68).

$$GFH (m l / d k) = 74.835 / \text{Sistatin C}^{1/0.75} (mg/mL)$$

Düşük molekül ağırlıklı proteinlerin bir çoğunun serum konsantrasyonları GFH normal olmasına rağmen inflamatuvar, immunolojik ve neoplastik bozukluklarda artmaktadır. Sistatin C ise bu faktörlerden etkilenmez (57). Tablo 6’da Sistatin C ile Kreatinin / Kreatinin Klirensinin karşılaştırılmasını görmekteyiz (68, 70).

Tablo 6. Sistatin C ile kreatinin / kreatinin klirensinin karşılaştırılması (68, 70).

Kreatinin/ kreatinin klirensi	Sistatin C
Kreatinin konsantrasyonu; • Kas kitlesinden, • Vücut yüzey ölçümünden, • Alınan besinlerden etkilenir. • Tübüler sekresyonu vardır.	Serum konsantrasyonu sadece GFH'ye bağlıdır. • Kas kitlesinden, • Vücut yüzey ölçümünden, • Alınan besinlerden • İnflamatuvar olaylardan etkilenmez. • Tübüler sekresyonu yoktur.
Kreatinin tayininde yaygın olarak kullanılan Jaffe metodu bilirubin, sefalosporinler, aspirin, siklosporinden etkilenir.	"Particle-Enhanced Nephelometric Immunoassay" (PENIA) kullanılır. Jaffe metodunu interfere eden maddelerden etkilenmez.
GFH, 50 ml/dakikanın altına düştüğünde serum kreatinin artışı görülebilir,	GFH’ daki en küçük değişikliklere bile yüksek hassasiyet gösterir.
Serum ve 24 saatlik idrar toplanması gereklidir. Özellikle çocuklarda ve yaşlılarda 24 saatlik idrar toplanması önemli hatalara yol açar.	Sadece serum örneği yeterlidir. İdrar toplanmasına gerek yoktur
Sonuçlar, 24 saatlik idrar toplanması gerektiğinden en erken 24 saat sonra çıkar.	Dakikalar içinde sonuç alınabilir.

Serum örnekleri oda ısısında, buzdolabında ve - 20°C’de dondurucuda bir hafta saklanabilir. - 80°C’de saklandığında en az 6 ay stabil olduğu gösterilmiştir (71).

Sistatin C’nin bilinen tek atılım yolu böbreklerdir. Düşük molekül ağırlığı ve fizyolojik sıvılardaki katyonik yükü nedeni ile glomerüllerden serbestçe süzülür, tamamına yakını proksimal tübülüs hücrelerinden geri emilip dolaşıma ve tübülüslere geri verilmeden katalize edilir. Normalde idrar konsantrasyonu çok düşüktür (0, 03-0, 3 mg/L). Böbrek hastalıklarında serum düzeyleri artmaktadır. Sistatin C’nin serum düzeylerinin böbrek hastalıklarında diğer düşük molekül ağırlıklı proteinler ile birlikte artması, renal tübüler hücrelerinde katabolize olduğunu göstermektedir. Glomerülonefritte on kat, böbrek tübüler hastalıklarında ise daha fazla artmaktadır (72, 73).

Plebani ve arkadaşları tarafından sistatin C'nin fetoplasental bariyeri geçmediği kanıtlanmıştır (74). Dolayısı ile en yüksek düzeyleri doğumda saptanmaktadır. Doğumu izleyen haftalarda hızla düşüşe geçmekte, yaşamın 12. haftasına kadar düşmeye devam etmekte ve bir yaşından sonra sabit kalmaktadır (75-77). Bu süreç GFH maturasyon derecesi ile doğru orantılı olduğu kabul edilmektedir (73). Böbreklerin maturasyonunun tamamlanmasının ardından 50 yaşına kadar serum düzeyleri sabit kalmakta ve bir çok araştırmacıya göre serum sistatin C düzeyi cinsiyet, yaş, boy ve kas kitlesinden etkilenmediği kabul edilmektedir (76-80).

Günümüzde tüm kliniklerde GFH ölçümünde kolay, ucuz ve ulaşılabilir bir yöntem olan serum kreatinini kullanılmaktadır (72). Kreatinin, iskelet kasında bulunan kreatin ve fosfokreatinin bir metabolitidir. Bu nedenle üretimi kas kitlesi ile orantılıdır. Sabit bir oranda yapıldığı ve idrarla atıldığı kabul edilmektedir. Bireyin yaşı ilerledikçe kas kitlesinde artmalar ve azalmalar olacağından kreatinin değerleri yaşa göre bireysel farklılıklar gösterdiği bilinmektedir (81). Ayrıca serum kreatinini cinsiyet, enflamasyon, tübüler sekresyonu inhibe edebilen bazı ilaçlar (Simetidin, trimetoprim, primetamin ve dapson), fiziksel aktivite ve beslenme gibi faktörlerden de etkilenmektedir (81). Dolayısı ile GFH hesaplamasında kreatinin yetersiz kalabilmektedir. Bu amaçla son yıllarda GFH'nın kesin değerini veren, maliyeti düşük, hızlı ve klinikte pratik uygulama olanağı sağlayan yeni maddeler aranmıştır. Özellikle alfa1 mikroglobulin, beta 2 mikroglobülin, retinol bağlayıcı protein, sistatin C gibi birçok düşük molekül ağırlıklı endojen protein araştırılmış sistatin C dışında çoğunun böbrek dışı faktörlerden etkilendiği gösterilmiştir (82). Birçok araştırmacıya göre serum sistatin C'nin GFH düşüklüğü için duyarlılık ve özgüllüğü % 100'e yakın iken kreatinin ise % 50'den azdır (57).

Yapılan çalışmalarda kreatinin klirensinin 1,57 ml/sn'nin altındaki değerlerde, serum kreatinin düzeylerinde değişme olmadan serum sistatin C düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır. Dolayısı ile erken GFH hasarını göstermede sistatin C'nin kreatinin'den daha üstün olduğu kanıtlanmıştır ve günümüzde pek çok araştırmacı tarafında GFH göstergesi olarak kullanılmaya başlanmıştır (57). Özellikle yenidoğan bebeklerde, böbrek transplantasyonu sonrası hasta izleminde, kreatinin klirensinin yetersiz kaldığı karaciğer sirozu ve karaciğer nakilli hastalarda (kas kitlesinde azalma nedeni ile), preeklampatik kadınlarda, diyabetik hastalarda ve hafif

zincir hastalığında böbrek fonksiyonlarının izlenmesinde kreatinine göre tercih edilmesi önerilmekte iken, nefropatili ve anormal doku büyümesi veya tümörlü olan hastalarda önerilmemektedir (57).

2.2.1.2. Sistatin C Ölçüm Metodları

İlk sistatin C ölçümü immünoassay yoluyla Loffberg ve Grubb tarafından 1979 yılında gerçekleştirilmiştir. Sonrasında daha sensitif radiofloresans ve çeşitli enzim immünoassaylar geliştirilmiştir (65). Yakın zamanda ise otomatize edilmiş homojen immünoassaylerde kullanılan lateks veya polisitiren kaplı sistatin C spesifik antikoları geliştirilmiştir. Bunlar sistatin C ölçümü için 2 farklı yöntemde kullanılmaktadır: PETİA (Particle-Enhanced Turbidimetric İmmünoassay) ve PENİA (Particle-Enhanced Nephelometric İmmunoassay). Bu assayler daha önceki ölçüm metodlarına göre daha doğrudur ve referans değerleri daha tutarlıdır. Sistatin C 3 aydan küçük çocuk ve 70 yaşından büyük kişilerde daha yüksektir (57).

Serum sistatin C referans aralıkları (1):

- Erişkin : 0,48- 0,98 mg/L
- Erişkin (65 yaş üstü) : 0, 93- 3, 35 mg/L
- Çocuk (1- 16 yaş) : 0, 63- 1, 33 mg/L

2.3. Kefir

Ondokuzuncu yüzyılın sonlarında mikrobiyologlar sağlıklı bireylerin gastrointestinal sistem florasında hastalıklı bireylerden farklı bir mikroflora tanımlamışlardır. Gastrointestinal sistemde bulunan bu yararlı mikroflora probiyotik olarak adlandırılmıştır. Probiyotik kelime anlamı olarak "yaşam için" manasına gelmektedir (83). Özellikle son iki dekatta probiyotikler oldukça popüler olmuştur. Yapılan çeşitli çalışmalarda probiyotik kullanımının insan sağlığına olumlu etkileri olduğu, beslenme ve tedavi amaçlı kullanılabileceği bildirilmiştir (84, 85).

Kefir, sekizinci yüzyılın başlarından beri iyileştirici gücü ile bölgede ün salmış ve kefir taneleri nesilden nesile aktarılmıştır (86). Kefir kelimesinin "keyif veren, mest eden" manalarını taşıyan "keyf" kelimesinden türemiş olabileceği

sanılmaktadır. Kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran özelliği, kefir taneleri denen özelleşmiş ve biyolojik olarak canlı organizmalar olarak davranan yapılardan üretilir. Kefir taneleri 8- 10 mm çapında karnabahara benzeyen jelatinöz ve düzensiz partiküllerdir. Bu taneler büyür, çoğalır ve özelliklerini bir sonraki jenerasyona aktarırlar. Kefir tanelerinin mikroflorası oldukça stabildir. Eğer uygun kültürel ve fizyolojik koşullarda saklanırsa yıllarca aktivitelerini koruyabilirler. Günümüzde doğal kefir taneleri kullanılarak kefir yapılabildiği gibi, starter kültürler kullanılarak yapılan endüstriyel kefirler de piyasada mevcuttur (87).

Kendine has aroması ve hoş lezzetinin yanı sıra sağlık için pek çok yararlarının ve bazı hastalıklara karşı iyileştirici özelliklerinin olduğuna inanıldığından giderek büyük tüketici toplulukları tarafından aranan bir ürün haline gelmiştir (87). Geleneksel kefirin kendine özgü tat ve aroması kefir kültürü içinde bulunan değişik türde bakteri ve mayalardan kaynaklanmaktadır (14).

Probiyotik kullanımı ile gözlenen bu olumlu etkilerin içerdikleri laktik asit bakterilerine bağlı olduğu bildirilmiştir (88). Kefir, sütün kefir taneleri veya kültürü ile fermentasyonu sonucu oluşan bir üründür. Yaygın olarak kefir tanesinde bulunan mikroorganizmalar; laktik asit bakterileri (*Lactobacillus brevis*, *L.kefir*, *L.acidophilus*, *L.casei*, *L.caucasius*, *L.bulgaricus*), lökonostoklar (*Leuconostoc dextranicum*), asetik asit bakterileri (*Acetobacter aceti*, *A. rasesns*), mayalar (*Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspota delbrueckii*, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisia*), streptokoklar (*Streptococcus lactis*, *S.durans*, *S.cremoris*, *S.citrovorum*, *S.diacetylactis*), kazein ve polisakkaritler ile birlikte matriks biçiminde küme oluşturmaktadır (13, 48).

Kefirin muhtevasındaki yararlı mikroorganizmalardan dolayı dünyanın birçok bölgesinde patojenlerden kaynaklanan hastalıkların tedavisinde kullanıldığını bildirmiştir. Kefir kültürünün, probiyotik maya ve bakterilerin dengeli bir karışımı olduğu bildirilmiştir (14). Vücut için gerekli ve besinler ile alınması gereken ekzojen yağ asitleri ve aminoasitleri de bileşiminde bulundurur. Biotin açısından da iyi bir kaynak olan kefir; folik asit, pantotenik asit ve B12 gibi diğer B vitaminlerinin de vücut tarafından emilişine yardımcı olmaktadır (15). İçerdiği B vitaminleri böbrek, karaciğer ve sinir sisteminin işleyişinde; kalsiyum ve magnezyum sağlıklı bir sinir sisteminin işleyişinde; fosfor vücudun karbonhidrat, yağ, protein ve enerji

metabolizmalarında; esansiyel bir aminoasit olan triptofan da sinir sistemi üzerine rahatlatıcı etki göstermede önemli rol oynamaktadır (15). Kalıtsal yüksek beslenme değerinin yanı sıra protein ve kalsiyum kaynağı olan kefir diyet olarak önem verilen ülkelerde sağlık açısından iyi olarak tanımlanan uzun süreli bir geleneksel içecek özelliğine sahiptir (17). Düzenli olarak günde yarım litre tüketiminin metabolizma üzerinde stabilize edici etkisinin yanında karaciğer; safra, böbrek fonksiyonları ve kan dolaşımı üzerine olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (15, 89). Enfeksiyonlara karşı bağışıklık sistemini stimüle etmesi kefir ve kefir yağında bulunan sfingomyelinler tarafından olduğu bildirilmektedir (15).

Kefirde bulunan mikroorganizmaların temel fonksiyonu, laktik asit, antibiyotik ve antibakterisit üretimidir. Daha önce yapılan çalışmalarda kefirin hayvanlarda antibakteriyel, immünolojik ve anti-tümör etkilerinin olduğu gösterilmiştir (17). Ayrıca kefirin çok tüketildiği bölgelerde tüberküloz ve sindirim bozukluğu gibi hastalıkların daha az görüldüğü bildirilmiştir. Bunlarla birlikte kefirin hayvanlarda anti-tümör, immunstimulan etkileri ve lipit peroksidasyonunu azaltan anti-oksidan aktivitesi, anti-diyabetik, anti-bakteriyel ve anti-fungal etkilerinin olduğu bildirilmiştir (13).

Çoğu laktik asit bakterlerinin oksijen radikallerini metabolize eden sistemleri vardır. Stecchini ve arkadaşları bu anti-oksidan sistemin en önemlisinin superoksit dismutaz (SOD) ve yüksek magnezyum içeriği olduğunu bildirmiştir (16). Knauf ve arkadaşları 1992'de bazı laktobasil türlerinin yüksek oranda heme bağımlı katalaz sentezlediği ve serbest peroksi radikallerinin oluşumunu önlediğini göstermiştir (90).

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, çiftleşmemiş elektrona sahip kimyasal ürünlerdir. Canlılarda en önemli serbest radikaller, oksijenin radikal türevleridir. Serbest oksijen radikal reaksiyonları, normal metabolik yolların işleyişinin doğal bir sonucudur. Bunlar organizmanın yabancı maddelere ve enfeksiyöz ajanlara karşı mücadelesinde önemli rol oynamaktadırlar. Serbest radikallerin üretimi artarsa ve antioksidan sistemler ile arasındaki denge bozulursa, vücudun temel yapı elemanları olan

proteinlerin, lipitlerin, nükleik asitlerin ve enzimlerin yapılarını ve fonksiyonlarını bozabilmektedirler (91-93).

Serbest oksijen radikallerin tahrip edici etkilerine karşı organizmada geliştirilmiş olan güçlü doğal savunma sistemleri vardır ve bunlar serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı ile sonuçlanan reaksiyonları önlemektedir. Hücrelerin korunmasına yönelik olan bu olay, normal koşullarda yeterli miktarda koruyucu enzim ve kimyasal bileşiklerin sentezlenmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır (91, 92). Organizmada, sistemi etkileyen çeşitli preoksidatif faktörler ile bunları dengelemek amacıyla oluşan antioksidatif sistem arasında bir denge bulunmaktadır. Biyolojik sistemlerde, normalin üzerinde bir oksidatif stres olduğu zaman, organizma bu duruma uyum sağlayacak şekilde yanıt vermektedir. Oksidatif stresin boyutlarının fazla olması veya yanıtın yetersiz kalması durumunda ise oksidatif hasar oluşmaktadır ve bu da proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin oksidasyona uğraması ve buna bağlı olarak da hücre membranı başta olmak üzere çeşitli hücre elemanlarında oksidatif harabiyet meydana gelmektedir (91, 94). Yüzden fazla hastalık serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir (94).

2.4.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir. Cu^{++} / Fe^{++} ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe^{+++} 'in Fe^{++} 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (95, 96).

Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı, beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır.

Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve Crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta, ayrıca hemoglobin ve immün sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (94).

2.4.2. Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Antioksidanlarla ilgili bilimsel makaleler incelendiğinde farklı araştırmacılar tarafından antioksidan kapasiteyi tanımlamak için farklı terimlerin kullanıldığı görülür. Karşılaşılabilecek terimler total antioksidan “kapasite” veya “etkinlik”, “güç”, “parametre”, “potansiyel”, “potens” ve “aktivite” dir. Tek bir analiz yöntemi ile ölçülen “antioksidan aktivite” o yöntemde uygulanan spesifik koşullardaki kimyasal reaktiviteyi yansıttığından verileri “total antioksidan aktivitenin” göstergesi olarak genellemek uygun olmayabilir ve yanıltıcıdır. Bu nedenle “aktivite” terimi yerine farklı deneylerde elde edilen sonuçları “kapasite” olarak sunmak önerilmektedir (97).

2.4.3. Total Oksidan Seviye - Total Antioksidan Kapasite- Oksidatif Stres İndeksi

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelebilir. Bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda, oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan / antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100’den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (94).

2.4.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur (98).

Prensip

Fe^{+2} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük

pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumuna neden olmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir (98).

2.4.5. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

Prensip

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir (99).

2.4.6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidant Seviye (TOS) / Total Anatioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanır (99).

Birimi Trolox equivalent/L (99).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesinde Deneysel Araştırma Merkezi, Biyokimya ve Histoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimince 3209-TU2 NO'LU proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışma için; Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan (Ek - 1) onay alındı.

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada SDÜ Deney Hayvanları Laboratuvarından 10 - 12 haftalık yaklaşık 200-250 gr ağırlığında 36 dişi rat temin edildi. Hayvanlar deney süresince standart nem, ışık (12 saat gün ışığı/12 saat karanlık) ve ısı koşullarında (23 °C) bulunduruldu ve standart rat yemi ve su ile beslendi.

Kefirin böbrek yetmezliğinde etkinliğini göstermek için yaptığımız çalışmada rastgele örnekleme metodu ile 36 rat 4 tanesi ön çalışma grubu olmak üzere geri kalan 32 tanesi 8'er adet olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

3.2. Kefirin Hazırlanması

Kefir SDÜ DANEM'den (Danem süt ve süt ürünleri, SDÜ, Isparta) günlük olarak temin edildi.

3.3. Kullanılan Malzeme ve Aletler

1. Soğutmalı santrifüj Eppendorf MR 5415 (Almanya)
2. Derin dondurucu Facis (Fransa)
3. Hassas terazi Scaltec (İsviçre)
4. Vorteks (karıştırıcı) Nüve NM 100 (Türkiye)
5. Otomatik pipetler Gilson (Fransa), Eppendorf
6. Homojenizatör Ultra Turrax T25 (Almanya)
7. Sonikatör UW- 2070 Bandeun Electronic (Almanya)
8. Otoanalizör Beckman Coulter AU5800 (ABD)

9. Organon Teknika Microwell ELİSA Okuyucu
10. Bio-tek ELX50 Otomatik Yıkayıcı

3.4. Kullanılan Kimyasallar

1. Gliserol (Sigma, USA)
2. Fosfat tamponu (pH 7,0)
3. Formaldehit solüsyonu
4. Alkol
5. Parafin
6. Ksilol
7. Hemotoksilen-eozin

3.5. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması ve Deneyin Yapılması

Çalışmamızda ratlar rastgele 5 gruba ayrıldı. İlk grup 4 adet rattan oluşacak şekilde ön çalışma grubu olarak belirlendi. Geri kalan 32 rat ise her grupta 8 rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Tüm ratların deney öncesi (Kilo 0) ve deney sonrası kiloları (Kilo 1) tartılarak kaydedildi.

Grup 0. Ön çalışma grubu (n:4)

Grup I. Kontrol grubu (n:8)

Grup II. Rabdomiyoliz grubu (n:8)

Grup III. Kefir grubu (n:8)

Grup IV. Kefir+Rabdomiyoliz grubu (n:8)

Ön çalışma grubu; (n:4)

Ön çalışma için rastgele seçilen 4 rat 2 gruba ayrıldı. 1. grupta bulunan 2 adet rat arka bacak kas dokusuna 9 ml/kg şeklinde % 50 lik gliserol her bir bacağa 1 ml i.m. uygulandı.

2. gruptaki 2 rata arka bacak kas dokusuna 4,5 ml/kg dozunda % 50 lik gliserol her bir bacağa 1 ml i.m. uygulandı.

1. ve 2. gruptan rastgele seçilen 1'er rata rabdomyoliz oluşturulmadan 1 saat önce 1,5 mg/kg dozunda morfin (0,4 ml) s.c. olarak uygulandı. Diğer iki rata ise 0,4 ml SF s.c. uygulandı.

Ön çalışmanın yaklaşık 24 saat sonrasında anestezi altında orta hat laparotomi ile batin açılarak abdominal aortadan rabdomyoliz olduğunu göstermek için kan alındı. Alınan kanlar biyokimya tüpüne koyularak santrifüj edildikten sonra LDH, CPK, BUN, kreatinin bakıldı.

Ön çalışmada ratlara gliserol verildikten sonra Eroğlu ve arkadaşlarının (100) belirttiği şekilde klinik bulgulara göre ağrı değerlendirmesi yapıldı. Buna göre ratlarda yürüyememe kıvrınma, tremor, ses değişikliği gözlenmesi üzerine ratlara gliserol enjeksiyonu sonrası ağrıları olması üzerine çalışma gruplarında morfin uygulanmasına karar verildi. Ön çalışma sonuçlarına göre 9 ml/kg gliserol verilen gruplarda rabdomyoliz olduğu gözlemlendikten sonra çalışma grupları bu gliserol dozu ile planlandı. Her gruba rastgele 8'er rat seçilerek 4 çalışma grubu oluşturuldu.

Kontrol grubu (grup I, n: 8)

Ratlar standart rat yemi ve su ile beslenirken gavaj ile 2x1 ml SF ile 30 gün beslenmeye devam edildi. 31. günde ratlara 0,4 ml SF subkutan olarak uygulandıktan yaklaşık 1 saat sonra ratların 2 arka bacak kas dokusuna 1'er ml SF i.m. olarak uygulandı.

Rabdomyoliz grubu (grup II, n: 8)

Ratlar standart rat yemi ve su ile beslenirken gavaj ile 2x1 ml SF ile 30 gün beslenmeye devam edildi. 31. günde ratlara 1,5 mg/kg dozunda morfin (yaklaşık 0,4 ml) s.c. olarak uygulandıktan 1 saat sonra ratların iki arka bacak kas dokusuna rabdomyoliz oluşturmak için 9 ml/kg % 50 lik hazırlanmış gliserol her bacağına 1 ml olacak şekilde uygulandı.

Kefir grubu (grup III n: 8)

Ratlar standart rat yemi ve su ile beslenirken gavaj ile 2x1 ml kefir (4 - 8 ml/kg/gün) ile 30 gün beslenmeye devam edildi. 31. günde ratlara 0,4 ml SF s.c. olarak uygulandıktan yaklaşık 1 saat sonra ratların 2 arka bacak kas dokusuna 1'er ml SF i.m. olarak uygulandı.

Kefir + rabdomiyoliz grubu (grup IV n:8)

Ratlar standart rat yemi ve su ile beslenirken gavaj ile 2x1 ml kefir (4 - 8 ml/kg/gün) ile 30 gün beslenmeye devam edildi. 31. günde ratlara 1,5 mg/kg dozunda morfin (yaklaşık 0,4 ml) sc olarak uygulandıktan 1 saat sonra ratların iki arka bacak kas dokusuna rabdomiyoliz oluşturmak için 9 ml/kg % 50 lik hazırlanmış gliserol her bacağa 1 ml olacak şekilde uygulandı.

3.6. Biyokimyasal Analiz Yöntemleri

Otuzbirinci gün ratlar intraperitoneal ketamin 80 mg/kg + Ksilazin 10 mg/kg uygulanarak anestezileri sağlandı. Ratların anestezisi altında olduklarına emin olunduktan sonra orta hat insizyonla batınları açıldı, abdominal aortadan kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 5000 devirde sekiz dakika santifürj edildi. Ayrılan serum örnekleri - 80 derecede saklandı. Abdominal aortadan alınan kan örnekleri daha sonra çalışıldı. Böbrek fonksiyonlarını ve rabdomiyolizi değerlendirmek için Üre, BUN, Kreatinin, CPK / LDH ticari kitleri kullanılarak Beckman Coulter AU 5800 (ABD) marka otoanalizör kullanılarak ölçüldü. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek için Sistatin C (Biovendar Çek Cumhuriyeti) rat spesifik kitler kullanılarak ELİSA ile çalışıldı.

3.7. Böbreklerin Çıkarılması ve Böbrek Dokusundan Çalışılan Testler

Steril şartlarda ratların böbrekleri çıkarıldı. Çıkarılan böbrekler serum fizyolojik ile yıkandı. Sağ böbrek histopatolojik incelemeler, sol böbrek biyokimyasal analizler için kullanıldı. Böbreğin oksidan ve antioksidan aktivitesini değerlendirmek için fosfat tamponuna koyulan böbrek dokusu biyokimya laboratuvarında homojenize edilen örneklerin süpernatantlarında mikroprotein düzeyleri Beckman Coulter AU 5800 (ABD) otoanalizörde spektrofotometrik olarak çalışıldı. Elde edilen süpernatantlarda Rel Assay Diagnostics Assay kitleri ve Beckman Coulter AU 5800 (ABD) otoanalizörü ile spektrofotometrik yöntem ile TAK (Total antioksidan kapasite), TOS (Total oksidan seviye) rat spesifik kitler

kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar mikroprotein düzeyine bölünerek hesaplandı. TAK ve TOS Erel'in geliştirdiği yöntem kullanılarak ölçüldü.

3.8. Histopatolojik Analiz Yöntemleri

Doku takip çalışmaları

Nötral formaldehit solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanarak tespit edilen dokular, çeşme suyu altında bir gece süren yıkama işleminden sonra sırasıyla aşağıdaki işlemlerden geçirildi.

A) Dehidratasyon

Dokular dereceli alkollerde aşağıda belirtilen sürelerde bekletildi.

Alkol derecesi Süre

% 50'de 1 saat

% 70'te 1 saat

% 80'de 1 saat

% 90'da 1 saat

% 96'da 1 saat

% 100'de 1 gece

B) Şeffaflaştırma

Ksilolde 5 - 15 dk

C) Emdirme

Ksilol ve parafinde (60 °C etüvde) 15 dakika

Yumuşak parafinde (60 °C etüvde) 1 saat

Sert parafinde(60 °C etüvde) 4 saat

D) Gömme

Sert parafin kullanılarak dokular bloklandı. Hazırlanan parafin bloklardan kızıaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

Histolojik değerlendirme için preparatlar hematoksilen - eozin ile (rutin boyama yöntemiyle) boyandı.

Olympus BX50 tipi binoküler ışık mikroskopunda (x100, x200, x400 büyütmede) incelendi ve fotoğraflar değerlendirildi. Deęerlendirilmede hasar belirlemek için skortlama sistemi uygulandı. Bu skortlama sistemine göre kortikal proksimal tübüler segmentteki nekroze olmuş hücrelerin oranına göre řu şekilde değerlendirildi:

SKOR 0 : Nekrotik hücre yok

SKOR 1 : % 10'un altında nekrotik hücre mevcut

SKOR 2 : % 10-% 25 oranında nekrotik hücre mevcut

SKOR 3 : % 25-% 50 oranında nekrotik hücre mevcut

SKOR 4 : % 50'nin üzerinde nekrotik hücre mevcut

3.9. İstatistiksel Analiz

Dört grubun biyokimyasal olarak karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Anlamlılık için suni değer olarak $p < 0,05$ alındı. Anlamlılık saptandığı durumda gruplar arası karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanıldı. Bonferroni düzeltmesi yapıldığı durumda anlamlılık için $p < 0,01$ kullanıldı.

4. BULGULAR

Rabdomiyoliz grubu (Grup II) ile kefir + rabdomiyoliz grubundan (Grup IV) 3'er adet rat biyokimyasal olarak nefropati gösterilemediği için çalışmadan çıkarıldı.

Tablo 7. Ratların kilo özellikleri

	Grup I (n=8)	Grup II (n=5)	Grup III (n=8)	Grup IV (n=5)	P değeri
Kilo 0 (mg)	238,12±13,87	223,8±20,29	230,87±21,0	221,40±20,85	0,273
Kilo 1(mg)	234,0±14,16	208,2±20,87	226,5±26,3	206,20±19,69	0,036

Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Ratların ilk ölçülen kiloları (kilo0) arasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Ratların 30 günlük beslenme sonrası gruplar arasında ölçülen kiloları arasında anlamlı fark tespit edildi ($p<0,05$).

Tablo 8. Ratların böbrek fonksiyon testleri.

	Grup I (n=8)	Grup II (n=5)	Grup III (n=8)	Grup IV (n=5)	P değeri
Üre (mg/dl)	49,76±6,53	191,58±85,35	51,21±6,78	181,42±77,11	0,000
BUN (mg/dl)	23,12±2,99	89,6±39,99	24,0±3,25	84,8±36,14	0,000
Kreatinin (mg/dl)	0,46±0,03	1,83±0,89	0,45±0,04	1,75±0,80	0,000
Sistatin C (mg/L)	1,56±0,32	5,42±3,04	1,32±0,56	4,26±2,18	0,000

BUN: Kan üre azotu. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Ratların Üre, BUN, Kreatinin, Sistatin C değerleri arasında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,05$).

Tablo 9. Ratların böbrekteki TAK ve TOS düzeyleri

	Grup I (n=8)	Grup II (n=5)	Grup III (n=8)	Grup IV (n=5)	P değeri
TAK (Trolox equivalent/L)	2,50±0,19	2,34±0,19	2,70±0,63	2,37±0,38	0,495
TOS (Trolox equivalent/L)	87,04±8,38	101,31±22,81	79,97±10,33	139,56±49,97	0,023

TAS: Total antioksidan status TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Ratların TAK değerleri açısından tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

TOS değerleri karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0,05$).

Tablo 10. Ratların LDH ve CPK düzeyleri

	Grup I (n=8)	Grup II (n=5)	Grup III (n=8)	Grup IV (n=5)	P değeri
LDH (U/L)	465±245	1456±1143,46	124,25±67,75	1147,80±1076,60	0,001
CPK (U/L)	215,25±127,08	525,20±540,30	137,50±172,35	249,60±178,55	0,031

CPK: Kreatinin kinaz LAD: Laktat dehidrogenaz. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Ratların LDH ve CPK değerleri arasında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı ($p<0,05$).

Tablo 11. Grup I ve Grup II'nin karşılaştırılması

	Grup I (n=8)	Grup II (n=5)	P değeri
Kilo1 (mg)	234,0±14,16	208,2±20,87	0,028
Üre (mg/dl)	49,76±6,53	191,58±85,35	0,003
BUN (mg/dl)	23,12±2,99	89,6±39,99	0,003
Kreatinin (mg/dl)	0,46±0,03	1,83±0,89	0,003
Sistatin C (mg/L)	1,56±0,32	5,42±3,04	0,003
LDH (U/L)	465±245	1456±1143,46	0,013
CPK (U/L)	215,25±127,08	525,20±540,30	0,143
TAK (Trolox equivalent/L)	2,50±0,19	2,34±0,19	0,142
TOS (Trolox equivalent/L)	87,04±8,38	101,31±22,81	0,143

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Kontrol grubu (Grup I, n:8) ve Rabdomiyoliz grubu (Grup II, n:5) arasında Üre, Bun, Kreatinin, Sistatin C değerleri arasında anlamlı fark vardı ($p<0,01$). LDH,

CPK, TAK, TOS, Kilo 0 ve Kilo 1 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,01$).

Tablo 12 . Grup I ve Grup III'ün karşılaştırılması

	Grup I(n=8)	Grup III(n=8)	P değeri
Kilo1 (mg)	234,0±14,16	226,5±26,3	0,208
Üre (mg/dl)	49,76±6,53	51,21±6,78	0,529
BUN (mg/dl)	23,12±2,99	24,0±3,25	0,561
Kreatinin (mg/dl)	0,46±0,03	0,45±0,04	0,561
Sistatin C (mg/L)	1,56±0,32	1,32±0,56	0,294
LDH (U/L)	465±245	124,25±67,75	0,012
CPK (U/L)	215,25±127,08	137,50±172,35	0,660
TAK (Trolox equivalent/L)	2,50±0,19	2,70±0,63	0,674
TOS (Trolox equivalent/L)	87,04±8,38	79,97±10,33	0,141

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Kontrol Grubu (Grup I, n:8) ve Kefir Grubu (Grup III, n:8) arasında Üre, Bun, Kreatinin, LDH, CPK, Sistatin C, TAK, TOS, Kilo 0, Kilo 1 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,01$).

Tablo 13. Grup I ve Grup IV'ün karşılaştırılması

	Grup I (n=8)	Grup IV (n=5)	P değeri
Kilo1 (mg)	234,0±14,16	206,20±19,69	0,019
Üre (mg/dl)	49,76±6,53	181,42±77,11	0,003
BUN (mg/dl)	23,12±2,99	84,8±36,14	0,003
Kreatinin (mg/dl)	0,46±0,03	1,75±0,80	0,003
Sistatin C (mg/L)	1,56±0,32	4,26±2,18	0,107
LDH (U/L)	465±245	1147,80±1076,60	0,884
CPK (U/L)	215,25±127,08	249,60±178,55	0,003
TAK (Trolox equivalent/L)	2,50±0,19	2,37±0,38	0,379
TOS (Trolox equivalent/L)	87,04±8,38	139,56±49,97	0,057

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir. LDH

Kontrol grubu (Grup I, n: 8) ve Kefir + Rabdomiyoliz grubu (Grup IV, n: 5) arasında Üre, Bun, Creatinin, Sistatin C arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,01$). LDH, CPK, TAK, TOS, Kilo 0 ve Kilo 1 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,01$).

Tablo 14. Grup II ve grup III'ün karşılaştırılması

	Grup II (n=5)	Grup III (n=8)	P değeri
Kilo 1 (mg)	208.2±20.87	226.5±26.3	0.107
Üre (mg/dl)	191,58±85.35	51.21±6.78	0.003
BUN (mg/dl)	89.6±39.99	24.0±3.25	0.003
Kreatinin (mg/dl)	1.83±0.89	0.45±0.04	0.003
Sistatin C (mg/L)	5.42±3.04	1.32±0.56	0.003
LDH (U/L)	1456±1143.46	124.25±67.75	0.003
CPK (U/L)	525.20±540.30	137.50±172.35	0.019
TAK (Trolox equivalent/L)	2.34±0.19	2.70±0.63	0.241
TOS (Trolox equivalent/L)	101.31±22.81	79.97±10.33	0.04

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Rabdomiyoliz grubu (Grup II, n:5) ve Kefir grubu (Grup III, n:8) arasında Üre, Bun, Creatinin, Sistatin C, LDH arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,01$). CPK, TAK, TOS, Kilo 0 ve Kilo 1 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,01$).

Tablo 15. Grup II ve Grup IV'ün karşılaştırılması

	Grup II (n=5)	Grup IV (n=5)	P değeri
Kilo 1 (mg)	208.2±20.87	206.20±19.69	0.917
Üre (mg/dl)	191,58±85.35	181.42±77.11	0.917
BUN (mg/dl)	89.6±39.99	84.8±36.14	1.000
Kreatinin (mg/dl)	1.83±0.89	1.75±0.80	0.754
Sistatin C (mg/L)	5.42±3.04	4.26±2.18	0.530
LDH (U/L)	1456±1143.46	1147.80±1076.60	0.602
CPK (U/L)	525.20±540.30	249.60±178.55	0.251
TAK (Trolox equivalent/L)	2.34±0.19	2.37±0.38	0.753
TOS (Trolox equivalent/L)	101.31±22.81	139.56±49.97	0.251

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Rabdomiyoliz grubu (Grup II, n: 5) ve Kefir + Rabdomiyoliz grubu (Grup IV, n:5) arasında Üre, Bun, Kreatinin, LDH, CPK, Sistatin C, TAK, TOS, Kilo 0, Kilo 1 açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,01$).

Tablo 16. Grup III ve Grup IV'ün karşılaştırılması

	Grup III (n=8)	Grup IV (n=5)	P değeri
Kilo1 (mg)	226.5±26.3	206.20±19.69	0.186
Üre (mg/dl)	51.21±6.78	181.42±77.11	0.003
BUN (mg/dl)	24.0±3.25	84.8±36.14	0.003
Kreatinin (mg/dl)	0.45±0.04	1.75±0.80	0.003
Sistatin C (mg/L)	1.32±0.56	4.26±2.18	0.005
LDH (U/L)	124.25±67.75	1147.80±1076,60	0.005
CPK (U/L)	137.50±172.35	249.60±178.55	0.464
TAK (Troloxequivalent/L)	2.70±0.63	2.37±0.38	0.464
TOS (Troloxequivalent/L)	79.97±10.33	139.56±49.97	0.019

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye. Değerler Ortalama±Standart Sapma veya sayı olarak verilmiştir.

Kefir grubu (Grup III, n:8) ve Kefir + Rabdomiyoliz Grubu (Grup IV, n: 5) arasında Üre, Bun, Creatinin, Sistatin C, LDH arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. ($p<0,01$). CPK, TAK, TOS, Kilo 0 ve Kilo 1 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,01$).

Tablo 17. Grupların karşılaştırılması

	Üre (mg/dl)	BUN (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	LDH (U/L)	CPK (U/L)	Sistatin C (mg/L)	TOS (Trolox equivalent/L)	Kilo I (mg)
1-2	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p>0.01	p>0.01	p<0.01	p>0.01	p>0.01
1-3	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01
1-4	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p>0.01	p>0.01	p<0.01	p>0.01	p>0.01
2-3	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p>0.01	p<0.01	p>0.01	p>0.01
2-4	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01	p>0.01
3-4	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p>0.01	p<0.01	p>0.01	p>0.01

BUN: Kan üre azotu CPK: Kreatinin Kinaz LDH: Laktat dehidrogenaz TAK: Total antioksidan kapasite TOS: Total oksidan seviye.

Histolojik Bulgular

Kontrol grubu ile deney grubuna ait böbrek doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler Abdel-Wahhab ve arkadaşlarının (101) yapmış oldukları derecelendirmeye göre değerlendirildi. Gruplar arasında gözlenen değişikliklerin 'p' değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Kontrol grubu (Grup I) ve kefir verilen (Grup III) ratlardaki böbrek doku kesitlerinin histolojik incelenmesinde, normal histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Rabdomiyoliz oluşturulan deney grubu (Grup II) ratlarının, böbrek dokuları incelendiğinde kontrol grubuna göre vasküler konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonları, tübüler dilatasyon, tübüler epitelial hücrelerde hidropik dejenerasyon gibi patolojik bulgular gözlemlendi. Rabdomiyolizden sonra kefir verilen (Grup IV) ratların böbrek dokularındaki patolojik bulgularda iyileşme gözlemlendi ($p < 0,05$). Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirilmesi skorlandı.

- (negatif skor): Hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

+ (1 pozitif skor): Hafif derecede,

++ (2 pozitif skor): Orta derecede,

+++ (3 pozitif skor): Ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir.

Tablo 18. Grupların histolojik karşılaştırılması

Gruplar	İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	Vasküler Konjesyon	Tübüler Dilatasyon	Tübüler Epitelial Hücrelerde Dejenerasyon
GRUP I	-	-	-	-
GRUP II	+++	+++	+++	+++
GRUP III	-	-	-	-
GRUP IV	+	+	+	+
I-II	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$
I-III	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P > 0,05$	$P > 0,05$
I-IV	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$
II-III	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$
II-IV	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$
III-IV	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	$P < 0,05$

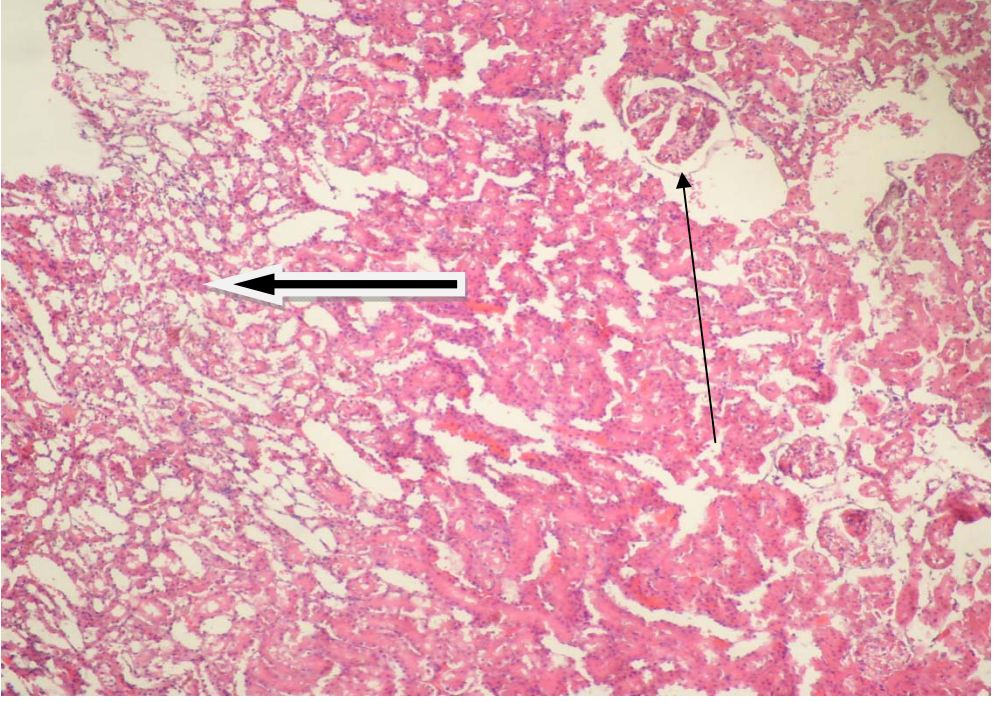
$p < 0,05$ (anlamlı fark vardır).

I. Grup: kontrol

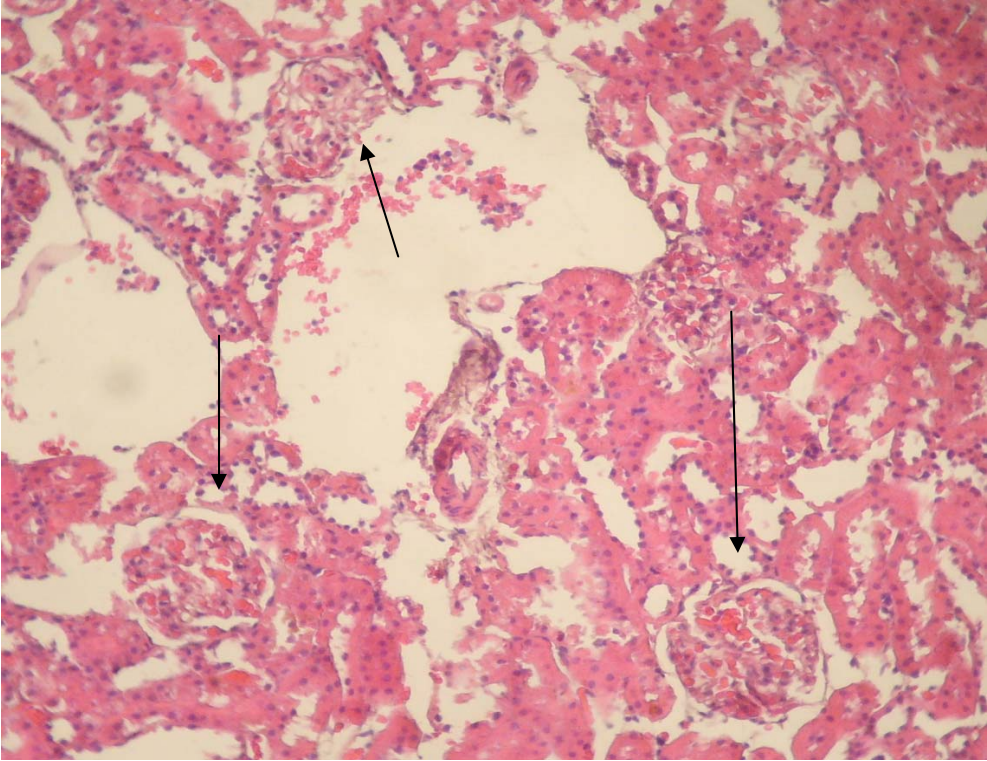
II. Grup: rabdomiyoliz

III. Grup: kefir

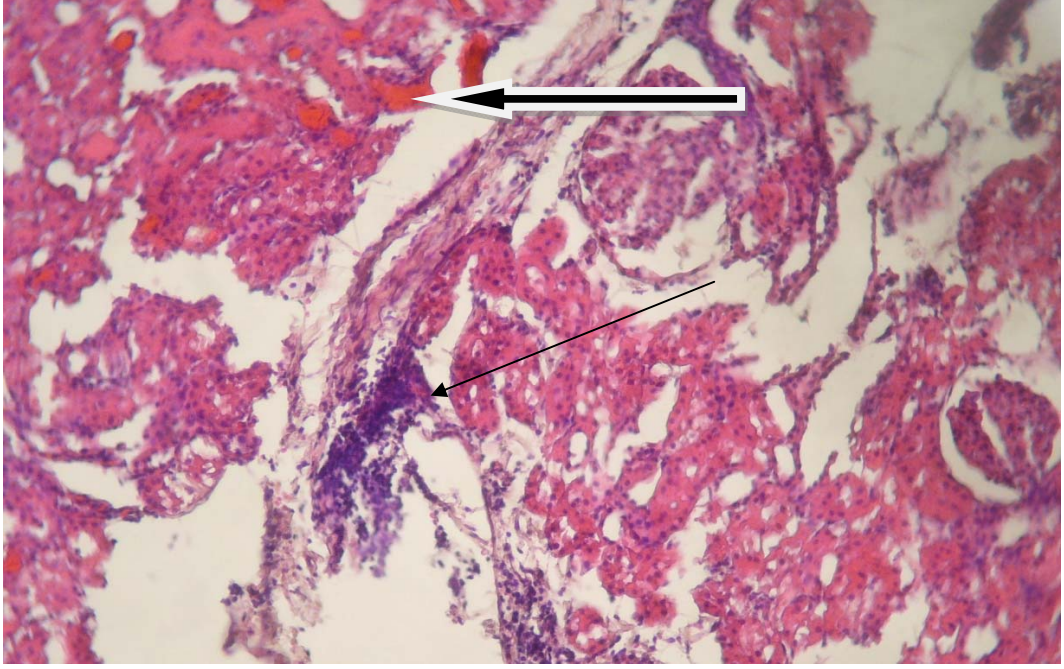
IV. Grup: kefir + rabdomiyoliz



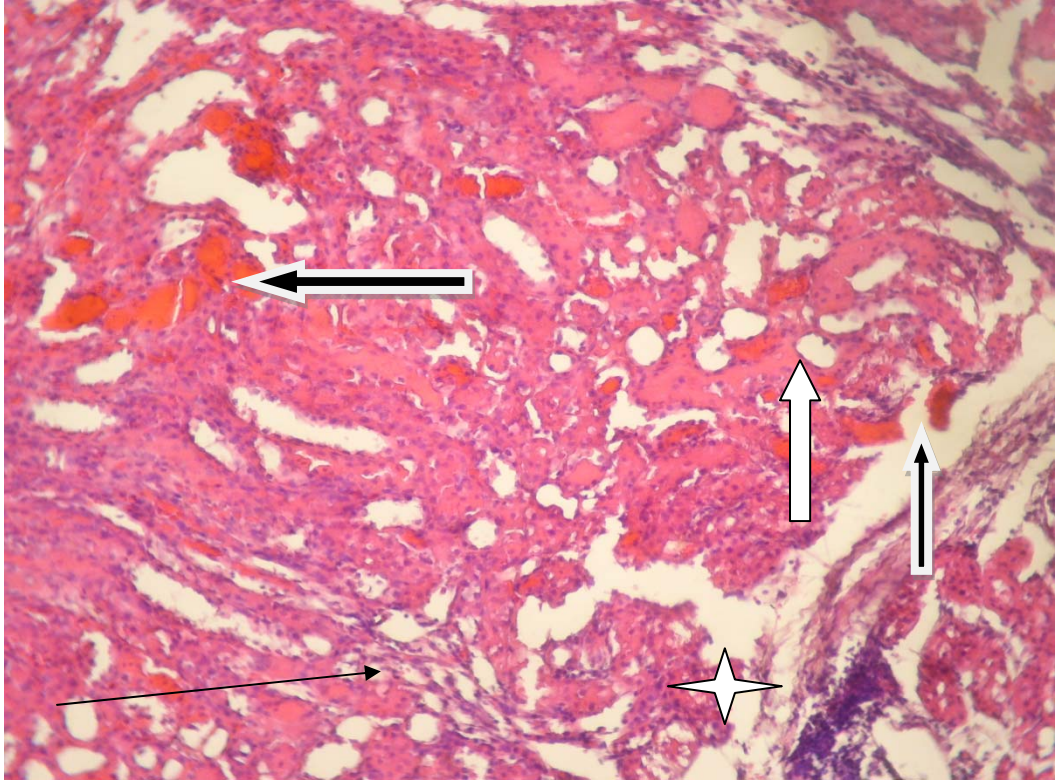
Şekil 2. Grup I'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Böbrek cisimciği (ince ok), tübüller (kalın ok), (Hemotoksilen-Eozin, x10).



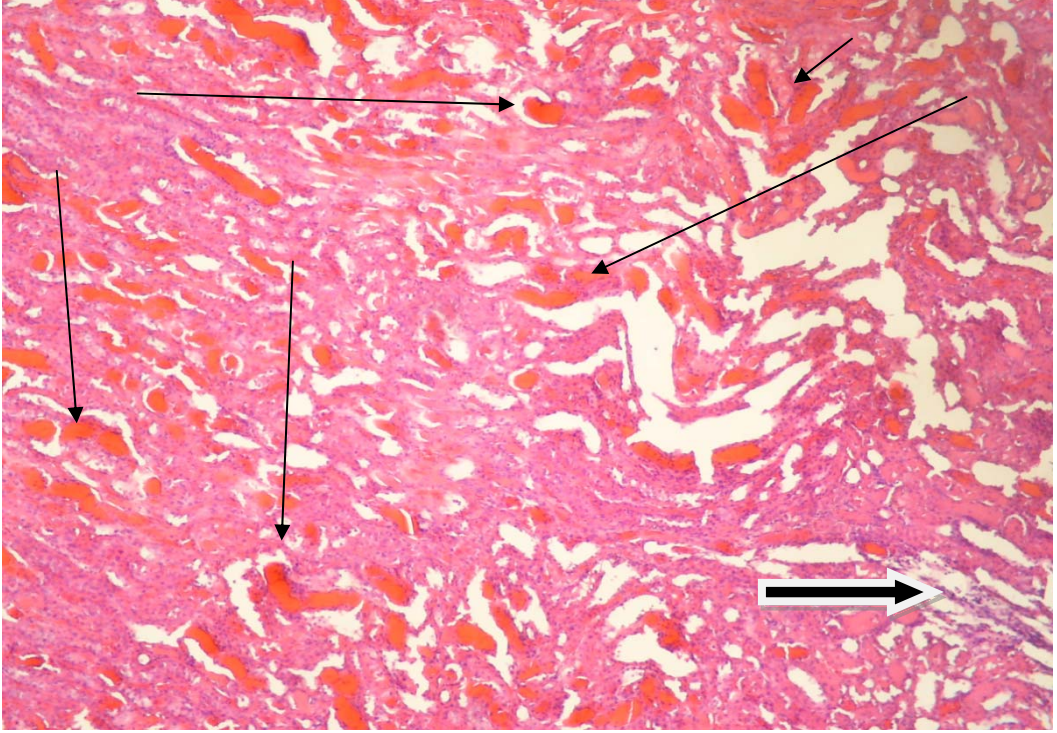
Şekil 3. Grup I'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Böbrek cisimciği (ok), (Hemotoksilen-Eozin, x20).



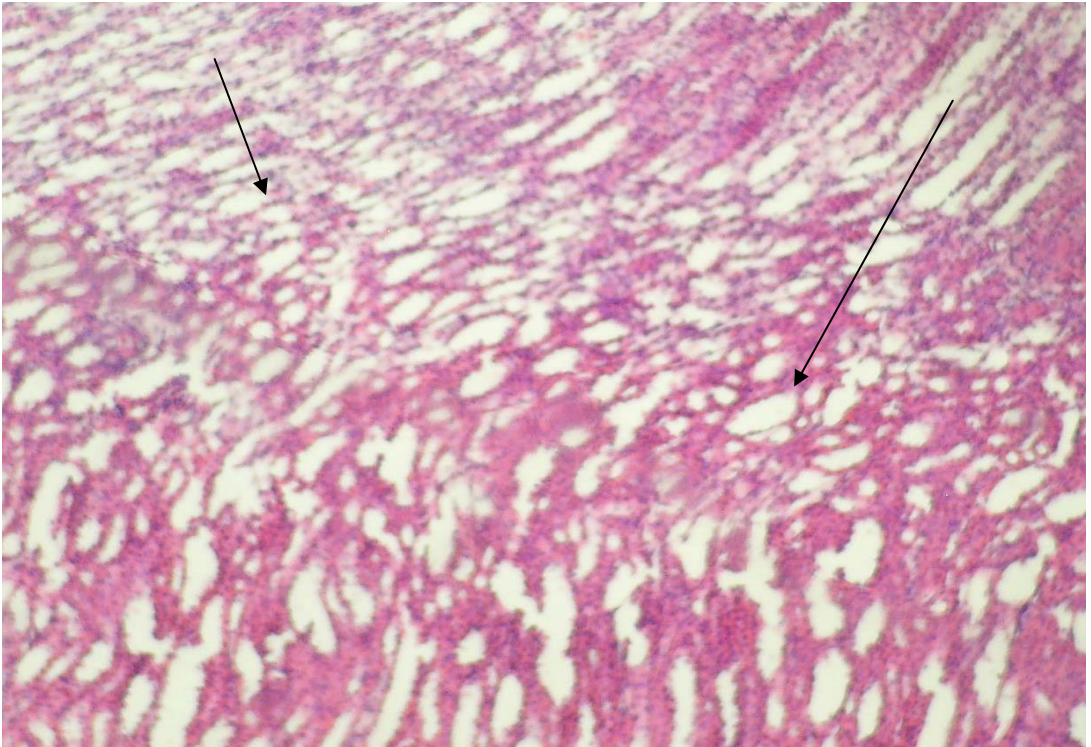
Şekil 4. Grup II'ye ait böbrek kesiti. İnflamatuar hücre infiltrasyonu (ince ok), vasküler konjesiyon (kalın ok), (Hemotoksilen-Eozin, x20).



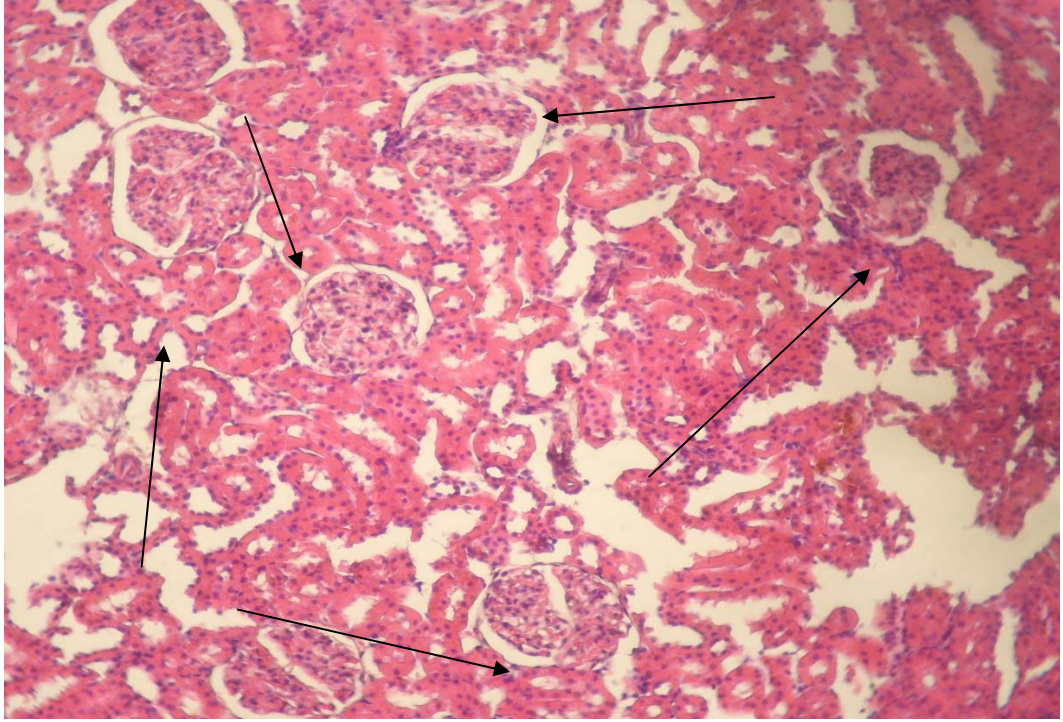
Şekil 5. Grup II'ye ait böbrek kesiti. İnflamatuar hücre infiltrasyonu (yıldız), tübüler epitelyal hücrelerde hidropik dejenerasyon (ince siyah ok), tübüler dilatasyon (beyaz ok), vasküler konjesyon (kalın siyah ok), (Hemotoksilen-Eozin, x20).



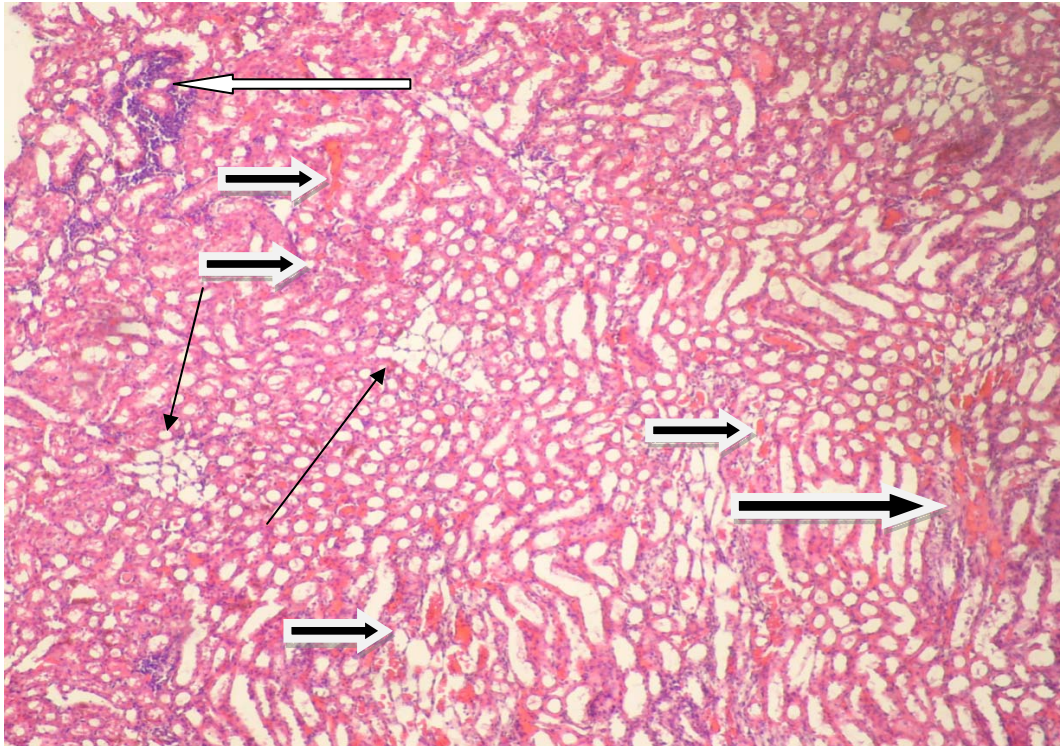
Şekil 6. Grup II'ye ait böbrek kesiti. Tübüler dilatasyon (kalın ok), vasküler konjesyon (ince oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x20).



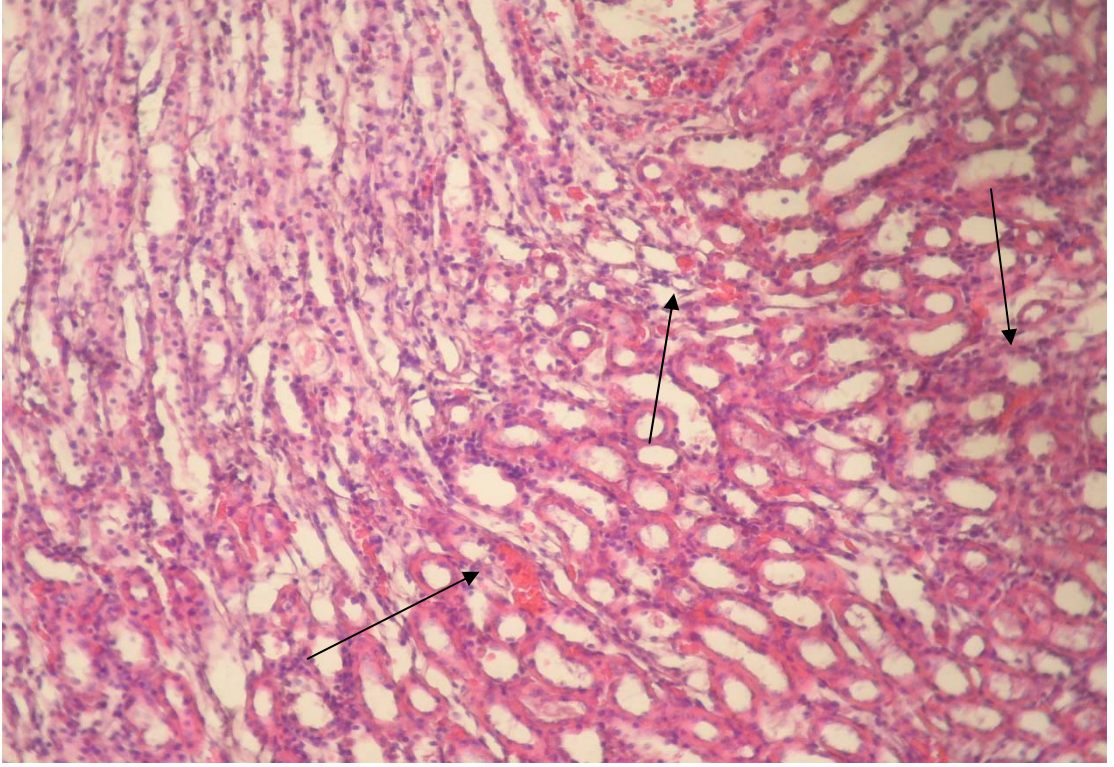
Şekil 7. Grup III'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Medulla bölgesi, toplayıcı tübüller (oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x10).



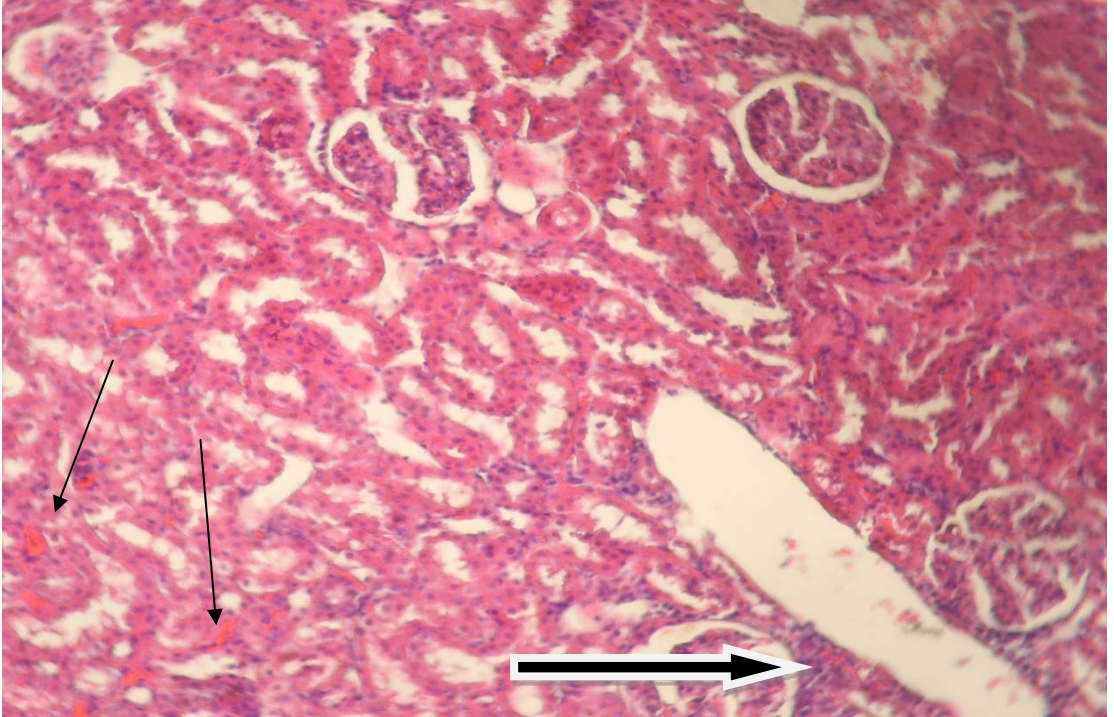
Şekil 8. Grup III'e ait böbrek kesiti. Normal histolojik bulgular. Böbrek cisimciği (oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x20).



Şekil 9. Grup IV'e ait böbrek kesiti. İnflamatuar hücre infiltrasyonu (beyaz ok), tübüler epitelyal hücrelerde hidropik dejenerasyon (ince siyah oklar), vasküler konjesyon (siyah kalın oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x10).



Şekil 10. Grup IV'e ait böbrek kesiti. Vasküler konjesyon (oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x10).



Şekil 11. Grup IV'e ait böbrek kesiti. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu (kalın ok), vasküler konjesyon (ince oklar), (Hemotoksilen-Eozin, x20).

5. TARTIŞMA

Rabdomiyoliz ile ABY oluşturulan ratlarda, rabdomiyoliz öncesi 30 günlük kefir verilmesinin histopatolojik olarak böbrek dokusunda koruyucu olduğunu gözlemledik.

Akut böbrek yetmezliği böbrek fonksiyonlarının ani olarak bozulması sonucu sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin yeterince sağlanamaması, kan basıncının iyi regüle edilememesi ve nitrojen yıkım ürünlerinin vücuttan atılamaması ile karakterize bir klinik sendromdur. Yoğun bakımlarda sıklığı artmakla birlikte tedavi alanında sağlanan çeşitli gelişmelere rağmen, hastalığın mortalite ve morbidite oranları hala yüksektir. ABY oluşum nedenlerine göre prerenal, renal, postrenal olmak üzere üç grupta incelenir. Prerenal ABY, GFH'da azalmaya bağlı meydana gelir. Serum kreatinin, kan üre konsantrasyonu yeniden düzelebilecek şekilde artmakta ve renal perfüzyon azalmaktadır. İntrinsik ABY, iskemik ve nefrotoksik yaralanmalar sonucunda böbrek zarar görür, histopatolojik ve patofizyolojik değişiklikler oluşur. Böbreğin glomerül, tübül, damar, interstisyum gibi bölümlerinin etkilenmesiyle yapısal değişiklikler meydana gelir. Postrenal ABY, üriner toplama sisteminde, tübül dışı ya da içi nedenlerle obstrüksiyon oluşumu sonucu meydana gelir. ABY etyolojisinde belirlenmiş birçok neden bulunmaktadır. Tedavideki amaç nedene yönelik ve hedef etkeni uzaklaştırmaya yönelik olmalıdır. ABY ile birlikte görülebilen hipoksi, hipotansiyon, sepsis ve dehidratasyon uygun şekilde tedavi edilmelidir (1, 102).

Rabdomiyoliz, iskelet kası yapısının bozulması sonucu içeriğinde bulunan, miyoglobin, hücre içi protein ve elektrolitlerin dolaşıma katılması sonucu oluşan sendromdur. Bu sendrom hastalıklara, yaralanmalara, ilaç tedavisi ve toksinlere bağlı meydana gelir. Rabdomiyoliz oluşumu; ABY, kompartman sendromu, elektrolit bozukluğuna bağlı kardiyak disritmi, intravasküler koagülopati gibi bir takım komplikasyonlara neden olmaktadır (37). Rabdomiyoliz ardından ABY gelişme riski % 4-100 arasında olup, ortalama % 30- 50'dir. Rabdomiyoliz sonrası oluşan ABY'ye MABY denir. MABY, travmatik ya da travma dışı nedenlerle iskelet kaslarının hasarı ve kas hücre içeriğinin dolaşıma geçmesi sonucu gelişen üremik bir sendromdur. Kaslardan salınarak dolaşıma geçen miyoglobin, "hem" içeren ve

ATN'ye en sık neden olan nefrotoksindir. Nekrotik kas hücrelerinden salınan büyük miktardaki miyoglobin glomerüllerden serbestçe filtre olur ve renal tübüllerden reabsorbe olarak direkt hasara yol açar. Pigment ayrıca, distal renal tübüler obstrüksiyon ile hasar oluşturabilir. Travmatik kas yıkımı ilk defa Messina depremi sonrasında Alman VonColmers tarafından tanımlanmıştır (42). Rabdomiyoliz genelde sağlıklı bireylerde travma, aşırı fiziksel aktivite, epileptik nöbetler, alkol ve başka ilaç alımları, enfeksiyonlar sonrası da görülebilir. MABY sadece miyoglobin varlığında, hipovolemi ile renal hipoperfüzyon ve asidoz durumlarında ortaya çıkar (34).

Crush sendromu, travmanın yarattığı rabdomiyoliz (çizgili kasın erimesi) ve buna bağlı gelişen cerrahi/medikal belirti ve bulguları içeren komplike bir tablodur. Bu bulgular; ABY, kompartman sendromu, hipovolemik şok, hiperpotasemi, asidoz, kalp yetersizliği; solunum yetmezliği ve infeksiyondur (4, 5). Crush sendromu ilk defa Londra'nın bombalanması sırasında Bywaters ve Beall tarafından travmaya maruz kalmış geniş kapsamlı kas hasarı bulunan hastalarda tanımlanmıştır (38, 42). 1941 yılında Bywaters ve Beall iskelet kası ezilme hasarı (Crush) ile ATN birlikteliğini ortaya koymuşlardır (103). Sever, Marmara Depremi'nde ABY ile komplike olmuş Crush sendromlu hastalarda genel mortalitenin % 15, 2 oranında olduğunu bildirmiştir (4). Bir deprem ülkesi olan Türkiye'de kas yıkımına bağlı böbrek yetmezliği özellikle Marmara Depremi sonrası görülmüştür. Ron ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada göçük altından 1- 28 saat içinde 7 vakanın (18-41 yaş) çıkarıldığını ve bunların hepsinde ciddi rabdomiyoliz ve aşırı 'crush' yaraları olduğu bildirilmiş hemen tedaviye başlanan bu hastalarda böbrek yetmezliği gelişmemesinin nedenini ise erken ve doğru tedavi edilmesi olduğu düşünülmüştür (104).

Akut böbrek hasarının tanısında genellikle serum kreatinini kullanılır. Kreatinin böbrek fonksiyonlarındaki akut kötüleşmeyi göstermede zayıf bir belirteçtir. Serum kreatinin değerleri; vücut ağırlığı, ırk, yaş, cinsiyet, total vücut volümü, ilaçlar, kas metabolizması ve protein alımı gibi böbrek dışı birçok faktörden etkilenir. Ancak bir sistein proteaz inhibitörü olan sistatin C yaş, cinsiyet kas kitlesinden etkilenmemesi, glomerüllerden serbestçe filtre olması ve tübüler sekresyonu olmadan, proksimal tübül hücrelerinden tamamıyla reabsorbe ve

katabolize edilmesi nedeniyle glomerül filtrasyon hızındaki değişimleri göstermede serum kreatinin seviyelerine göre çok daha hassastır. Ayrıca kreatinin değerleri böbrek hasarının arkasından gecikmeli olarak yükselir (48- 72 saat sonra). Yapılan çalışmalarda renal fonksiyonlardaki azalmaların erkenden tespitinde serum sistatin C düzeylerinin ölçülmesi, serum kreatinin düzeyi gibi konvansiyonel tekniklere göre daha üstün bulunmuştur (57, 64). Biz de rabdomiyolize bağlı ABY' de hem hasarın şiddetini hemde kefirin böbrek fonksiyonları üzerine etkinliğini göstermek için BUN, Kreatinin, ÜRE yanında sistatin C'yi kullandık. Bunun nedeni Sistatin C'nin BUN ve Kreatinin değerlerine göre kanda daha erken tespit edilmesidir. Fakat biz çalışmamızda Sistatin C' nin BUN ve Kreatinin'e üstünlüğünü gösteremedik.

Kefir, sütün kefir taneleri veya kültürü ile fermentasyonu sonucu oluşan bir üründür. Kefir, sekizinci yüzyılın başlarından beri iyileştirici gücü nedeniyle nesilden nesile aktarılmıştır. Kefir kültürünün, probiyotik maya ve bakterilerin dengeli bir karışımı olduğu bildirilmiştir. Kefirin içerdiği yararlı mikroorganizmalardan dolayı dünyanın birçok bölgesinde patojenlerden kaynaklanan hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bunlarla birlikte kefirin hayvanlarda anti-tümör, immünstimulan etkileri ve lipid peroksidasyonunu azaltan antioksidan aktivitesi, antidiyabetik, antibakteriyel ve antifungal etkilerinin olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir (13, 15). Düzenli olarak günde yarım litre tüketiminin metabolizma üzerinde stabilize edici etkisinin yanında karaciğer; safra, böbrek fonksiyonları ve kan dolaşımı üzerine olumlu etkiler gösterdiği tespit edilmiştir. Kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (15, 89). Bu bilgiler ışığında çalışmamızda rabdomiyolize bağlı ABY oluşturulmuş ratlarda kefirin etkinliğini göstermeyi amaçladık. Hipertonik gliserolün i.m. verilmesi ile ratlarda deneysel olarak rabdomiyoliz oluşmaktadır ve buna sekonder olarak ABY gelişmektedir. Bu model insanlardaki MABY'nin deneysel modeli olarak kullanılmaktadır (34, 105). Biz de bu nedenle rabdomiyoliz oluşturmak için gliserol kullandık. Hipertonik gliserolün i.m. enjeksiyonu ile bölgesel miyoliz, hemoliz ve intravasküler hacim azalması meydana gelir. Bunun sonucu olarak vazokonstrüktör etkili endotoksik sitokinler dolaşıma salınır. Miyoliz ve hemoliz sonucu dolaşıma salınan hem proteinleri güçlü bir vazodilatatör olan NO'yu azaltarak renal damarlarda konstriksiyona neden olur (34, 106). Miyogloblin ve hemoglobinin

parçalanması sonucu ortaya çıkan demir iyonu Haber Weiss ve Fenton reaksiyonlarını katalize ederek serbest radikal oluşumuna, lipid peroksidasyonuna ve böbrek fonksiyonlarının bozulmasına neden olur (48, 107). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, serbest radikallerin iskemik ve toksik nedenlerle oluşan böbrek hasarının patogeneğinde önemli rol aldıkları gösterilmiştir (108). Ayrıca birçok deneysel ve klinik çalışmada çeşitli antioksidan ajanların klasik ABY tedavileri ile birlikte kullanılabileceği gösterilmektedir (11, 109-111).

Brivet ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ABY gelişen hastalarda, prognozu belirleyen faktörlerden birinin de hastanın beslenme durumu olduğu söylenmiştir (3). Yapılan hayvan çalışmaları ile diyetle alınan antioksidanların vücuttaki antioksidan enzim seviyesini yükselttiği gösterilmiştir (112, 113). Protein ve kalsiyum kaynağı olarak doğasında bulunan yüksek besin değerinin ötesinde, kefirin beslenme kültürünün temel bir parçası olduğu ülkelerde çok uzun zamandır sağlık için yararlı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu görüşü ispatlamak için yayınlanan insan veya hayvanların beslenmesi ile ilgili denemelerinin sayısı çok da fazla değildir (17). Kefirin antioksidan etkisi de çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Biz de yaptığımız çalışmada kefirle oluşturulan antioksidan beslenmenin ABY gelişmesi üzerine histopatolojik olarak iyileştirici etkisi olduğunu gözlemledik. Yapılan diğer bir çalışmada da sepsis oluşturulan ratlarda, yedi günlük kefir tedavisiyle akciğer, karaciğer, dalak, kalın barsaklarda ve böbreklerde histopatolojik olarak olumlu sonuçlar elde edilmiştir (19). Biz bu etkiyi kefirin antioksidan bazı parametreleri arttırarak oluşturduğunu düşünmekteyiz. Buna rağmen antioksidan etkisini biyokimyasal olarak gösteremedik. Bu kefirin uygulama dozu ile ilgili olabilir. Özellikle kefirin dozu ve uygulama süresi ile ilgili kesin veriler mevcut değildir. Yapılan çalışmalarda çok farklı dozlarda ve sürelerde kefirin kullanıldığı görmektediriz (17, 114-118). Biz bu çalışmada, Figler ve arkadaşlarının (114) yaptığı gibi ratları 4 hafta besledik ve 31. gün laparotomi yaptık. Kefir dozu, Demirel ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi 2 ml/rat olacak şekildeydi (118).

Kefirin antioksidan özelliğini göstermek amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Doku hasarında antioksidan ve oksidan durumu göstermek için çeşitli markerlar bulunmaktadır. Bunlar süperoksid dismutaz (SOD), katalaz (CAT), Glutatyonredüktaz (GR), Glutatyonperoksidaz (GPx), serüloplazmin gibi

proteinlerdir (119). Güven ve arkadaşları (120) farelerde CCl_4 ile indüklenen oksidatif hasarda kefirin redükte glutatyon ve glutatyon peroksidaz düzeylerini arttırarak, lipid peroksidasyonunu ise azaltarak vitamin E'den daha koruyucu etki gösterdiğini saptamışlardır. Yapılan bu çalışmada Güven ve ark. kefirin oksidatif stress üzerine bizim çalışmamızın aksine biyokimyasal olarak olumlu etkilerinin olduğunu saptadılar. Çenesiz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada farelerde azoxymethane ile indüklenen kolondaki anormal kript formasyonuna karşı oluşan antioksidan aktivitenin kefir alan grupta daha yüksek olduğunu gösterdiler (121).

1990'lı yılların başında Miller ve arkadaşları total antioksidan durumu ölçmeye yarayan TAK olarak tanımlanan yeni bir test oluşturdular. Bu testin en önemli avantajı bir biyolojik örnekte tüm antioksidanların antioksidan kapasitesini ölçmesidir ve sadece tek bir bileşimin antioksidan kapasitesi değildir (122). Yapılan bir çalışmada iskemik reperfüzyon hasarına bağlı oluşan ABY' de antioksidan enzim düzeylerinin önemli oranda azaldığı (SOD, CAT, ve GPx) gösterilmiştir (123). Yapılan başka bir çalışmada ise ABY olan ratlarda TAK'da ciddi azalma gözlemlenmiş ve bu azalmanın 72 saatten sonra spontan olarak tersine döndüğü görülmüştür (124). Biz kuvvetli bir antioksidan olduğu pek çok çalışmada gösterilen kefirin rabdomiyolize bağlı oluşmuş akut tübüler nekrozda etkinliğini gösteren çalışmaya rastlamadık. Bu amaçla yaptığımız çalışmada biyokimyasal olarak TAK ve TOS değerlerinde anlamlı bir fark bulamadık.

SONUÇ

Çalışmamızda oluşturulan 4 gruptan 9 ml/kg dozunda i.m. olarak gliserol uygulanan 2 grupta histopatolojik ve biyokimyasal olarak rabdomiyoliz ve nefropati oluştuğunu gözledik.

Grup I; normal beslenen kontrol grubunda rabdomiyoliz oluşturmadık. Tüm gruplarla kiloları, TAS, TOS değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Histopatolojik olarak ise rabdomiyolizi gösteren herhangi bir bulguya rastlanmadı ve böbrek dokuları normal olarak değerlendirildi. Böbrek fonksiyon testleri ve Sistatin C açısından ise rabdomiyoliz ve kefir+ rabdomiyoliz grubu ile anlamlı fark tespit edildi. Bu gruplara göre değerler daha düşüktü. Kefir alan grup ile ise fark yoktu.

Grup II; Normal beslenen ratlara gliserol uygulayarak rabdomiyoliz oluşturduk. Rabdomiyoliz ve nefropati biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterildi. 3 ratta histopatolojik olarak rabdomiyoliz olmasına rağmen biyokimyasal olarak bunu gösteremedik ve çalışmaya bu ratları dahil etmedik. Böbrek fonksiyon testleri rabdomiyoliz oluşturulmayan gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Kefir+ rabdomiyoliz grubu ile anlamlı fark bulunamadı. TAS, TOS ve kilolar açısından diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Histopatolojik olarak ise tüm gruplar arasında anlamlı fark vardı. Histopatolojik etkilenme tüm gruplara göre daha yüksek derecedeydi.

Grup III; kefir ile beslendi ve rabdomiyoliz oluşturmadık. Tüm gruplarla Kiloları, TAS, TOS değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Histopatolojik olarak ise rabdomiyolizi gösteren herhangi bir bulguya rastlanmadı ve böbrek dokuları normal olarak değerlendirildi. Böbrek fonksiyon testleri ve Sistatin C açısından ise rabdomiyoliz ve kefir+rabdomiyoliz grubu ile anlamlı fark tespit edildi. Bu gruplara göre biyokimyasal değerler daha düşüktü. Kontrol grubu ile ise anlamlı fark bulunamadı.

Grup IV; kefir ile beslenirken rabdomiyoliz uygulandı. 5 ratta rabdomiyoliz ve nefropati biyokimyasal ve histopatolojik olarak gösterildi. 3 ratta histopatolojik olarak rabdomiyoliz olmasına rağmen biyokimyasal olarak bunu gösteremedik ve çalışmaya bu ratları dahil etmedik. Böbrek fonksiyonları rabdomiyoliz

oluşturulmayan gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Rabdomiyoliz yapılan grup arasında biyokimyasal olarak BUN, Kreatinin, Üre, Sistatin C arasında anlamlı fark bulunamadı. TAS, TOS ve kilolar açısından diğer gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Histopatolojik olarak ise tüm gruplar arasında anlamlı fark vardı. Rabdomiyoliz yapılan gruba göre histopatolojik olarak daha az hasar mevcuttu.

Bütün bunlar göz önüne alındığında gliserol ile oluşturulan rabdomiyolizin indüklediği ABY'de daha önce yapılan çalışmalarda antioksidan özelliği bilinen kefirin biyokimyasal olarak koruyucu özelliğinin olmadığını fakat histopatolojik olarak özellikle rabdomiyoliz uygulanan gruplar arasında daha koruyucu olduğunu gördük. Kefirin hangi süre ve dozlarda kullanılacağı tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca bizim kullandığımız kefirin içindeki laktobasilerin, antioksidan özellik gösteren türleri içerip içermediğini kesin bilmemekteyiz. Bu nedenle rabdomiyolize bağlı gelişen böbrek yetmezliğinde kefir gibi antioksidan beslenme çeşitleri açısından ve kefirin dozları açısından farklı ve çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

ÖZET

Ratlarda Gliserol ile Oluşturulan Rabdomiyolizin İndüklediği Akut Renal Yetmezlikte Kefirin Etkinliği

Giriş: Akut böbrek yetmezliği (ABY), rabdomiyolizin önemli komplikasyonlarından biridir. Rabdomiyoliz sonucu oluşan ABY'ye myoglobinürik akut böbrek yetmezliği (MABY) denir. ABY için pek çok tedavi yöntemi denenmektedir. Bu yöntemlerin etkinliği çoğu zaman sınırlıdır. Yeni ve koruyucu tedavi yöntemlerine ihtiyaç vardır. Kefir, anti-oksidan, anti-tümöral, kolesterol düşürücü, enfeksiyonlara karşı koruyucudur. Karaciğer, safra, böbrek fonksiyonları ve kan dolaşımı üzerine olumlu etkiler gösterdiği çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle çalışmamızda rabdomiyoliz sonrası böbrek yetmezliği oluşturulan ratlarda kefirin etkinliğini değerlendirmeyi amaçladık.

Metod: Çalışmada; 200 - 250 g ağırlığında, 4 grupta 8'er adet olmak üzere 32 adet Wistar Albino dişi sıçan kullanıldı. Grup I (kontrol grubu): Normal beslenen ratlara rabdomiyoliz uygulanmadı, Grup II (rabdomiyoliz grubu): Normal beslenen ratlara rabdomiyoliz uygulandı, Grup III (kefir grubu): Kefir ile beslenen ratlara rabdomiyoliz uygulanmadı, Grup IV (kefir+ rabdomiyoliz grubu): Kefir ile beslenen ratlara rabdomiyoliz uygulandı. Rabdomiyoliz yapmak amacı ile 9 ml/kg dozunda gliserol kullanıldı. 31. günde sakrifiye edilen ratlarda böbrek fonksiyon testleri (BUN, Kreatinin, Üre), Sistatin C, TAK, TOS, LDH ve CPK biyokimyasal parametreleri çalışıldı. Ayrıca histopatolojik değerlendirmede böbrek nekroz derecesi değerlendirildi.

Bulgular: Çalışma sonunda, Grup II ve Grup IV'te rabdomiyoliz ve nefropati oluştuğunu gözlemledik. Histopatolojik olarak gruplar karşılaştırıldığında Grup IV'de nekroz derecesi grup II'den daha düşüktü. Fakat biyokimyasal olarak bu iki grup arasında fark yoktu.

Sonuç: Rabdomiyoliz ile MABY geliştirilen ratlarda kefir verilmesinin histopatolojik olarak koruyucu özelliğinin olduğunu gösterdik.

Anahtar kelimeler: Kefir, Akut Böbrek Yetmezliği, Rat, Rabdomiyoliz

ABSTRACT

Effects of Kefir with the Glycerol of Rhabdomyolysis-Induced Acute Renal Failure in Rats

Introduction: Acute Renal Failure (ARF) is one of the important complications of rhabdomyolysis. Rhabdomyolysis induced ARF is known as Myoglobinuric Acute Renal Failure (MARF). Different methods of treatment are being tested for Acute Renal Failure. Effectiveness of these methods is often limited. New and prohibitive methods of treatment are needed. Kefir is antioxidant, antineoplastic and it lowers cholesterol levels and protects from infections. Its positive effects on liver, kidney and bile functions are reported by some researches. Therefore we aimed to evaluate the efficiency of kefir on rats with renal failure after rhabdomyolysis in our study.

Method: In the study, each weight 200 – 250 grams, 4 groups of Wistar Albino female rats which contain 8 rats per group are used. In Group 1 (Control Group); Rhabdomyolysis is not applied on normal fed rats. In Group 2 (Rhabdomyolysis Group); Rhabdomyolysis applied on normal fed rats. In Group 3 (Kefir Group); Rhabdomyolysis is not applied on kefir fed rats. In Group 4 (Kefir and Rhabdomyolysis Group); Rhabdomyolysis applied on kefir fed rats. For the constitution of rhabdomyolysis, 9 ml/kg dosed Glycerol is used. Biochemical parameters such as renal functional tests (BUN, Creatinin and Urea), Cystatin C, TAK, TOS, LDH and CPK are studied on sacrificed rats on 31 th day. Additionally renal necrosis degree evaluated with histopathological analysis.

Results: In the end of the study, we observed nephropathy and rhabdomyolysis in Group II and IV. About the histopathological comparison of groups; degree of necrosis is lower in the group IV than in the group II. But biochemically there were no differences within these two groups.

Conclusion: We showed that kefir has a histopathological preventive attribute on rats with rhabdomyolysis induced MARF.

Keywords: Kefir, Acute Renal Failure, Rat, Rhabdomyolysis

KAYNAKLAR

1. Lameire N, W. Van Biesen, R. Vanholder. Acute renal failure. *Lancet*, 2005; 365 (9457): 417- 30.
2. Jorres AJ. Acute renal failure: pathogenesis, diagnosis and conservative treatment. *Minerva Med*, 2002; 93(2): 85- 93.
3. Brivet FG, Kleinknecht DJ, Loirat P, Landais PJ. Acute renal failure in intensive care units--causes, outcome, and prognostic factors of hospital mortality; a prospective, multicenter study. French Study Group on Acute Renal Failure. *Crit Care Med*, 1996; 24(2): 192- 8.
4. Sever MS, Ereğ E, Vanholder R, Ozener C, Yavuz M et al., Lessons learned from the Marmara disaster: Time period under the rubble. *Crit Care Med*, 2002; 30 (11): 2443- 9.
5. Sever MŞ. Doğal Afetler Sonrasında Oluşan Crush (Ezilme) Yaralanmaları: Marmara Depremi Deneyimi. *Türkiye’de Sık Karşılaşılan Hastalıklar 2007*; 55: 29- 42.
6. Bagley WH, Yang H, Shah KH. Rhabdomyolysis. *Intern Emerg Med*, 2007; 2(3): 210-8.
7. Singh D, Chander V, Chopra K. Carvedilol, an antihypertensive drug with antioxidant properties, protects against glycerol-induced acute renal failure. *Am J Nephrol*, 2003; 23(6): 415- 21.
8. Ishizuka S, Yano T, Hagiwara K, Sone M, Nihei H, Ozasa H, *et al.* Extracellular signal-regulated kinase mediates renal regeneration in rats with myoglobinuric acute renal injury. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254: 88–92.
9. Aydogdu N. Deneysel miyoglobinürik akut böbrek yetmezliğinde melatoninin etkileri. *Trakya Üniversitesi*, 2003; 5- 10.
10. Ishizuka S, Nagashima Y, Numata M, Yano T, Hagiwara K et al. Regulation and immunohistochemical analysis of stress protein heme oxygenase - 1 in rat kidney with myoglobinuric acute renal failure. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997; 240 (1): 93- 8.
11. Chander V, Chopra K. Molsidomine, a nitric oxide donor and L-arginine protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Biochim Biophys Acta*, 2005; 1723 (1- 3): 208-14.
12. Lameire N. The pathophysiology of acute renal failure. *Crit Care Clin*, 2005; 21(2): 197- 210.
13. Farnworth ER. Kefir a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 2005; 2: 1- 17.
14. Beshkova DM, Simova ED, Frengova GI, Simov ZI, Dimitrov ZP. Production of volatile aroma compounds by kefir starter cultures. *Inter Dairy J*, 2003; 13: 529-35.

15. Karagözlü C. Kefir – probiotic fermented milk product. 50th Anniversary of the university of food technology HIFFI 2003 Oct 15- 17; UFTA Academic Publishing House, Plovdiv – Bulgaria. Collection of scientific works of the HIFFI Plovdiv, 2003: 404- 409.
16. Stecchini ML, Torre MD, Munari M. Determination of peroxy radical scavenging of lactic acid bacteria. *Int J Microbiol*, 2000; 64: p. 183-88.
17. Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D. et al. Immunomodulating capacity of kefir. *J Dairy Res*, 2005; 72(2): 195- 202.
18. Maeda H, Zhu X, Suzuki S, Suzuki K, Kitamura S. Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefiran produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* WT-2B(T). *J Agric Food Chem*, 2004; 52(17): 5533- 8.
19. Öresin AÖ. Sepsis Oluşturulmuş Ratlarda Kefirin Etkinliği. *Tez*. 2008; 25-38.
20. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*, 2004; 8(4): R204- 12.
21. Brady HR, Brenner BM. Acute renal failure. In: Hauser K, Longo B, Jameson F (eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. New York: Mv Graw Hill, 2005: 1644-55.
22. Stevens P. Assessment of patients presenting with acute renal failure. *Medicine*, 2007; 35(8): 429- 33.
23. Feest TG, Round A, Hamad S. Incidence of severe acute renal failure in adults: results of a community based study. *BMJ*, 1993; 306 (6876): p. 481- 3.
24. McCullough PA, Soman SS, Shah SS, et al. Risks associated with renal dysfunction in patients in the coronary care unit. *J Am Coll Cardiol*, 2000; 36 (3): 679- 84.
25. Hoste EA, Kellum JA. Incidence, classification, and outcomes of acute kidney injury. *Contrib Nephrol*, 2007; 156: 32- 8.
26. Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N. Developing a consensus classification system for acute renal failure. *Curr Opin Crit Care*, 2002; 8(6): 509-14.
27. Thadhani RP, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure. *The New England Journal of Medicine* 1996; 234: p. 1448-60.
28. Mendonca A, Vincent JL. Acute renal failure in the ICU: risk factors and outcome evaluated by the SOFA score. *Intensive Care Med*, 2000; 26(7): 915- 21.
29. Hilton R. Acute renal failure. *BMJ*, 2006; 333 (7572): 786- 90.
30. Carmichael P, Carmichael AR. Acute renal failure in the surgical setting. *ANZ J Surg*, 2003; 73 (3): 144- 53.

31. Alonso A, Lau J, Jaber LB et al. Prevention of radiocontrast nephropathy with N-acetylcysteine in patients with chronic kidney disease: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Am J Kidney Dis*, 2004; 43(1): 1-9.
32. Birck R, Krzossok S, Schnülle P et al. Acetylcysteine for prevention of contrast nephropathy: meta-analysis. *Lancet*, 2003; 362 (9384): 598- 603.
33. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *The Kidney in Pathologic basis of disease*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1994; 927-89.
34. Zager, RA. Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int*, 1996. 49(2): 314-26.
35. Vanholder R, Sever M, Ereğ E, Lameire N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol*, 2000; 11(8): 1553- 61.
36. Baliga R, Zhang Z, Baliga M, et al. Evidence for cytochrome P- 450 as a source of catalytic iron in myoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int*, 1996; 49(2): 362- 9.
37. Counselman FL. Rhabdomyolysis. *Emergency medicine a comprehensive study Guide 5th Ed.* . North Carolina: McGraw-Hill, 2000; 1841- 1845.
38. Beetham R. Biochemical investigation of suspected rhabdomyolysis. *Ann Clin Biochem*, 2000; 37 (Pt 5): 581- 7.
39. Russell TA. Acute renal failure related to rhabdomyolysis: pathophysiology, diagnosis, and collaborative management. *Nephrol Nurs J*, 2000; 27(6): 567- 75; quiz 576-7.
40. Altıntepe L, Güney Ş, Tonbul HZ, Türk S, Mazı M, Agca E. Konya’da Zümrüt apartmanı çökmesi sonucu oluşan Crush sendromu olguları. *Türk nefroloji ve transplantasyon derg* 2005;14(1): 18- 22.
41. Demirkiran O, Dikmen Y, Utku T, et al. Crush syndrome patients after the Marmara earthquake. *Emerg Med J*, 2003; 20(3): 247- 50.
42. Better OS. History of the crush syndrome: from the earthquakes of Messina, Sicily 1909 to Spitak, Armenia 1988. *Am J Nephrol*, 1997; 17(3- 4): 392- 4.
43. Chander V, Singh D, Chopra K. Catechin, a natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Pharmacol Res*, 2003; 48(5): 503- 9.
44. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi fizyoloji. Nobel tıp kitabevleri* 1996: 73.
45. Gburek J, Birn H, Verroust PJ, et al. Renal uptake of myoglobin is mediated by the endocytic receptors megalin and cubilin. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003; 285(3): 451- 8.
46. Malinoski D, Sltter MS, Mullins RJ. Crush Injury and Rhabdomyolysis. *Crit Care Clin*, 2002; 20(1): 171- 92.
47. Visweswaran P, Guntupalli J. Rhabdomyolysis. *Crit Care Clin*, 1999; 15(2): 415- 28
48. Holt SG, Moore KP. Pathogenesis and treatment of renal dysfunction in rhabdomyolysis. *Intensive Care Med*, 2001; 27(5): 803- 11.

49. Klahr S, Miller SB. Acute oliguria. *N Engl J Med*, 1998; 338(10): 671-5.
50. Wagner G, Jan M, Kim M et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006; 105: 485- 91.
51. Metnitz PG, Krenn CG, Steltzer H, Lang T, Ploder J, Lenz K. Effect of acute renal failure requiring renal replacement therapy on outcome in critically ill patients. *Crit Care Med*, 2002; 30(9): 2051- 8.
52. Van Biesen W, Vanholder R, Lameire N. Defining acute renal failure: RIFLE and beyond. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2006; 1(6): 1314- 9.
53. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*, 2007; 11 (2): R31
54. Himmelfarb J, Joannidis M, Molitoris B, Schietz M et al., Evaluation and initial management of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008; 3(4): 962- 7.
55. Cruz DN, Ricci Z, Ronco C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care*, 2009; 13 (3): 211.
56. Reed CH. Diagnostic applications of cystatin C. *Br J Biomed Sci*, 2000; 57(4): 323- 9.
57. Mareš J, Herzig R, Urbánek K, Bartoušek J et al. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2003; 147(2): 177- 80.
58. Shah A, Bono B. Cystatins in health and disease. *Int J Pept Res Ther*, 2009; 15: 43- 48.
59. Brown WM, Dziegielewska KM. Friends and relations of the cystatin superfamily--new members and their evolution. *Protein Sci*, 1997; 6(1): 5- 12.
60. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, et al. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int*, 1995; 47(1): 312- 8.
61. Newman D. More on cystatin C. *Clin Chem*, 1999; 45(5): 718- 9.
62. Obervaber R, Nenov V, Wedekam C. Reduction in mean glomerular pore size coincides with the development of large shunt pores in patients with diabetic nephropathy. *Exp Nephrol* 2001; 9(1): 445- 9.
63. Mussab M, Ruzzante N, Varognolo M, Plebani M. Quantitative automated particleenhanced immunonephelometric assay for the routine measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36(11): 859- 65.
64. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C serum concentrations underestimate glomerular filtration rate in renal transplant recipients. *Clin Chem*, 1999; 45(10): 1866- 8.
65. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol*, 1992; 38 Suppl 1: S20- 7.

66. Freije JP, Abrahamson M. Structure and expression of the gene encoding cystatin D, a novel human cystatin proteinase inhibitor. *The Journal of Biological Chemistry*, 1992; 25: 38- 43.
67. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *Clin Chem*, 2001; 47(11): 2055- 9.
68. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clin Chem*, 2002; 48(5): 699- 707.
69. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal functions-a review. *Clin Chem Lab Med*, 1997; 37(4): 389- 95.
70. Le Bricon T, Thervet E, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D. Changes in plasma cystatin C after renal transplantation and acute rejection in adults. *Clin Chem*, 1999; 45 (12): p. 2243- 9.
71. Finney H, Newman DJ, Gruber W, Merle P, Price CP. Initial evaluation of cystatin C measurement by particle-enhanced immunonephelometry on the Behring nephelometer systems (BNA, BN II). *Clin Chem*, 1997; 43(6 - 1): 1016- 22.
72. Woitas RB, Stoffel-Wagner B, Poegel U, Schiedermaier P et al. Low-molecular weight proteins as markers for glomerular filtration rate. *Clin Chem*, 2001; 47(12): 2179- 80.
73. Erik J, Karl UGH. Reference intervals for plasma cystatin in healthy volunteers and renal patients as measured by the Bering B N II system and correlation with creatinine. *Clin. Chem*, 1992; 3: 1933-55.
74. Plebani M, Mussap M, Bertelli L, et al. Determination of blood cystatin C in pregnant women during labor and in their newborns. *Pediatr Med Chir*, 1997; 19(5): 325- 9.
75. Randers E, Krue S, Erlandsen EJ, Danielsen H, Hansen LG. Reference interval for serum cystatin C in children. *Clin Chem*, 1999; 45(10): 1856- 8.
76. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Brodehl J. Reference values for cystatin C serum concentrations in children. *Pediatr Nephrol*, 1998; 12(2):125- 9.
77. Harmoinen A, Ylinen E, Ala-Houhala M, et al. Reference intervals for cystatin C in pre- and full-term infants and children. *Pediatr Nephrol*, 2000; 15(1- 2): 105- 8.
78. Filler G, Witt I, Priem F, Ehrich JH, Jung K. Are cystatin C and beta 2-microglobulin better markers than serum creatinine for prediction of a normal glomerular filtration rate in pediatric subjects? *Clin Chem*, 1997; 43(6 Pt 1): 1077- 8.
79. Bökenkamp A, Ciarimboli G, Kilian I, Klanke B, Schurek H-J, Stolte H. Cystatin C--a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics*, 1998; 101(5): 875- 81.

80. Kilpatrick ES, Keevil BG. Addison, Does adjustment of GFR to extracellular fluid volume improve the clinical utility of cystatin C? *Arch Dis Child*, 2000; 82 (6): 499- 502.
81. Morris MC, Allanby CW, Toseland P, et al. Evaluation of a height/plasma creatinine formula in the measurement of glomerular filtration rate. *Arch Dis Child*, 1982; 57(8): 611- 5.
82. Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, factor D and beta 2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand*, 1985; 218(5): 499- 503.
83. Marteau P. Living drugs for gastrointestinal diseases: the case for probiotics. *Dig Dis*, 2006; 24(1-2): p. 137-47.
84. Taranto MP, Medici M, Perdigon G, Ruiz Holgado AP, Valdez GF. Evidence for hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. *J Dairy Sci*, 1998; 81(9): 2336- 40.
85. Gill HS, Guarner F. Probiotics and human health: a clinical perspective. *Postgrad Med J*, 2004. 80(947): 516- 26.
86. Guzel-Seydim Z, Seydim AC, Greene AK. Organic acids and volatile flavor components evolved during refrigerated storage of kefir. *J Dairy Sci*, 2000; 83(2): 275- 7.
87. Turan İ, İltter T. Kafkas Dağlarından Günümüze: Kefir. *Güncel Gastroenteroloji*, 2007: 65- 75.
88. Fujiwara S, Hashiba H, Hirota T, et al. Proteinaceous factor(s) in culture supernatant fluids of bifidobacteria which prevents the binding of enterotoxigenic *Escherichia coli* to gangliosylceramide. *Appl Environ Microbiol*, 1997; 63(2): 506- 12.
89. Liu JR, Wang SY, Chen MJ, Chen HL et al. Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. *Br J Nutr*, 2006; 95(5): 939- 46.
90. Knauf HJ, Vogel RF, Hammes WP. Cloning, sequence, and phenotypic expression of *kataA*, which encodes the catalase of *Lactobacillus sake* LTH677. *Appl Environ Microbiol*, 1992; 58(3): 832- 9.
91. Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res*, 1994; 54(7 Suppl): 1969- 75
92. Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J Mayo Clin Proc*, 1988; 83: 381–8.
93. Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. radical in molecular biology. *J Aging Disease*, 1984; 65: 53–66.
94. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, 1987; 107 (4): 526- 45.
95. Dizdaroğlu M. Mechanisms of oxidative DNA damage; lesion and their measurement. *Kluwer academic/plenum publishers*. 1999; 302: 67- 87.

96. Dizdaroğlu M. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *J Free Radical Biology & Medicine*, 1993; 61: 225- 242.
97. Koleva II, van Beek TA, Linssen JP, de Groot A, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal*, 2002; 13(1): 8- 17.
98. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*, 2005; 38(12): 1103- 11.
99. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 2004; 37(2): 112- 9.
100. Eroğlu F, Eroğlu HE. Ratlarda Analjezi ve Anestezi, In: Küçük Deney Hayvanlarından Rat. Editör: Yücel O, Genç O. JCAM Kitap serisi, 2011; 1- 8.
101. Abdel-Wahhab A, Nada SA, Arbid MS. Ochratoxicosis: prevention of developmental toxicity by L- methionin in rats. *J Appl Toxicol*, 1999; 19(1): 7- 12.
102. Agras PI, Tarcan A, Baskin E, Cengiz N, Gürakan B, Saatci U. Acute renal failure in the neonatal period. *Ren Fail*, 2004; 26(3): 305- 9.
103. Bywaters EG, Beall D. Crush injuries with impairment of renal function. *Br Med J*, 1941; 1(4185): 427- 32.
104. Ron D, Taitelman U, Michaelson M, Bar-Joseph G et al. Prevention of acute renal failure in traumatic rhabdomyolysis. *Arch Intern Med*, 1954; 144(2): 277- 80.
105. Slater MS, Mullins RJ. Rhabdomyolysis and myoglobinuric renal failure in trauma and surgical patients: a review. *J Am Coll Surg*, 1998; 186(6): 693- 716.
106. Savic V, Vlahovic P, Djordjevic V, et al. Nephroprotective effects of pentoxifylline in experimental myoglobinuric acute renal failure. *Pathol Biol (Paris)*, 2002; 50(10): 599- 607.
107. Singh D, Chander V, Chopra K et al. A natural antioxidant protects against rhabdomyolysis-induced myoglobinuric acute renal failure. *Pharmacol Res*, 2003; 48: 503- 9.
108. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Am J Kidney Dis*, 1997; 29(3): 465- 77.
109. Yousefipour Z, Hercule H, Truong L, Oyekan A, Newaz M. Ciglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor gamma inducer, ameliorates renal preglomerular production and activity of angiotensin II and thromboxane A2 in glycerol-induced acute renal failure. *J Pharmacol Exp Ther*, 2007; 322(2): p. 461- 8.
110. Korner JL, Ali RS, Murray PT. Antioxidants. *Nephron Exp Nephrol*, 2008; 109: 109-17.
111. Polo-Romeo FJ, Fernandez-Funez A, Viana LB et al. Effect of N-acetylcysteine on antioxidant status in glycerol-induced acuterenal failure in rats. *Ren Fail*, 2004; 26(6): 613- 18.

112. Aydemir T, Öztürk R, Bozkaya L, Tarhan L. Effects of antioxidant vitamins A, C, E and trace elements Cu, Se on CuZn SOD, GSH-Px, CAT and LPO levels in chicken erythrocytes. *Cell Biochem Funct*, 2000; 18(2): 109- 15.
113. Urek RÖ, Bozkaya LA, Tarhan L. The effects of antioxidant vitamin- and trace elements of Cu, SOD, CAT, GSH-Px, and LPO levels in chicken tissues. *Cell Biochem. Funct.* , 2001;10: 125- 132.
114. Figler M, Mózsik G, Schaffer B, et al. Effect of special Hungarian probiotic kefir on faecal microflora. *World J Gastroenterol*, 2006; 12(7): 1129- 32.
115. Marquina D, Santos A, Corpas I, Munoz J, Zazo J, Pienado J.M. Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. *Lett Appl Microbiol*, 2002; 35(2): 136- 40.
116. Sozmen M, Erginsoy SD, Çenesiz S. The protective effect of kefir and vitamin C on Azoxymethane induced toxicity and induction of Metallothionein in mice. *Scand J Lab Anim Sci*, 2005; 32: 211- 20.
117. Matsuu M, Shichijo K, Okaichi K, Wen CY, Fukuda E, Nakashima M, et al. The protective effect of fermented milk kefir on radiation-induced apoptosis in colonic crypt cells of rats. *J Radiat Res*, 2003; 44(2): 111- 5
118. Demirel S, Aydıntuğ S, Aslım B, et al. Effects of probiotics on radiation-induced intestinal injury in rats. *Nutrition*, 2006; 22: p. 179- 86.
119. Ferrari CKB. Oxidative stress pathophysiology: Searching for an effective antioksidant protection. *Int Med J.* , 2001; 8: 175- 184.
120. Guven A, Gülmez M. The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 2003; 50(8): 412- 6.
121. Çenesiz S, Devrim AK, Kamber U, Sozmen M. The effect of kefir on glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels in mice with colonic abnormal crypt formation (ACF) induced by azoxymethane (AOM). *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 2008; 115(1): 15- 9.
122. Miller NJ, Rice–Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milnen A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci (Lond)*, 1993; 84(4): 407- 12.
123. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, et al. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem*, 2000; 205 (1- 2): 1-11.
124. Fernandez-Funez P, Rincon-Limas D, Al-Ramahi Botes J. Role of histane acetyl transferases and deacetylases in fly models of poly glutaminetoxicity. *Dros Res Conf*, 2003: 44: 28.

EK



T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

SAYI : B.30.2.SDÜ.0.05.06.00 - 114
KONU: Etik Kurul Kararı

07/06/2012

SAYIN
Yrd. Doç. Dr. Filiz ALKAYA SOLMAZ
(SDÜ Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D.)

“Ratlarda Gliserol İle Oluşturulan Rabdomyolizin İndüklediği Akut Renal Yetmezlikte Kefirin Etkinliği” konulu projeniz Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından **07 HAZİRAN 2012** tarih ve **01** sayılı kararı ile uygun bulunmuştur. Kararın bir örneği ekte sunulmuştur. Bilgilerinize rica ederim.

Doç. Dr. Efkan UZ
Başkan

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı


TOPLANTI TARİHİ	TOPLANTI SAYISI	KARAR SAYISI
07.06.2012	19	01

Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 07 HAZİRAN 2012 tarihinde Saat 15:00'da toplanarak aşağıdaki kararları almıştır,

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Filiz ALKAYA SOLMAZ'ın yürüttüğü Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN, Prof. Dr. Meral ÖNCÜ, Arş. Gör. Pınar KARABACAK, Arş. Gör. Meltem ÖZGÖÇMEN, Arş. Gör. Özlem YÜKSEL, Arş. Gör. İter İLHAN'ın yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, "Ratlarda Gliserol İle Oluşturulan Rabdomyolizin İndüklediği Akut Renal Yetmezlikte Kefirin Etkinliği" başlıklı çalışma;

Deney Hayvanının	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Wistar Albino	Dişi	36	12 Haftalık / 250-300gr

Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından oy birliği ile UYGUN görülmüştür.

Doç. Dr. Efan UZ BAŞKAN	Prof. Dr. Münire ÇAKIR BAŞKAN YARDIMCISI	Yrd. Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ÜYE
	KATILMADI	
Yrd. Doç. Dr. İ. Metin ÇİRİŞ ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Gülnur ÖZGÜNER ÜYE	Yrd. Doç. Dr. Müge ÇINA AKSOY ÜYE
		
Öğr. Gör. İbrahim ONARAN ÜYE	Vet. Hekim İsmail UZ ÜYE	Ecz. Mustafa Serhan DERYAL ÜYE
		KATILMADI