



T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RATLARDA BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA
ERKEN BİR BİYOBELİRTEÇ OLARAK
MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ DÜZEYİ

Dr. CUMA MERTOĞLU

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Cansel Özmen

TOKAT - 2019

RATLARDA BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA
ERKEN BİR BİYOBELİRTEÇOLARAK
MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ DÜZEYİ

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 03/01/2019

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

Başkan : Doç. Dr. Bahattin AVCI

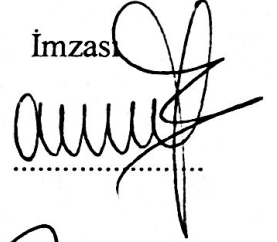
Üye : Doç. Dr. Birşen BİLGİCİ

Üye : Doç. Dr. Köksal DEVECİ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Cansel ÖZMEN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer KATAR

İmzası



Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun 14/12/2018 tarih ve 27/02 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Fikret GEVREK

Müdür

T.C.
GAZIOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile, bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(03/01/2019)

Dr. Cuma MERTOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda büyük emeği geçen, eğitimim ve tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimleri ile beni destekleyen tez yöneticim Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Cansel ÖZMEN'e, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Köksal DEVECİ'ye, bölümümüz öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer KATAR'a ve Öğr. Görevlisi Dr. Leyla AYDOĞAN'a, öğrenci ve asistan arkadaşlarıma ve tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına,

Bu yoğun ve stresli çalışma sürecinde her konuda bana destek olan eşime, kendilerine ayıracağım zamandan kıstığım kızlarım Gülce'ye ve Gülnihal'e, anneme, babama ve kardeşlerime,

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Cuma MERTOĞLU

ÖZET

RATLARDA BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARINDA ERKEN BİR BİYOBELİRTEÇ OLARAK MYO-İNOSİTOL OKSİJENAZ DÜZEYİ*

Akut böbrek hasarı (ABH) yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden ciddi klinik bir problemdir. ABH erken tanısındaki kısıtlılıklar nedeniyle yeni biyobelirteç arayışları devam etmektedir. Myo-inositol oksijenaz (MIOX), myo-inositol katabolizmasının ilk ve hız kısıtlayıcı enzimidir ve ağırlıklı olarak böbreklerden salgılanmaktadır. Bu çalışmada ratlarda deneysel iskemi-reperfüzyon hasarı ile oluşturulan akut böbrek hasarının tanısında MIOX enziminin yeri araştırılmıştır. Toplamda 40 rat basit randomizasyon ile 8'erli 5 gruba ayrıldı ve kontrol grubu hariç deney gruplarına belirtilen sürelerde sol böbrek iskemi reperfüzyon uygulandı. Grup I, hasarsız kontrol grubu olarak değerlendirildi. Grup II, 1 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. Grup III, 1 saat iskemi ve 4 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. Grup IV, 2 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. Grup V, 2 saat iskemi ve 4 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. Serum BUN ve kreatinin düzeyleri deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksekti ($p < 0.001$). Serum MIOX düzeyleri grup II, III ve IV'de kontrol grubuna kıyasla daha yüksek iken grup V'de kontrol grubuna benzer düzeydeydi ($p = 0.002$). Doku MIOX düzeyleri ise grup II, IV ve V'de kontrol grubuna kıyasla daha düşüktü ($p = 0.039$). Serum ve doku nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) düzeyleri gruplar arasında kıyaslandığında anlamlı farklılık yoktu ($p = 0.093$, $p = 0.161$, sırasıyla). Histopatolojik incelemede hasar düzeyi; grup I < grup III < grup II = grup IV < grup V şeklinde olduğu görülmüştür. Serum MIOX düzeyi ABH'nın erken dönemlerinde yükselmektedir ancak ilerleyen sürelerde tekrar azalmaktadır. Dolayısıyla ABH erken tanısında serum MIOX düzeyi ümit vaat eden potansiyel bir biyobelirteç olabilir.

Anahtar kelimeler: Böbrek iskemi-reperfüzyon, akut böbrek hasarı, myo-inositol oksijenaz, nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin.

*Bu çalışma Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2015/123).

ABSTRACT

THE LEVEL OF MYO-INOSITOL OXYGENASE AS AN EARLY BIOMARKER IN RENAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RATS*

Acute kidney injury (AKI) is a serious clinical problem due to its high morbidity and mortality. The search for alternative markers for early diagnosis of AKI has been increasing due to the lack of early diagnostic of AKI. Myo-inositol oxygenase (MIOX) is the first rate-limiting enzyme of myo-inositol catabolism and is mostly observed in the kidney. In this study, the role of MIOX enzyme in the diagnosis of AKI induced by experimental ischemia-reperfusion injury in rats was investigated. In total 40 rats were divided into 5 groups of 8 with simple randomization and left kidney ischemia reperfusion was applied to the experimental groups except the control group. Group I was evaluated as undamaged control group. Group II was exposed to 60 min ischemia and 2 hr reperfusion. Group III was exposed to 60 min ischemia and 4 hr reperfusion. Group IV was exposed to ischemia for 2 hours and reperfusion for 2 hours. Group V was exposed to ischemia for 2 hours and reperfusion for 4 hours. Serum BUN and creatinine levels were higher in the experimental groups compared to the control group ($p < 0.001$). Serum MIOX levels were higher in groups II, III and IV than in the control group, but similar to the control group in group V ($p = 0.002$). Tissue MIOX levels were lower in groups II, IV and V than the control group ($p = 0.039$). Serum and tissue neutrophil gelatinase-related lipocalin (NGAL) levels were not significantly different when compared between the groups ($p = 0.093$, $p = 0.161$, respectively). Damage level in histopathologic examination; group I < group III < group II = group IV < group V seems to be. Serum MIOX levels are elevated in the early stages of AKI, but are decreasing again in the following processes. Thus, serum MIOX level in the early diagnosis of AKI may be a potential promising marker.

Keywords: Renal ischemia-reperfusion, acute kidney injury, myo-inositol oxygenase, neutrophil gelatinase-related lipocalin.

* This work was supported by the Gaziosmanpasa University Scientific Research Projects Commission. (Project Number: 2015/123).

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar	vii
ŞEKİLLER.....	viii
RESİMLER.....	ix
KISALTMALAR.....	x
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. BÖBREK	3
2.2. BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI.....	5
2.3. AKUT BÖBREK HASARI	6
2.3.1. ABH Tanı Kriterleri ve Sınıflandırılması	8
2.4. AKUT BÖBREK HASARINDA ERKEN TANI BİYOBELİRTEÇLERİ.....	10
2.4.1. Kreatinin	10
2.4.2. Kan Üre Azotu (BUN).....	11
2.4.3. Tübüler disfonksiyon belirteçleri ve enzimleri.....	12
2.4.4. Myo-İnositol Oksijenaz	12
2.4.5. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL).....	18
2.4.6. Kidney Injury Molekül 1 (KIM-1).....	20
2.4.7. Sistatin-c	21
2.4.8. İnterlökin-18 (IL-18).....	22
2.4.9. Karaciğer-tipi Yağ Asidi Bağlayıcı Protein (L-FABP)	22
3.GEREÇ ve YÖNTEM	23

3.1. KULLANILAN MALZEMELER	23
3.2. HAYVAN GRUPLARI VE DENEYİN YAPILIŞI	24
3.3. BİYOKİMYASAL İNCELEME	26
3.3.1. MIOX Ölçümü.....	28
3.3.2. NGAL Ölçümü	31
3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
7. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ.....	66

TABLULAR

Tablo 2.1. Akut böbrek hasarı sınıflamasında RIFLE kriterleri	9
Tablo 2.2. Akut böbrek hasarı sınıflamasında AKIN kriterleri.	10
Tablo 2.3. Akut böbrek hasarı sınıflamasında KDIGO kriterleri	10
Tablo 4.1. Gruplar arasında biyokimyasal parametrelerinin median ve %95 CI değerleri.	36
Tablo 4.2. Gruplar arasında biyokimyasal parametrelerin karşılaştırmasının exact p değerleri.	37
Tablo 4.3. Akut böbrek hasarı markırlarının receiver operating characteristic analiz sonuçları.....	41
Tablo 4.4. Akut böbrek hasarı markırlarının receiver operating characteristic analizinde eğri altında kalan alanların karşılaştırılması.	41
Tablo 4.5. Biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon ilişkisi karşılaştırmaları. 42	
Tablo 4.5. Böbrek dokularının histopatolojik değerlendirme skorlarının karşılaştırılması	46

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Böbrek damarlarının anatomisi	4
Şekil 2.2. Böbrek nefronunun yapısı.	4
Şekil 2.3. İnositolün dokuz izomerinin yapıları.....	14
Şekil 2.4. Myo-inositolün D-glukozdan de novo biyosentezi	15
Şekil 2.5. Böbreklerde myo-inositol katabolizması.....	15
Şekil 2.6. Rekombinant fare MIOX enziminin kristal yapısı.	18
Şekil3.1.MIOX standart eğrisi	31
Şekil3.2.NGAL standart eğrisi.....	34
Şekil 4.1. Serum BUN düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.2. Serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.	38
Şekil 4.3. Serum MIOX düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.	38
Şekil 4.4. Doku MIOX düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.	39
Şekil 4.5. Serum NGAL düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.	39
Şekil 4.6. Doku NGAL düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	40
Şekil 4.7. Serum glukoz düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.	40
Şekil 4.8. Böbrek hasarı biyobelirteçlerinin, akut böbrek hasarını gösteren receiver operating characteristic (ROC) eğrisi.	42

RESİMLER

Resim 3.1. Sol böbrek arterine ulaşılması.	25
Resim 3.2. Sol böbrek arterinin klempenmesi.	25
Resim 3.3. MIOX ELİSA testi için standartların hazırlanması	29
Resim 3.4. NGAL ELISA testi için standartların hazırlanması.....	32
Resim 4.1. Grup I histolojik inceleme görüntüsü.	43
Resim 4.2. Grup II histolojik inceleme görüntüsü.....	44
Resim 4.3. Grup III histolojik inceleme görüntüsü	44
Resim 4.4. Grup IV histolojik inceleme görüntüsü..	45
Resim 4.5. Grup V histolojik inceleme görüntüsü.....	45

KISALTMALAR

- ABH : Akut böbrek hasarı
ABY : Akut böbrek yetmezliği
AKIN : Acute Kidney Injury Network
ALP : Alkalen fosfataz
ATN : Akut tübüler nekroz
AUC : Eğri altında kalan alan
BUN : Kan üre azotu
CI : Güven aralığı (confidence interval)
CV : Coefficient of variation
ELISA : Enzim bağlantılı immünosorbent analiz
EMA : Avrupa İlaç Acentası
FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GFH : Glomerüler filtrasyon hızı
GGT : Gama glutamil transferaz
GST : Glutasyon S transferaz
HRP : Horseradish Peroksidaz
IGFBP-7 : İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-7
IL : İnterlökin
IMPase : İnositol monofosfataz
IP3 : İnositol trifosfatlar
I/R : İskemi/reperfüzyon
KBH : Kronik böbrek hastalığı
KDIGO : Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIM-1 : Kidney injury molecule 1
L-FABP : Karaciğer - yağ asiti bağlayıcı protein
MI : Myo-inositol
MIOX : Myo-inositol oksijenaz
MIPS : Miyo-inositol-fosfat sentaz
NGAL : Nötrofiljelatinaz ilişkili lipocalin
OD : Optik dansite
ROC : Receiver Operating Characteristic

RORS : Renal spesifik oksidoredüktaz

ROS : Reaktif oksijen türleri

RRT: Renal replasman tedavisi

TIMP-2 : Doku metalloproteinaz inhibitörü-2

TNF- α : Tümör nekrozis faktör- α



1.GİRİŞ

Akut böbrek hasarı (ABH) özellikle hastanede yatan hastalarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden, ciddi komplikasyonlara yol açabilen ve önemli oranda mali kayıplara neden olan ciddi klinik bir durumdur (Hoste ve ark., 2006). ABH tanısı klinikte halen iki ana parametreye göre konulmaktadır; serum kreatinin düzeyinde artma ve idrar miktarında azalma. Ancak ABH tanısını erken koyma ve klinik ağırlığını belirlemede, tek başına serum kreatinin kullanımı sorunlara yol açmaktadır. Çünkü hemodinamik değişiklikler, böbrek dışı atılım ve tübüler sekresyon gibi birçok faktör böbrek fonksiyonundan bağımsız olarak serum kreatinini etkiler. Aynı zamanda üretimi kas kitlesi ile orantılıdır ve yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı ve diyet ile etkilenmektedir. Şiddetli ABH' nın erken evrelerinde, serum kreatinin birikmesi için yeterli zaman olmamasından dolayı gerçek glomerüler filtrasyon hızı (GFH) azalmış olsa bile serum kreatinin düzeyi henüz yükselmemiş olabilir. Hemodiyaliz başlatıldıktan sonra serum kreatinini ölçerek böbrek fonksiyonunu değerlendirmek genellikle mümkün değildir. Serum kreatinin düzeyi için farklı sınır değerleri kullanılmış olması sorun yaratabilir. Kreatinin; asıl kaynağı kaslarda bulunan kreatin ve fosfokreatindir. Plazma proteinlerine bağlanmaz ve glomerüllerden rahatlıkla filtre edilir. Proksimal tübüllerden sekrete edilir. Kreatinin serum düzeyi, ancak GFH % 50 azaldıktan sonra artar (Sushrut S. Waikar, Betensky, & Bonventre, 2009).

Son yıllarda, böbrek hasarı sonrası böbrekten kana ve idrara salınan çeşitli maddelerin henüz serum kreatinin artışı olmadan ABH'nı daha erken dönemde tanımlayabileceği ifade edilmiştir. Böylece ABH'nın erken saptanması erken müdahale şansı verebilir, mortalite ve morbidite oranını azaltabilir. ABH tedavisinde birçok yeni ilaç geliştirilmesine rağmen klinik uygulamada etkinlikleri kanıtlanmamıştır. Bunun bir nedeni de ABH'nın erken tanısındaki yetersizliktir. Bu amaçla ABH erken tanısında değişik idrar ve kan biyobelirteçleri tespit edilmiştir; İnterlökin (IL)-18 (Liu ve ark., 2013), nötrofil jelatinaz ilişkili lipocalin (NGAL) (Zhang ve ark., 2016) ve kidney injury molecule 1 (KIM-1) (Pozzoli, Simonini, & Manunta, 2018) bunlardan bazılarıdır. NGAL; böbrek tübül hücrelerinden eksprese edilen lipocalin ailesinden 33 kD ağırlığında küçük bir proteindir. Tübüler hasar sonrası idrara ve kana geçer. En çok ümit veren erken tanı biyobelirtecidir (Devarajan, 2010; Haase ve ark., 2009; C. Mertoglu Gunay, Gurel, & Gungor, 2018; Siew, Ware, & Ikizler, 2011).

Aldozların ve ketozların indirgenmesi ile şeker alkolleri meydana gelir. İndirgenme ürünleri olarak glikozdan sorbitol, mannozdan mannitol oluşur. Fruktozdan ise hem sorbitol ve hem de mannitol oluşmaktadır. Şeker alkollerinden iki tanesine doğada bol olarak rastlanmaktadır. Bunlardan birincisi gliseraldehitin alkole reduklenmesi ile meydana gelen gliseroldür diğeri ise inositoldür. İnositollerin bir stereoisomeri olan myo-inositol hem fosfatidilinositol halinde lipidlerin yapısına girmekte ve hem de fitik asidin yapısına katılmaktadır. Myo-inositol (MI), myo-inositol oksijenaz (MIOX) enzimi tarafından D-glukuronik asite dönüştürülmekte, o da D-xylulose-5-fosfata dönüştürülerek pentoz fosfat yoluna katılmaktadır. MIOX, MI metabolizmasında birinci ve hız kısıtlayıcı enzimdir. Bu yolak MI katabolizmasında tek yoldur. MIOX enzimi ağırlıklı olarak böbreklerde ekprese olmaktadır (R J Arner ve ark., 2001; Gaut ve ark., 2014; B. Yang, Hodgkinson, Millward, & Demaine, 2010).

Bu çalışmada MIOX enziminin ABH'nı erken dönemde gösteren bir biyobelirteç olup-olmadığı araştırılmış ve diğer biyobelirteçler olan NGAL, kreatinin ve BUN düzeyleri ile karşılaştırılmıştır. Literatürde, MIOX enziminin ABH tanısında kullanımını araştıran çalışma sayısı çok azdır. Bu çalışmalardan biri (Gaut ve ark., 2014), az sayıda hayvan üzerinde yapılmış olup, ABH'nı geç dönemde gösteren bir belirteç olan kreatinin ile MIOX düzeyi karşılaştırılmıştır. Ancak bizim yapacağımız çalışma hem denek sayısı, hem de metod açısından daha zenginleştirilmiştir. ABH erken biyobelirteçleri kullanılarak MIOX enziminin ABH tanısında erken dönemde yeri araştırılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

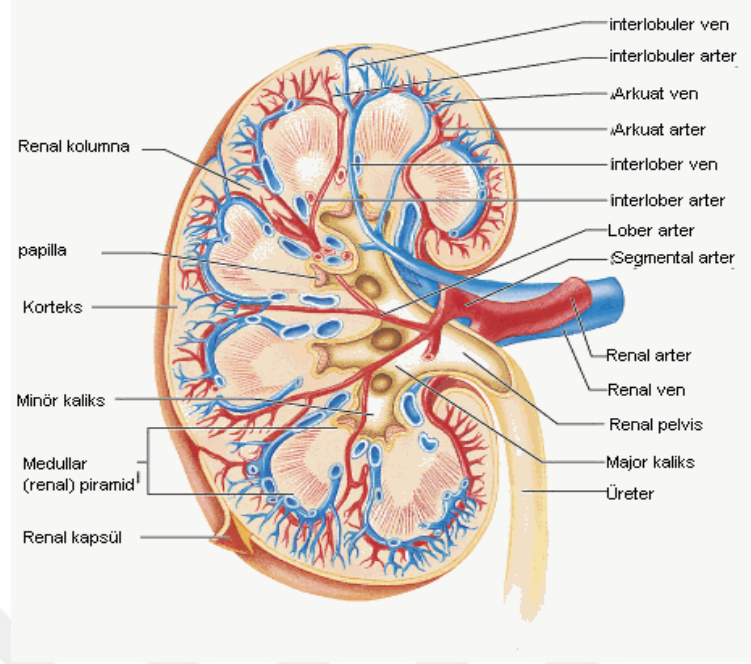
2.1. BÖBREK

2.1.1. Anatomi

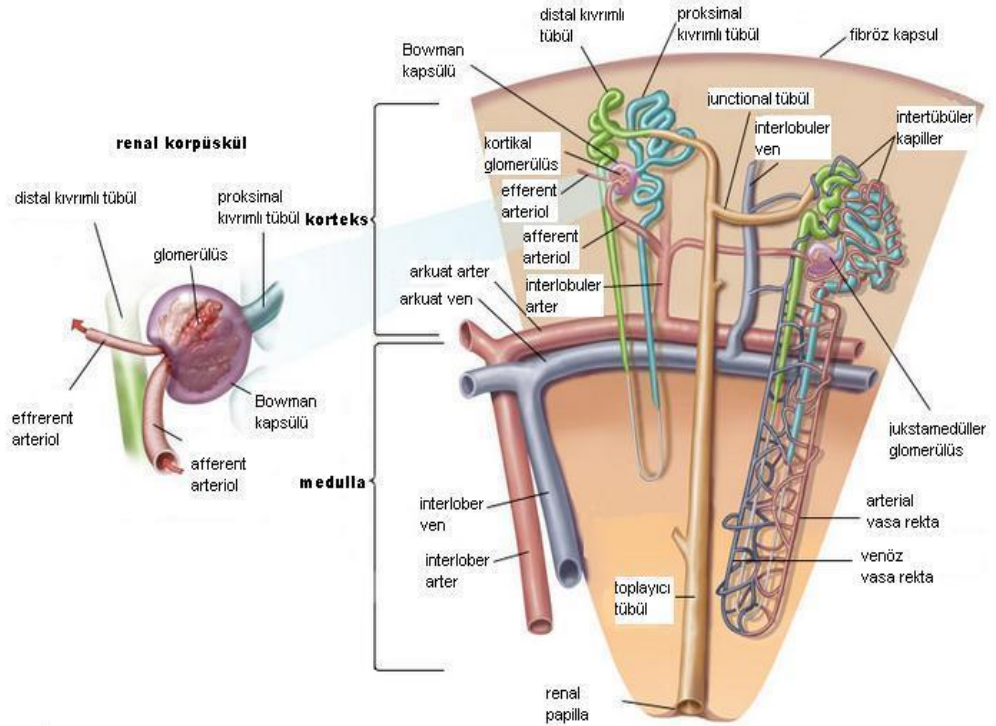
Böbrekler iki adet olup retroperitoneal bölgede üst karın boşluğunun arka tarafında yerleşim gösterirler. Torakal 12–lumbal 3. vertebralar arasında uzun eksenleri omurgaya paralel olacak şekilde uzanırlar. Karaciğerin yerleşimi nedeniyle sağ böbrek sola kıyasla biraz daha aşağı konumludur. Yaklaşık olarak her biri 120-150 gram ağırlığında, boyu 12 cm, eni 6 cm, kalınlığı 3 cm olup vücut ağırlığının yaklaşık % 0.4'ünü oluşturular. Böbrekler yağ ve bağ dokusu içerisine gömülü olup ön yüzleri periton ile kaplıdır. Böbrekler erişkin sağlıklı bir insanda kalp debisinin yaklaşık 1/5'ini alırlar. Renal arter böbreğe ulaştıktan sonra interlober, arkuat, interlobuler (radial) ve afferent arteriyoller şeklinde dallanır (**Şekil 1.1**) (Arıncı K, 2001; Textbook & Physiology, 2011).

Her bir böbrek yaklaşık olarak iki milyon adet nefron içerir. Her bir nefron tek başına idrar oluşturma kapasitesine sahip olup glomerül ve tübül denilen iki ana kısımdan oluşur (Textbook & Physiology, 2011). Böbrek dış kapsüle yakın kısmına korteks, iç kısmına ise medulla denir. Glomerüller, proksimal ve distal tübüller ile henle kulpunun bir kısmı kortekste bulunurken, toplayıcı kanallar, henle kulpunun diğer kısmı ve vaza rektalar medullada yerleşim gösterirler (**Şekil 1.2**) (Textbook & Physiology, 2011).

Üreter ve damarlar böbreğe medial yüzde bulunan hilus denen kısımdan önden arkaya doğru ven, arter ve renal pelvis şeklinde girerler. Üreterin böbreğe girmeden genişlemiş kısmına renal pelvis denir ve iki ya da üç majör kaliksten meydana gelir. Bu majör kaliksler de minör kalikslerden oluşur (Junqueira Jose Carneiro, Robert O,K, 2012).



Şekil 2.1. Böbrek damarlarının anatomisi



Şekil 2.2. Böbrek nefronunun yapısı.

2.1.2. Böbreğin Embriyolojisi ve Histolojisi

Böbrekler; fetal hayatta pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olarak adlandırılan üç aşamalı bir dönüşüm sürecinden geçerek meydana gelirler. Yaklaşık 9. haftada metanefrozdan gelişen böbrekler fonksiyon görmeye başlar ve oluşturdukları idrar amniyon sıvısına karışır. Kalıcı böbrekler, metanefrik divertikül (üreter tomurcuğu) ve ara mezoderminmetanefrik kısmından (metanefrik blastem) gelişirler. Üreter tomurcuğundan, üreter, renal pelvis, kaliksler ve toplayıcı tübüller gelişir. Renalkorpuskül (glomerül ve kapsülü), proksimal ve distal tübül ve henle kulpu ise metanefrik mezodermden gelişir (Keith L Moore, T V N Persaud, 2016; Schoenwolf G, Bleyl SB, 2009).

2.1.3. Böbreğin Fizyolojisi ve Biyokimyasal Fonksiyonları

Böbrekte idrar oluşumunun filtrasyon, geri emilme (reabsorbsiyon) ve salgılama (ekstresyon) olmak üzere üç aşaması vardır. Glomerüle gelen kanın protein ve hücresel elemanları hariç geri kalan kısmı Bowman kapsülü içerisine süzülür. Glomerüllerde birim zamanda süzülen plazma miktarı GFH'nı gösterir ve normal değeri 125 ml/dk'dır. Böbrekler günde yaklaşık 180 litre plazmayı filtre ederken sadece 1-1.5 litre idrar çıkışı sağlarlar. Çünkü filtre edilen plazmanın büyük kısmı tübüllerde (% 90'ı proksimal tübülde) tekrardan emilir. Bazı ilaçlar gibi bir kısım maddeler tübüllerden idrara salınırken, kreatinin gibi bir takım maddeler de hem glomerüllerden filtre olup hem de tübüllerden sekresyona uğrarlar (Textbook & Physiology, 2011).

Böbreklerin sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, ilaçların ve atık maddelerin vücuttan uzaklaştırılması, hormon (eritropoietin, 1,25 hidroksi vitamin D gibi) salgılanması gibi görevleri vardır (Reiser IW, 2001; Textbook & Physiology, 2011).

2.2. BÖBREK İSKEMİ/REPERFÜZYON HASARI

Böbrek, yüksek perfüzyonlu ve iskemi/reperfüzyon (I/R) hasarına duyarlı bir organdır. Klinik olarak iskemi; azalmış kardiyak output, renal vasküler oklüzyon veya tıkanıklık, cerrahi işlemler ve böbrek nakli gibi durumlarda ABH'nın önde gelen nedenidir (Wei, Qi. & Dong, 2012). İntravasküler volüm azalması ve hipotansiyon, hepatorenal sendrom, renal vasküler hastalıklar, efektif intravasküler volümde azalma, ilaçlar ve sepsis gibi nedenler böbrekte başlıca iskemi nedenleridir. Böbrek I/R hasarı

başlıca tübül ve stromada görülür, hücresel şişme, nekroz, ve renal tübüler epitel hücrelerinin dökülmesi, renal tübüler lümende genişleme, interstisyel inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ile protein ve eritrositlerin lümende görülmesi ile karakterizedir (Zang ve ark., 2014). I/R sonrası hücre hasarı mekanizması, tübüler ve vasküler anormallikler arasında bir etkileşim sonucu inflamatuvar mediatörlerin ve oksidatif stres belirteçlerinin artan salınımını içerir (Legrand & Ince, 2008; Mertoğlu ve ark., 2016). İskemi durumunda endotel hasarı meydana gelince, böbrek içindeki küçük arterioller normal böbrek damarlarından daha fazla endotelin-1, anjiyotensin II, tromboksan A2, prostaglandin H2, lökotrienler C4 ve D4, tümör nekrozis faktör- α (TNF- α), IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, IL-32 ve adenosin salgılar. Vazokonstriksiyon, nitrik oksit ve diğer vazodilatatör maddelerin üretimi azaldığı için kısmen artar (Badr, Kelley, Rennke, & Brenner, 1986; Schor, Ichikawa, & Brenner, 1981). Endotelial-lökosit etkileşimlerine bağlı küçük damar tıkanıklığı ve koagülasyon sisteminin aktivasyonu ile birlikte gelişmiş vazokonstriksiyon, özellikle dış medullada mikro-dolaşım ve bölgesel iskeminin lokal olarak uzamasına neden olur. Yine nötrofiller, monositler, makrofajlar ve T hücreleri salgıladıkları inflamatuvar medyatörler ile iskemik böbrek hasarına önemli katkıda bulunurlar (Bonventre & Yang, 2011; C. Mertoglu, ve ark., 2018). Proksimal tübülün reabsorbsiyon işlemini gerçekleştirebilmesi için gerekli olan ATP'nin azalması nedeniyle Na⁺-K⁺ ATPaz pompası görevini yapamaz ve sonucunda hücre içinde artan sodyum beraberinde su çekerek hücrenin şişmesine ve ölümüne yol açar (Sheridan & Bonventre, 2000).

2.3. AKUT BÖBREK HASARI

ABH, böbrekte oluşan ani fonksiyon kaybına bağlı olarak üre ve diğer azotlu atık ürünlerin vücuttan atılamaması, hücre dışı sıvı hacmi ve elektrolit içeriğinin bozulmasıyla sonuçlanan bir klinik tablodur (Hoste ve ark., 2006). Son yıllarda Akut Böbrek Yetmezliği (ABY) terimi yerine ABH kullanılmaya başlanmıştır. “yetmezlik” kelimesi böbreğin majör fonksiyonu olan glomerüler filtrasyondaki bozulmaya işaret eder. Glomerüler filtrasyonda bozulmanın tanısı ise ancak saatler hatta günler sonra endojen filtrasyon belirteçleri olan kan üre azotu (BUN) ve serum kreatininindeki artmadan sonra konulabilir. “Hasar” tanısı ise glomerüler filtrasyonda bir azalmayı göstermeyebilir. ABH tanısında daha GFH’nda azalma olmadan hücresel hasarı

gösterebilecek yeni tanı belirteçlerine gereksinim vardır. Kardiyoloji ile bir benzetme yapacak olur isek; kardiyologlar miyokard infarktüsünü göstermek için kalp yetmezliği gelişmesini beklemek yerine, miyokard hasarını gösterecek doku spesifik biyobelirteçlerin serum düzeylerinin artışı tanıda kullanılmaktadırlar (S S Waikar & Bonventre, 2008).

Böbrek dokusunun iskemik ve nefrotoksik hasara biyolojik cevabı ABH erken tanısında kullanılabilir. İdrar kolayca elde edilebilir ve ABH tanısında idrar ve plazmadan daha fazla ümit vaad eden biyolojik bir belirteçdir. İskemik ve nefrotoksik hasara tübüler hücrelerin cevabı olarak, tübüler reabsorpsiyonda ve filtre edilen moleküllerin katabolizmasında bozulma, tübüler hücrelerden salınan enzim ve eksozomlarda artma nedeniyle idrar böbrek hasarı için sensitif ve spesifik belirteçleri içerebilir (S S Waikar & Bonventre, 2008).

Akut böbrek hasarı (ABH) hastanede yatan hastalarda ve kritik ağır hastalardasık görülür ve insidansı giderek artmaktadır. Yoğun bakım hastalarının yaklaşık% 45'inde hastanede yatan hastaların ise % 20'sinde ABH gelişir (Kam Tao Li, Burdman, Mehta, & World Kidney Day Steering Committee 2013, 2013). Bu durum, hastane yatışlarında, infeksiyon komplikasyonlarında, mortalitede, ekstra renal organ hasarında, kronik böbrek hastalığı (KBH) gelişiminde ve maliyette artış ile sonuçlanır (Feltz, Van Eyk, & Rabb, 2008; Singbartl & Kellum, 2012). Sepsis, iske mi, ilaçlar, intravenöz kontrast ve enfeksiyon gibi çok sayıda faktör ABH gelişimine katkıda bulunur (United States Renal Data System, 2016).

Böbrek hasarı, prerenal, intrarenal ve postrenal olmak üzere üç kategoriye ayrılabilir. Hipoperfüzyon (örneğin hipotansiyon neden olduğu) prerenal azotemiye yol açar ve prerenal azotemi de böbrek hasarına ilerleyebilir. Bu yüzden, münferit gerçek prerenal bir durumun, böbrek hasarı için tek başına sorumlu olup olmadığı klinik olarak genellikle belirsizdir. Akut glomerülonefritte primer intrarenal hasar görülür. Bu nedenle prerenal ve intra renal böbrek hasarı arasındaki ayrım genellikle zordur. Postrenal böbrek hasarı genellikle üst veya alt idrar yolunda herhangi bir seviyede idrar çıkışının tıkanması ile tetiklenir. İntrarenal ABH'nın başlıca patolojik korelasyonu akut tübüler nekrozdur (ATN). Prerenal azotemi ve ATN aynı patofizyolojik süreçten geçer ve her ikisi de tüm ABH vakalarının dörtte üçüne neden olur (Urbschat, Obermüller, & Haferkamp, 2011).

Yapısal böbrek yaralanmalarının erken ve güvenilir biyobelirteçleri olmaması, klinik teşhiste kabul edilemez bir gecikmeyle sonuçlanmakta, bu da hızlı bir terapötik yaklaşımı sınırlamaktadır. ABH tanısı için ideal bir biyobelirteç; idrar veya kan kullanılarak non-invaziv ölçülebilen, hızlı ve ucuz, klinik kullanıma uyarlanabilir, hasar daha kısıtlı iken tesbit edebilen özelliklerde olmalıdır. Yine, renal hasarın mekanizmasını aydınlatabilen, etyolojik nedeni tesbit edebilen, tubüler veya böbreğin diğer kısımlarının hasarının lokalizasyonunu gösterebilen, erken tanıya duyarlı, risk sınıflandırmasını gösteren, prerenal-renal-postrenal hasar ayırımı yapabilen, ABH'nı KBH'ndan ayırabilen, hasarın derecesiyle korelasyon gösterebilen, gelişebilecek komplikasyonları, klinik sonuçları ve tedavinin etkinliğini kestirebilen özellikler erken ABH tanı belirtecinde aranan özelliklerdir (Clerico, Galli, Fortunato, & Ronco, 2012; Devarajan, 2010).

ABH erken tanısında ümit vaat eden, idrar ve plazmada ölçülebilen bazı biyobelirteçler şunlardır; NGAL, KIM-1, karaciğer - yağ asiti bağlayıcı protein (L-FABP), IL- 18, sistatin-c, IL-6, α/π glutatyon S transferaz (GST) ve N-asetil- β -glukozaminidaz (NAG) (Murray ve ark., 2014; Siew ve ark., 2011). Son yıllarda, idrar insülin benzeri büyüme faktörü bağlanma proteini-7 (IGFBP-7) ve doku metalloproteinaz inhibitörü-2 (TIMP-2) yine ön plana çıkan hücre döngü proteinleridir (Aregger ve ark., 2014; K. Kashani ve ark., 2013).

ABH tanısında araştırılan belirteçler ile ilgili problemlerden bazıları şunlardır; yapılan çalışmalar küçük hasta gruplu, tek merkezli, ağırlıklı olarak kardiyopulmoner bypass cerrahisi geçirmiş ya da kontrast almış hastalardan oluşmaktadır. Karşılaştırmalar serum kreatinini ile yapıldığı için tanı değeri zayıf kalmaktadır ve yeni testlerin maliyetleri henüz pahalıdır. Deney hayvanları üzerindeki çalışmalar; çalışmaya alınan deney hayvanı sayılarının az olması, farklı hasar modelleri oluşturulmaması ve yine karşılaştırmalar serum kreatinini ile yapılması gibi nedenlerle yetersizdir (Dieterle ve ark., 2010).

2.3.1. ABH Tanı Kriterlerive Sınıflandırılması

2.3.1.1. RIFLE Sınıflaması

Akut diyaliz kalite girişim grubunun (Acute Dialysis Quality Initiative Group, ADQI) belirlediği özellikler baz alınarak 2004 yılında RIFLE sınıflandırmasının

kriterleri oluşturulmuştur (Bellomo ve ark., 2004). RIFLE; risk (**R**isk), hasar (**I**njury), yetmezlik (**F**ailure) ve kayıp (**L**oss), son dönem böbrek hastalığı (**E**nd stage renal disease, ESRD) kelimelerinin İngilizce karşılıklarının başharflerinden oluşturulmuştur. RIFLE sınıflandırması tanı kriterleri Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Akut böbrek hasarı sınıflamasında RIFLE kriterleri

Sınıf	GFH kriteri	İdrar çıkış kriteri
R- Risk	Kreatinin artışı 1,5 kat ya da GFH azalması > % 25	< 0,5 ml/kg/sa (6 saat)
I-Injury	Kreatin artışı 2 kat ya da GFH azalması > % 50	< 0,5 ml/kg/sa (12 saat)
F- Failure	Kreatinin artışı 3 kat ya da GFH azalması > % 75 ya da Kreatinin değeri 4mg/dl ya da Kreatinin artışı > 0,5mg/24 saat	< 0,3 ml/kg/sa (24 saat) (oligüri) yada anüri (12 saat)
L- Loss	Israrcı akut böbrek yetmezliği > 4 haftada böbrek fonksiyonların bütünüyle kaybolması	
E- ESRD	> 3 ayın üzerinde böbrek fonksiyon kaybının devam etmesi.	

2.3.1.2. AKIN Kriterleri

Acute Kidney Injury Network (AKIN) grubu tarafından 2007 yılında RIFLE kriterleri tekrar gözden geçirilerek ABH üç evreye ayrılarak sınıflandırılmıştır (Mehta, ve ark., 2007). AKIN kriterleri Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Tablo 2.2. Akut böbrek hasarı sınıflamasında AKIN kriterleri.

Evre	Serum kreatinin kriteri	İdrar çıkış kriteri
1	Kreatinin artışı 1,5- 2 kat yada >0,3 mg/dl (48 saat içerisinde)	<0,5 ml/kg/sa (6 saat)
2	Kreatinin artışı 2-3 kat	<0,5 ml/kg/sa (12 saat)
3	Kreatinin artışı 3 kat yada >4mg/dl (akut artış>0,8mg/dl)	<0,3 ml/kg/h (24saat) yada anüri (12 saat)

2.3.1.3. Kidney Disease, Improving Global Outcomes (KDIGO) Sınıflaması

RIFLE ve AKIN kriterleri temelinde, 2012 yılında KDIGO'nun (Kidney Disease Improving Global Outcomes) ABH için standart bir tanımlama getirilmiştir (Kellum ve ark., 2012). Buna göre; ABH tanısı son 48 saat içinde serum kreatinin düzeyinde ≥ 0.3 mg/dl artış olması ya da son 7 gün içerisinde serum kreatinin düzeyinde bazale göre ≥ 1.5 kat artış olması veya son 6 saatte idrar çıkımının < 0.5 ml/kg/sa olması ile konulur (**Tablo 2.3**).

Tablo 2.3. Akut böbrek hasarı sınıflamasında KDIGO kriterleri

Evre	Serum kreatinin düzeyi	İdrar miktarı
1	Bazal değerden 1,5- 1,9 kat artış ya da $\geq 0,3$ mg/dl artış	6- 12 saat $<0,5$ ml/kg/sa
2	Bazal değerden 2,0- 2,9 kat artış	≥ 12 saat $<0,5$ ml/kg/sa
3	Bazal değerden 3 kat artış yada Serum kreatinin $> 4,0$ mg/dl yada RRT başlaması yada <18 yaş hastalarda GFH <35 ml/dk/1,73	≥ 24 h $<0,3$ ml/kg/sa yada ≥ 12 saat anüri

RRT: Renal Replasman Tedavisi, GFH: Glomeruler Filrasyon Hızı

2.4.AKUT BÖBREK HASARINDA ERKEN TANI BİYOBELİRTEÇLERİ

2.4.1. Kreatinin

Kreatinin, kas metabolizması sonucu kreatinden oluşur ve bu nedenle kas kitlesine bağlı olarak kreatinin düzeyi farklılık gösterir. Kreatinin yaklaşık % 10-15 oranında tübüller sekresyona uğrar. İleri böbrek hastalığında bu oran daha da artar. Böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede üreye göre daha güvenilir sonuçlar verir (Reiser IW, 2001).

Güncel olarak ABH tanısında klinik pratikte kullanılan plazma kreatinini nonspesifik ve insensitif bir belirteçdir. Plazma kreatinini, hasardan günler sonrasına kadar ve böbrek fonksiyonunun% 50'si kayboluncaya kadar artmayabilir. ABH'nı saptamada bu gecikme, geri dönüşümsüz böbrek hasarı meydana gelmeden önce uygun tedavi yönetimini kısıtlamakta ve böbrek hasarının erken dönemlerinde müdahalede gecikme anlamına gelmektedir (Clerico ve ark., 2012). Plazma kreatinini GFH'nı doğru olarak belirleyememektedir. Yine plazma kreatinini; kas kitlesi, yaş, cinsiyet, karaciğer fonksiyonları, protein alımı, hidrasyon durumu, ilaç kullanımı gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Haase-Fielitz, Haase, & Devarajan, 2014; Sushrut S. Waikar ve ark., 2009). Yine düşük glomerüler filtrasyon hızlarında, kreatininin tübüler sekresyonu böbrek fonksiyonunun olduğundan yüksek gösterilmesine yol açar (Urbschat ve ark., 2011).

Plazma kreatininin tek bir ölçümü; normal böbrek fonksiyonu, ABH, KBH ve dehidratasyon ile gelişen geçici azotemi arasında ayırım yapamaz (Haase-Fielitz ve ark., 2014). Sonuç olarak böbrek fonksiyonunun doğru bir değerlendirmesi ve ABH'nın erken tespiti için kreatinden daha güvenilir biyobelirteçler gerekmektedir (Clerico ve ark., 2012).

2.4.2. Kan Üre Azotu (BUN)

BUN, üre içerisindeki nitrojeni ifade etmektedir. Üre ise protein metabolizması sonucunda karaciğerde amonyaktan sentezlenir. Üre değeri, BUN değerinin 2.14 ile çarpılması sonucu çıkan değere eşittir. Tübüller reabsorpsiyonu nedeniyle böbrek fonksiyonu hakkında yanıltıcı olabilmektedir (Reiser IW, 2001).

ABH tanısı genellikle serum BUN ve kreatininin ölçümlerine dayanır. Ancak her ikisi de ABH tanısı için çok duyarlı veya spesifik değildir. Çünkü bunlar böbrek hasarı veya böbrek fonksiyonundan bağımsız olarak böbrek ve böbrek dışı birçok faktörlerden etkilenirler. Yüksek proteinli bir diyetle üre üretiminin artışı bir korelasyon göstermez. Kanama, travma ya da glukokortikoid tedavisine bağlı artmış doku yıkımı, kronik ya da anlık besin alımı BUN düzeyini artırır. Buna karşılık, düşük proteinli bir diyet ve/veya ileri düzeyde karaciğer hastalığı, GFH'nda halihazırda var olan bir düşüşe rağmen, GFH'nda değişiklik olmadan BUN'u düşürebilir (Urbschat ve ark., 2011).

2.4.3. Tübüler disfonksiyon belirteçleri ve enzimleri

Proksimal tübüler epitel hücrelerinin apikal yüzeyi çok sayıda mikrovillus içerir ve fırçamsı kenarını oluşturur. Aynı zamanda proksimal tübülün özel görevlerini yürütmek için enzimatik fonksiyonlara sahip proteinler içerir. İntrasellüler bu enzimler hasarla beraber egzozitozla veya sızma şeklinde idrara salınırlar (D'Amico & Bazzi, 2003). Bu proteinler serbest ya da membranla kaplı egsozom şeklinde olabilir. Birkaç farklı sınıf enzim bulunabilir: NAG gibi lizozomal proteinler, gama glutamil transferaz (GGT) ve alkalin fosfat (ALP) gibi fırçamsı kenar enzimleri, α -GST gibi sitozolik proteinler. Yine, proksimal tübüler epitel hücreleri zedelendiğinde, sistatin c'yi düzgün bir şekilde metabolize edemezler ve filtre edilen intakt sistatin c idrarda görülebilir. Benzer şekilde hasar gören hücreler, α_1 ve β_2 mikroglobülin gibi düşük molekül ağırlıklı proteinleri tamamen reabsorbe edemezler ve serbestçe idrara filtre ederler (S S Waikar & Bonventre, 2008).

Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa İlaç Acentası (EMA) 2009 yılında, idrar total proteini, albümin, KIM-1, clusterin, β_2 mikroglobülin, sistatin c ve trefoil faktör 3 gibi bir takım idrar biyobelirteçlerini, klinik olmayan ilaç geliştirmelerinde ABH tanısında kullanılmasını onaylamıştır (Zhou ve ark., 2014). Ancak idrarda bulunan tübüler enzimler uzun yıllardır ABH tanı belirteci olarak çalışılmasına rağmen erken tanı belirteci olarak yaygın klinik kullanıma girmemiştir.

2.4.4. Myo-İnositol Oksijenaz

2.4.4.1. İnositol

İnositol, serbest formda ya da fosfolipidlerin ya da inositol fosfat türevlerinin bağlı bileşenlerinden biri olarak, hayvan ve bitki hücrelerinde doğal olarak bulunan bir siklitoldür. İnositol, çeşitli hücresel süreçlerde, ökaryotik hücrelerde ikincil habercilerin yapısal bileşeni olarak ve özellikle inositol trifosfatlar (IP3), fosfatidil inositol fosfat lipidleri (PIP2/PIP3) ve muhtemelen inositol glikanlar olarak önemli bir rol oynar. Bu nedenle inositol, esas olarak izomerik formda MI, hücre büyümesi ve sağkalımı, periferik sinirlerin gelişimi ve işlevi, osteogenez ve üreme dahil olmak üzere çok çeşitli hücre fonksiyonlarının düzgün çalışması için önemlidir (Croze & Soulage, 2013).

2.4.4.2. *Biyolojik formlar ve diyet kaynakları*

İnositol veya sikloheksan-1,2,3,4,5,6-heksol, altı hidroksil grubunun uzamsal oryantasyonuna bağlı olarak dokuz stereoizomerik form altında bulunan bir polioldür (**Şekil 2.3**). MI veya cis-1,2,3,5-trans-4,6-sikloheksanheksol, doğada ve gıdalarımızda bulunan inositolün baskın izomerik formudur (Croze & Soulage, 2013). Myo-inositol'un eskiden B vitamini ailesine ait olduğu düşünülmüştür. Ancak D-glukozdan insan vücudu tarafından yeterli miktarda üretildiği için, artık temel bir besin olarak kabul edilmemektedir. Hayvansal ve bitkisel kaynaklarından elde edilen besinler, serbest formda MI, inositol içeren fosfolipid (fosfoinositidler) veya fitik asit (inositol hexaphosphate veya IP6) şeklinde MI içerebilirler (Holub, 1986).

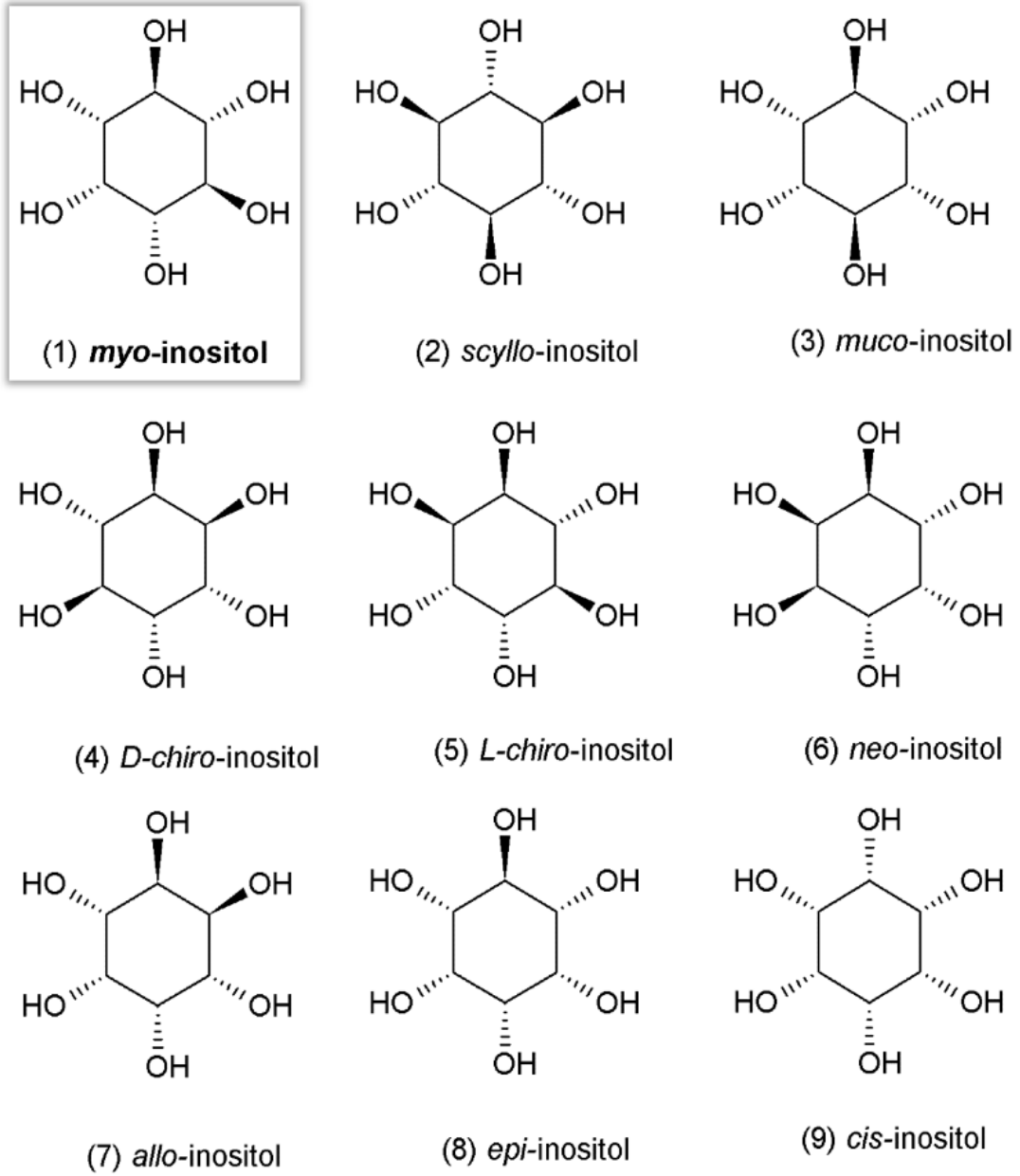
2.4.4.3. *Myo-inositolün denovo biyosentezi*

Myo-inositol sıçan testis, beyin, böbrek ve karaciğerinde D-glikozdan üç basamakta endojen olarak sentezlenebilir. İlk olarak glikoz heksokinaz tarafından fosforile edilir, ikinci olarak glukoz-6-fosfat 1-D-miyo-inositol-fosfat sentaz (MIPS) ile miyo-inositol-1-fosfata dönüştürülür ve son olarak miyo-inositol-1-fosfat inositol monofosfataz (IMPase) tarafından fosforile edilerek serbest MI üretilir (**Şekil 2.4**) (Meng ve ark., 2009).

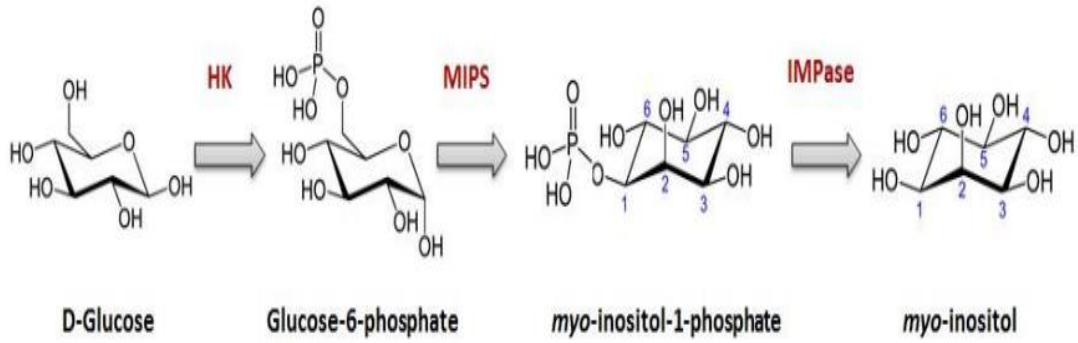
2.4.4.4. *MI katabolizması*

Myo-inositol yalnızca böbrekte MIOX enzimi tarafından D-glukuronik aside katabolize edilir. D-glukuronik asit de pentoz fosfat döngüsüne giren D-ksiluloz-5-fosfata dönüşür (**Şekil 2.5**). MIOX tarafından katalize edilen MI'nın D-glukuronik aside dönüşümü geri dönüşümsüzdür ve yolun hız sınırlayıcı basamağıdır (R J Arner ve ark., 2001).

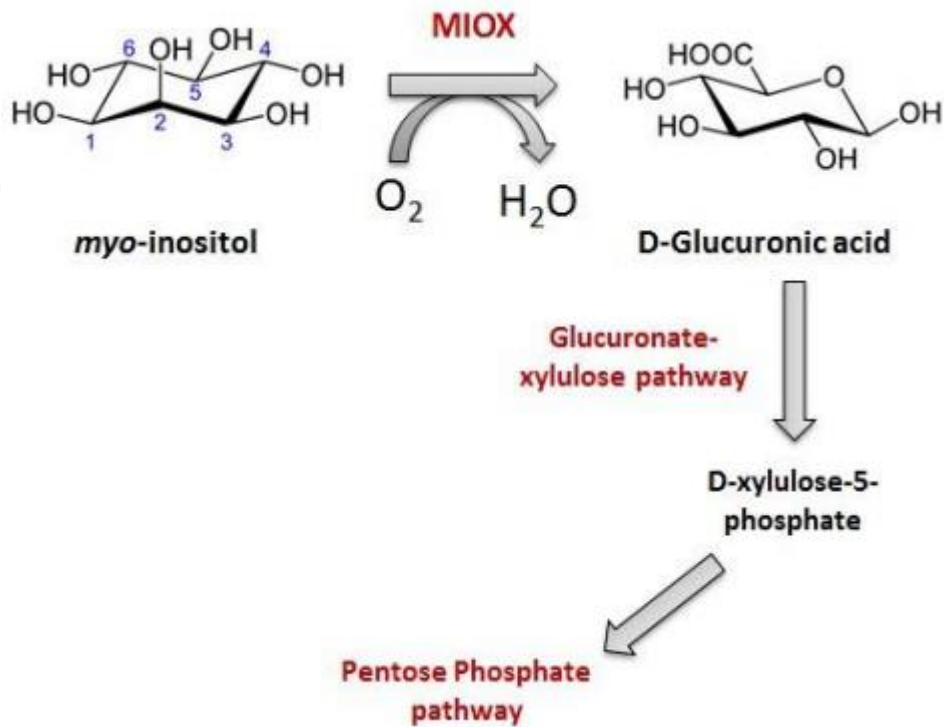
Bilateral nefrektomi yapılan sıçanlarda, inositol katabolizmanın tek yolu böbrekte yer aldığından myo-inositol katabolizması meydana gelmemiştir. Beklendiği gibi, nefrektomi uygulanan sıçanlarda inositol CO₂'ye dönüştürülmemesine rağmen, sham grubu sıçanlarda enjekte edilen inositolün bir kısmı CO₂'ye katabolize edilmiştir. Nefrektomiye tabi tutulan farelerin test edilen organlarının çoğunda daha fazla radyoaktif işaretli myo-inositol biriktiği görülmüştür. Çünkü uygulanan inositolün önemli bir kısmı normal olarak böbrek tarafından metabolize edilir veya atılır (Lewin, & Kraicer, 1976).



Şekil 2.3. İnositolün dokuz izomerinin yapıları. İnositol, hidroksil gruplarının epimerizasyonuna bağlı olarak dokuz farklı stereoisomerik formda bulunur. Myo-inositol (çerçeveseli), gıda maddelerinde ve hayvan dokularında bulunan inositolün en yaygın izomeridir.



Şekil 2.4. Myo-inositolün D-glukozdan de novo biosentezi



Şekil 2.5. Böbreklerde myo-inositol katabolizması

2.4.4.5. Myo-inositol oksijenaz (MIOX)

MIOX (MIOX, EC 1.13.99.1), MI endojen katabolizmasının yegane yolundaki ilk kararlı adımı katalize eden 33 kDa monomerik bir proteindir. MI'in epimeri olan D-chiroinositol de ayrıca MIOX için bir substrattır (R J Arner ve ark., 2001). MIOX ilk olarak 1957 yılında farelerin böbrek ekstrelerinde keşfedilmiştir (Charalampous & Lyras, 1957). Howard ve Anderson, nefrektomili sıçanların MI'ı CO₂'ye dönüştüremedikleri için böbreğin MIOX aktivitesinin ana bölgesi olduğunu bildirdiler (Howard & Anderson, 1967). MIOX aktivitesinin, anti-MIOX antikoru kullanılarak yapılan Western blot tekniğinde ekstrenal dokularda saptanabilir bir sinyal göstermediği için, sadece böbrek içinde bulunduğu kabul edilmektedir (Charalampous & Lyras, 1957; Gaut ve ark., 2014; Hankes, & Anderson, 1970). Yine MIOX'un böbrek proksimal tübülünde lokalize olduğu gösterilmiştir (Hu ve ark., 2000; Q. Yang ve ark., 2000). Ancak lens, karaciğer, sinir ve retina da çok az miktarda MIOX ekspresyonu olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (Ryan J. Arner, Prabhu, Krishnan, Johnson, & Reddy, 2006; Goode, Lewis, & Crabbe, 1996).

MIOX başlangıçta keşfedildikten sonra, rat böbreğinden saflaştırıldığında hızlıca normal aktivitesini kaybettiği görüldü. Enzimatik karakterizasyonun çoğu, Reddy ve arkadaşları tarafından saflaştırılmış MIOX'ın demir iyonu ve sisteinle ön inkübasyonunun enzimi stabilize ettiği ve yeniden aktifleştirdiği tespit edilene kadar gerçekleştirilmemiştir (Reddy, Pierzchala, & Hamilton, 1981). Bu keşif, MIOX'ın hem in vitro hem de in vivo fonksiyonel karakterizasyonuna izin verdi (R J Arner et al., 2001). İlk zamanlar renal spesifik oksidoredüktaz (RSOR) olarak bilinen, ağırlıklı olarak böbrek tübüllerinde ekprese edilen ve sitozolik bir protein olan RORS ile MIOX'ın aynı protein olduğu anlaşılmıştır (R J Arner ve ark., 2001; Nayak ve ark., 2005).

MIOX'ın yapısı

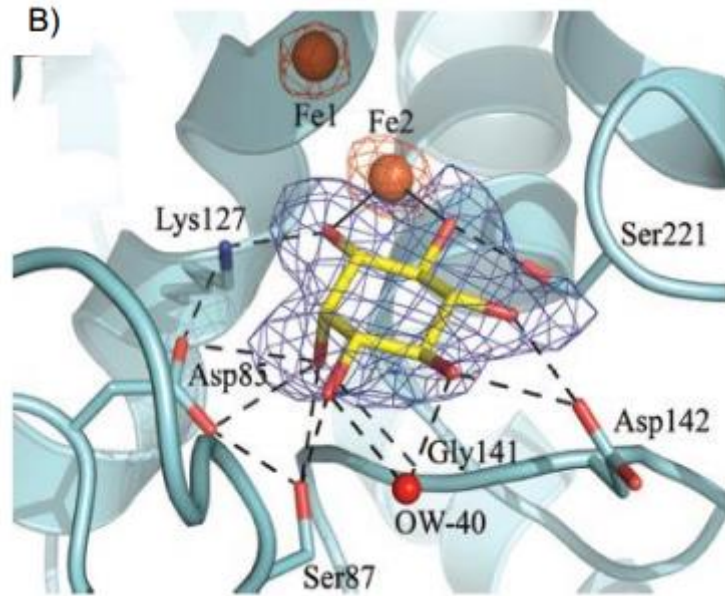
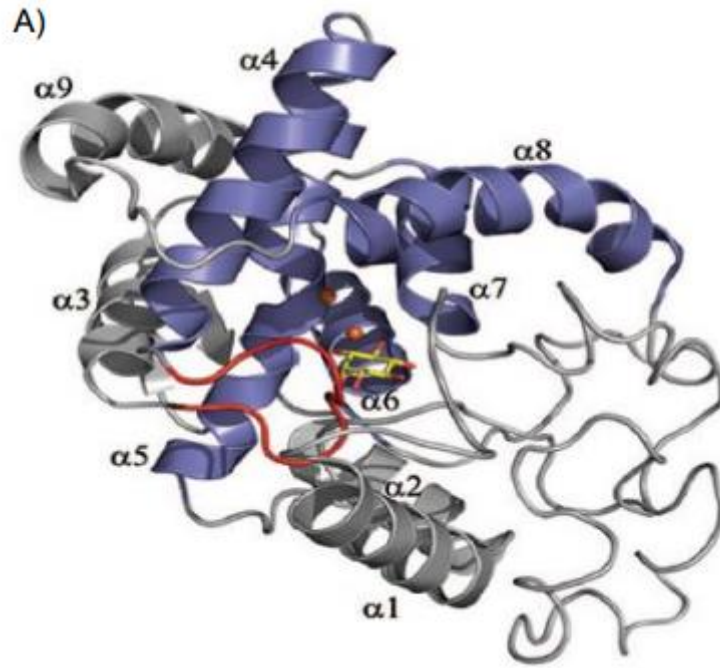
Sıçan, fare, domuz ve insan MIOX genlerinin amino asit sekansı hizalaması yüksek bir dizi özdeşlik düzeyi göstermektedir. Özellikle, sıçan MIOX'ın amino asit dizisi, fare dizisine % 96 ve insan dizisine % 90 oranında benzerlik göstermektedir (R J Arner ve ark., 2001).

Fare MIOX'ın MI ile kompleks yapısı, X-ışını kristalografisi ile çözülmüştür (Brown ve ark., 2006). MIOX'ın açıklanan yapısı, MIOX'ın 9 α heliks içeren tek ve

çoğunlukla sarmal bir şekilde katlanan monomerik bir enzim olduğunu ortaya koydu. Yapısal çekirdeği oluşturan ve iki demir içeren aktif bölgesi, beş heliks içinde ($\alpha 4$ ile $\alpha 8$) gömülüdür (**Şekil 2.6A**). Aktif bölge oksijenazlar için olası bağlanma bölgeleri olarak tanımlandı. MIOX'ın aktif bölgesinin yapısal analizi, Asp 85, Ser 87, Lys 127, Asp 142 ve Ser 221 kalıntılarının MI ile doğrudan koordineli olduğunu ortaya çıkardı (Brown et al., 2006) (**Şekil 2.6B**). MIOX'ın enzim aktivitesi, serin/treonin kalıntılarının fosforilasyonuna bağlıdır (Nayak ve ark., 2011). MIOX'un katalitik mekanizması, biyolojik sistemlerde hem demiri olmayan internal mono-oksijenazlar arasında benzersizdir ve MIOX'in yaptığı gibi oksidatif glikol bölünme reaksiyonunu katalize eden çok az sayıda enzim vardır. MIOX tarafından katalizlenen bu reaksiyonda, sadece bir oksijen atomunun transferiyle dört elektron oksidasyonu olur. Bu yüzden MIOX hem bir oksidaz hem de bir oksijenaz olarak sınıflandırılabilir. MIOX, elektron transfer oksidaz, intramoleküler karışık fonksiyonlu oksijenaz ve internal monooksijenaz olarak tanımlanmıştır ki en uygun bu sonuncu tanımlama olan bir internal monooksijenazdır (Ryan J. Arner, Prabhu, & Reddy, 2004; Moskala, Reddy, Minard, & Hamilton, 1981). Bununla birlikte enzimin böbreklerden ayrıntılı mekanik çalışmalar için yeterli miktarda saflaştırılmasının güçlüğü çok sayıda araştırmacıyı hayal kırıklığına uğrattı. Sonuç olarak, araya giren onlarca yılda bu enzim üzerinde çok az ilerleme kaydedilmiştir (R J Arner ve ark., 2001).

2.4.4.6. MIOX ve ABH

MIOX enzimi renal spesifik bir enzim olarak nadir organ spesifik enzimlerden birisi olmasına rağmen ilginç bir şekilde böbrek hastalıklarında MIOX enziminin yerini araştıran çalışma sayısı çok azdır. Özellikle ABH'da MIOX enziminin yerini araştıran çok az sayıda çalışma bu konuda ABH'nın erken tanısında MIOX enziminin potansiyel bir biyobelirteç olduğunu göstermiştir (Gaut ve ark., 2014; C. Mertoglu, Bozkurt, Keskin, & Gunay, 2018; C. Mertoglu, Gunay, Gurel, & Gungor, 2018).



Şekil 2.6. Rekombinant fare MIOX enziminin kristal yapısı. **A:** MIOX'ın stereo şerit diyagramı. MI substratına yakın olan halka kırmızıyla gösterilmiştir. **B:** MIOX'ın aktif bölgesinin görüntüsü. Turuncu küre Fe atomunu ve sarı çubuk molekülü MI'i temsil etmektedir. Bağlanma bölgesinde MI ile etkileşime giren kalıntılar, kırmızı ile vurgulanmış çubuk formundadır. Kesik çizgiler, MI ile yapılan hidrojen bağlarını temsil etmektedir (Brown ve ark., 2006).

2.4.5. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL)

2.4.5.1. NGAL Biyolojisi

NGAL bugüne kadar ABH tanısında en iyi çalışılmış üriner biyobelirteçlerden biridir. Lipit transport protein 2 (lipokalin-2), siderokalin veya 24p3 olarak da bilinir ve jelatinaza kovalent olarak bağlı polipeptit olarak tesbit edilmiştir (Devarajan, 2010). İnsan NGAL molekülü, 25 kDa'lık bir molekül ağırlığına sahip tek bir disülfürle köprülü polipeptitten oluşur. NGAL çoğunlukla monomerik bir formda bulunurken, aynı zamanda dimerler ve trimerlerin yanı sıra nötrofil jelatinaz ile kompleks halinde de bulunabilir. 25 kDa monomerik NGAL formu, hasarlı böbrek tübül epitel hücreleri tarafından salgılanırken, dimerik form nötrofiller tarafından salgılanan baskın formdur. NGAL için başlıca ligandlar, ferrik iyon-spesifik şelatlama bileşikler olan sideroforlardır. NGAL'in demir durumu biyolojik aktivitenin kritik bir belirleyicisidir. Demir içeren NGAL, megalin gibi hücre yüzey reseptörlerine bağlanır, içeri alınır ve bağlı demirini serbest bırakır. Aksine, demir bağlı olmayan NGAL aynı reseptörlere bağlanır, ancak şelatlar ve hücre içi demir onu hücre dışı alana götürür. NGAL, apoptozun zayıflaması, böbrek tübül epitel hücreleri ve nefronlarının diferansiasyonu dahil olmak üzere bir çok biyolojik süreçlerde yer alır. Nefrogenез sırasında NGAL-siderofor-demir kompleksi renal progenitörleri epitel tübüllere dönüştürür (Haase-Fielitz ve ark., 2014).

2.4.5.2. NGAL ve ABH

NGAL ilk olarak insan nötrofillerinin granüllerinde bir protein olarak keşfedildi ve yapılan çalışmalar iskemik ve nefrotoksik böbrek hasarının erken belirteci olma potansiyelini gösterdi (Mishra ve ark., 2003). NGAL, kemik iliği, rahim, prostat, tükürük bezi, mide, kolon, trakea, akciğer, karaciğer ve böbrek gibi birçok insan dokusunda düşük düzeyde ekspresyon edilir (Cowland & Borregaard, 1997; Haase-Fielitz ve ark., 2014). NGAL, ABH'nın erken tanısı için ve klinik sonuçların tahmini için diyaliz gereksinimi, mortalite, yoğun bakım gereksinimi, kalp cerrahisi, ilaçlar, toksik maddelerle oluşan böbrek hasarı, böbrek nakli gibi durumlarda hem plazma hem de idrarda birkaç yöntemle ölçülebilir (Clerico ve ark., 2012). NGAL ekspresyonu, insanlarda ve rodentlerde renal tübül hasara cevap olarak 1000 kat artmaktadır ve idrarda ve serumda böbrek yetmezliğinin erken biyobelirteci olarak çok hızlı görünmektedir (Schmidt-Ott ve ark., 2007). Birçok çalışmada serum ve idrar NGAL'ın,

özellikle kardiyak cerrahi, radyokontrast maruziyeti ve yoğun bakım hastaları gibi böbrek hasarının gelişmesi muhtemel durumlarda, ABH için erken bir belirteç olarak yararlı olduğu gösterilmiştir (Cruz ve ark., 2010). Ayrıca NGAL düzeyinin, ABH'nın süresi ve şiddeti, diyaliz gereksinimi, yatış süresi ve mortalite gibi klinik gidişat açısından prognostik değeri vardır (Devarajan, 2010). Fakat sistemik strese yanıt olarak önemli böbrek dışı dokular tarafından NGAL üretimi, ABH yokluğunda da idrar NGAL atılımını artırabilir ve bu ayrıca kronik renal hastalıktan da kaynaklanabilir (Haase ve ark., 2009).

2.4.5.3. NGAL ölçümü için test yöntemleri: analitik özellikler ve performans

NGAL analiz yöntemlerinin analitik özelliklerini ve performansını doğru bir şekilde değerlendiren veya karşılaştıran az sayıda çalışma literatürde mevcuttur. Ayrıca, klinik çalışmaların çoğunluğu, NGAL testi için kullanılan yöntemin analitik performansı hakkında yetersiz veri rapor etmektedir. Bu bilgi eksikliği, NGAL ölçümünün analitik etkililiğinin ve güvenilirliğinin doğru bir değerlendirmesine ve karşılaştırılmasına izin vermemektedir. Özellikle kullanılan yöntemler, çalışma amacına yönelik olarak laboratuvarında açıkça belirlenmiş, standartlaştırılmış analizler (enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) veya immün blottlama sistemler gibi) değildir (Clerico ve ark., 2012).

Kan veya idrar örneklerinde NGAL ölçümü için kurulan ilk analitik prosedürler, ELISA ve immünoblotlama sistemlerine dayanmaktadır. Genel olarak bunlar, klinik rutin için tavsiye edilmeyen, ancak sadece araştırma çalışmaları için standartlaştırılmış manuel yöntemlerdir (Clerico ve ark., 2012). Bir hasta başı testi (POCT) yöntemi olan (Triage ® Bioste, Alere Health) hızlı bir ölçüm için ticari floresan tabanlı bir immün, EDTA'lı anti-koagüle tam kan veya plazma örneklerinde gerçekleştirilen bir testtir (yaklaşık olarak 30 dakika) (Cavalier ve ark., 2011). Son zamanlarda, bir CMIA (kemilüminesan mikropartikül immünoassay) yöntemi, idrar örneklerinde NGAL ölçümü için otoanalizör ARCHITECT (Abbott Diagnostics) kullanılarak ticari olarak piyasaya sürülmüştür (Cavalier ve ark., 2011).

2.4.6. Kidney Injury Molekül 1 (KIM-1)

KIM-1 38.7-kDa ağırlığında tip 1 transmembran glikoproteindir. KIM-1 normalde sağlıklı böbrekte ve diğer organlarda düşük düzeylerde ekspres edilir, ancak

ratlarda böbrek I/R hasarından sonra ekspresyonu dramatik olarak artmaktadır (Ichimura ve ark., 1998). İnsanlarda ve ratlarda başlıca proksimal tübül hücrelerinden salgılanmaktadır (Won K. Han, Bailly, Abichandani, Thadhani, & Bonventre, 2002; Ichimura ve ark., 1998). Proksimal tübül hasarında, plazma kreatinini, kan üre azotu, glukozüri, proteinüri, idrar NAG gibi konvansiyonel biyobelirteçlerden daha erken yükseldiği bulunmuştur (Vaidya, Ramirez, Ichimura, Bobadilla, & Bonventre, 2006). Proksimal tübül toksisitesi oluşturularak yapılan bir çalışmada, 21 üriner biyobelirteç arasında en yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olan KIM-1 olarak bulunmuş ve proksimal tübül toksisitesi için Receiver Operating Characteristic (ROC) analizinde eğri altında kalan alan (AUC) 0.99 olarak tesbit edilmiştir (S S Waikar & Bonventre, 2008). KIM-1 aynı zamanda renal hücreli karsinomlarda da fazla miktarda ekspresse olmaktadır (W. K. Han, 2005).

2.4.7. Sistatin-c

Sistatin c, tüm çekirdekli hücreler tarafından üretilen, 122 aminoasitten oluşan, düşük molekül ağırlıklı bir sistein proteinaz inhibitörüdür. Renal tübüller tarafından reabsorbe ve katabolize edilen, ancak sekrete edilmeyen bir moleküldür (Laterza, Price, & Scott, 2002). Yaş, cinsiyet ve kas kitlesinden etkilenmemesi kreatinine göre üstün bir özelliktir (Filler ve ark., 2005). Ayrıca, sistatin c, mortalite ve kardiyovasküler prognozu göstermesi bakımından da kreatinine göre daha üstündür (Shlipak ve ark., 2005). Ancakyüksek serum sistatin c seviyesi, tiroid disfonksiyonu, obezite, kortikosteroidler ve inflamasyon ajanlarının kullanımı, yaş, erkek cinsiyetve sigara gibi bazı faktörler ile ilişkili bulunmuştur. Dolayısıyla, ABH tanısında kullanımı sınırlıdır (Knight ve ark., 2004). ABH tanısında, bazı çalışmalar sistatin c'nin kreatinine üstün olduğunu ileri sürerken (Haase-Fielitz ve ark., 2009) bazıları aksini iddia etmişlerdir (Spahillari ve ark., 2012). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada kalp transplantasyonu yapılan hastalarda cerrahi sonrası 3. saatte serum sistatin c düzeyinin ABH gelişen hastalarda yüksek bulunduğu, persistant sistatin c yüksekliğinin bir yıllık mortaliteyi öngörebildiği gösterilmiştir (Hořková ve ark., 2016). Yine, başka bir çalışmada ABH için yüksek riskli hastalar takip edilmiş, bu çalışmada sistatin c nin kreatinine üstün olduğu, kreatininden bir, iki gün önce ABH'nı tesbit ettiği bulunmuştur (Herget-Rosenthal ve ark., 2004). Yukardaki çalışmalardan farklı olarak; Spahillari ve ark. (Spahillari ve ark., 2012) çok merkezli olarak yaptıkları çalışmada kalp çerrahisi geçiren

1150 hastada ameliyat öncesi ve sonraki 5 günde günlük olarak ölçtükleri sistatin c düzeyinin ABH tanısında kreatinine üstünlüğü olmadığını göstermişlerdir.

2.4.8. İnterlökin-18 (IL-18)

IL-18 proinflamatuvar bir sitokindir. Sağlıklı böbreklerde distal tübül ve toplayıcı tübül hücrelerinden salınır. İnsan çalışmalarında, IL-18'in akut tübüler nekrozda proksimal tübül hasarının bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Melnikov ve ark., 2002). Ayrıca IL-18'in kardiyopulmoner cerrahiden sonra ABH gelişimini öngörmede prediktif bir biyobelirteç olduğu ve NGAL ile beraber serum kreatinininden önce yükseldiği bildirilmiştir (C R Parikh ve ark., 2006). Ancak plazma IL-18 düzeyi endotoksemi, inflamatuvar hastalık, otoimmün hastalık gibi durumlarda da artmaktadır (Haase, Bellomo, Story, Davenport, & Haase-Fielitz, 2008; Kaplanski, 2018). Yine IL-18 proinflamatuvar bir biyobelirteç olduğundan, sepsisli hastalarda ABH'nı göstermede sensitivite ve spesifitesi yetersiz kalmaktadır (Liu ve ark., 2013).

2.4.9. Karaciğer-tipi Yağ Asidi Bağlayıcı Protein (L-FABP)

L-FABP 14-kDa ağırlığında karaciğer, barsak ve böbrek proksimal tübül epitelinde sentezlenen sitozolik bir proteindir (Ho ve ark., 2015). Uzun zincirli yağ asitlerini bağlar ve taşır. Lipit oksidasyon ürünlerine bağlanarak toksik hücre etkilerine engel olur. İnsan L-FABP geni hipoksiye duyarlı bir bölge içerir ve hipoksi L-FABP gen ekspresyonunu indükler (Supavekin ve ark., 2003). L-FABP'in idrar düzeyi proksimal tübül epitelindeki stresi gösterir ve iskemik tübüler hasarın ciddiyeti ile koreledir (Kamijo ve ark., 2004). Yapılan bir metaanalizde; 15 prospektif kohort çalışma incelenmiş ve ABH riski olan hastalarda, L-FABP'in ABH tanısında yeri olduğu ve diyaliz gereksinimi ve mortalitenin öngörülmesini mümkün kıldığı rapor edilmiştir (Susantitaphong ve ark., 2013). Her ne kadar idrar L-FABP renal hipoksinin bir göstergesi olarak kabul edilse de, klinik çalışmalar hala sınırlıdır ve yetersizdir. Böbrek hastalığının çeşitli nedenlerini içeren prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır (Chirag R. Parikh ve ark., 2013).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. KULLANILAN MALZEMELER

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

- Etanol (Sigma Aldrich)
- Etil asetat (Sigma Aldrich)
- HCl (Merck)
- Tris-Baz (Sigma Aldrich)
- Tris-HCl (Sigma Aldrich)
- Folin ciocalteu's fenol reaktifi
- Bovine serum albümin
- Na₂CO₃
- NaOH
- CuSO₄

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Kan alma tüpleri (BD)
- Kurutma kağıdı (40*40 cm)
- Cam Kalem
- Eppendorf tüp (isolab 1.5 mL)
- Steril enjektör (5 mL, 10 mL)
- Hassas terazi (Denver instrument)
- Hayvan kafesi
- Homojenizatör (ika t18 basic ultra turrax homogenizer)
- Kronometre (Clip)
- Manyetik karıştırıcı (Velp)
- Mezür (25 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL)
- Operasyon takımı
- Otomatik pipet (Gilson, 10 µL, 20 µL, 100 µL, 1000 µL)
- Pastör pipeti (isolab)
- Pipet uçları
- Soğutmalı santrifüj (Hettich)
- Vorteks (Velp)
- Buzdolabı (Vestel)

- Distile su
- Organon Teknika Microwell System (ELISA)
- Rat MIOX ELISA Kit (Katalog no: E-EL-R2591, Elabscience®)
- Rat NGAL ELISA Kit (Katalog no: E-EL-R0662, Elabscience®)
- Serum fizyolojik
- Hematoksilen
- Eozin
- Ksilen
- Polilizin lam
- Rodajlı lam
- Lamel
- Ameliyat eldiveni

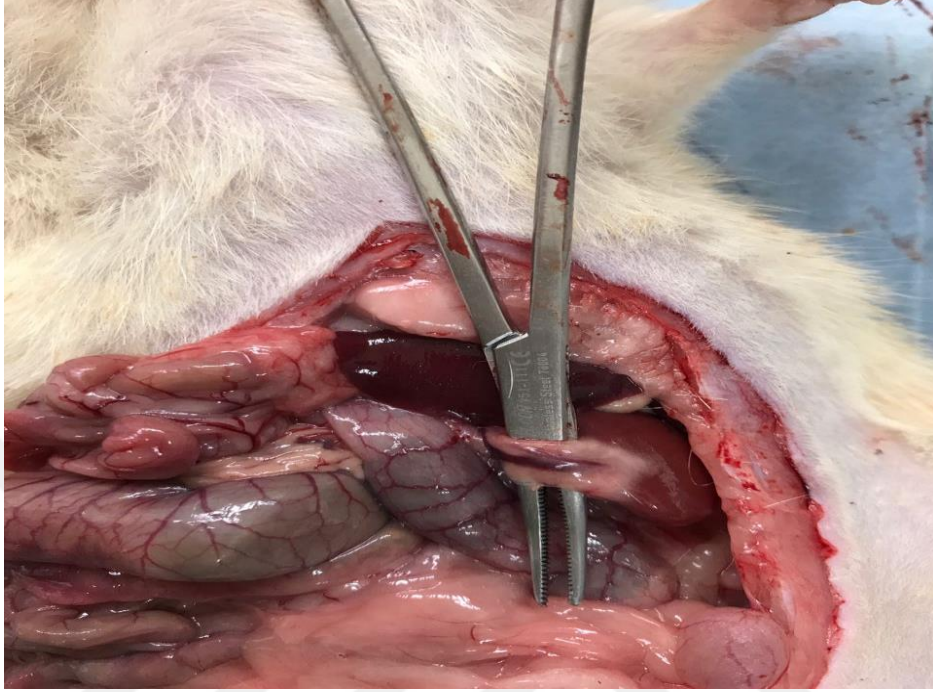
3.2. HAYVAN GRUPLARI VE DENEYİN YAPILIŞI

Çalışmamızda ağırlıkları 300 gr ile 350 gr arasında değişen toplam 40 adet, erkek Wistar türü albino sıçan kullanıldı. Tüm işlemler, 1986 Uluslararası Strazburg Hayvan Hakları Evrensel Beyannameşi şartlarına uygun olarak, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, Etik Kurul onayı (2013 HADYEK 082) alınarak veteriner hekim kontrolünde gerçekleştirildi. Denekler; standart sıçan kafesleri içinde, kemirgenlere özel standart pellet yem ve su ile istedikleri kadar beslenen sıçanlardan seçildi. Sıçanlar basit randomizasyon ile 8'erli 5 gruba ayrıldı.

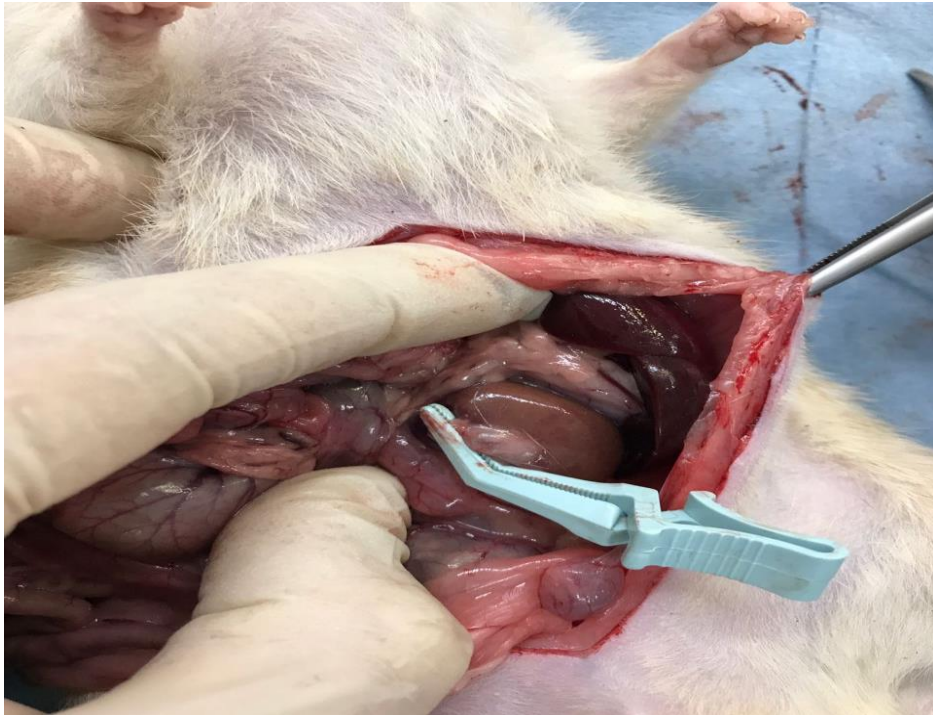
- Grup 1, hasarsız kontrol grubu olarak değerlendirildi,
- Grup 2, 1 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyona maruz bırakıldı,
- Grup 3, 1 saat iskemi ve 4 saat reperfüzyona maruz bırakıldı,
- Grup 4, 2 saat iskemi ve 2 saat reperfüzyona maruz bırakıldı,
- Grup 5, 2 saat iskemi ve 4 saat reperfüzyona maruz bırakıldı.

Deney yapılan bütün hayvanlar 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg xylazin ile uyutulduktan sonra kan ve böbrek dokusu örnekleri alındı. Grup II, III, IV ve V'te böbreklere uygulanan I/R hasarı; steril povidon iyodür ile sıçan supin pozisyonda operasyon sahası temizliği yapıldıktan sonra midabdominal (karın orta hattı) insizyon yapıp sol böbreğe ulaşılarak, hilus seviyesinde klemplendi (**Resim 3.1 ve 3.2**). Klempli böbrek iskemiye maruz bırakıldı (iskemi; renk değişimi ve pulsasyon yokluğu

ile izlendi). İskemi süresi dolunca klemp çıkarılıp reperfüzyon uygulandı (reperfüzyon; renk değişimi ve pulsasyon varlığı ile izlendi).



Resim 3.1. Sol böbrek arterine ulaşılması.



Resim 3.2. Sol böbrek arterinin klemplenmesi.

Deney sırasında meydana gelebilecek dehidratasyona bağılı sıvı kaybını önlemek amacıyla steril serum fizyolojik ile ıslatılmış spançlarla hayvanların operasyon sahası örtüldü. Sıçanlardan biri deney sırasında anesteziye bağılı olarak kaybedildi. Reperfüzyon sonrasında hayvanlardan kan alınarak hayvanlar eksanguinasyon yöntemi ile feda edildi ve böbrek dokuları alındı. Alınan örnekler çalışma için en kısa sürede biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Ulaştırılan örneklerden kanlar 15 dakika 1500 g'de santrifüj edilerek serumları ayrılıp böbrek doku örnekleriyle beraber çalışma zamanına kadar sıfırın altında 80°C'de saklandı.

Böbrek doku örneklerinin bir kısmı histopatolojik değerlendirme için %10'luk formaldehitte tespit edilip rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 ve 20µm kalınlığında kesitler polilizinli lamlara alındı. Böbrek dokusunda Hematoksilin ve Eozin boyaması yapıldı. Histolojik değişiklikler; nekrotik ve apopitotik hücre sayımı, tübüler fırçamsı kenarın kaybı, tübüler dilatasyon ve nötrofil oluşumu değerlendirilerek tübülointerstiyel hasarın kantitatif ölçümü yapıldı. Histopatolojik sonuçlar şöyle değerlendirildi;

0 = Hasar yok

1 = % 0-10

2 = % 11-25

3 = % 26-45

4 = % 46-75

5 =% 76–100 (Kocoglu, Ozturk, Ozturk, Yilmaz, & Gulcu, 2009).

3.3. BİYOKİMYASAL İNCELEME

Böbrek Dokularının Homojenize Edilmesi

Böbrek dokuları 1/10 oranında 50 mM Tris-HCl (pH=7.4) tampon ile buz kullanılarak ısı artışı engellenerek homojenize edilmiştir (İ. Akkuş, 1995). Hazırlanan homojenatların bir kısmından MIOX ve NGAL seviyeleri ölçülmüştür. Homojenatların bir kısmından ise soğutmalı santrifüjde + 4 °C'de 3.500 rpm'de 30 dakika santrifüj edilerek süpernatantlar elde edildi ve bu süpernatantlardan doku protein düzeyi tayini yapıldı.

Serumlardan ve böbrek dokusu homojenizasyonu sonucu elde edilen homojenatlardan MIOX ve NGAL düzeyleri Enzyme Linked- Immuno-Sorbent Assay (ELISA) yöntemiyle çalışıldı. Serumlardan ayrıca BUN, kreatinin ve glukoz düzeyleri

spektrofotometrik yöntemle otomatize biyokimya cihazında (Cobas Roch[®], Almanya) çalışıldı.

Doku Protein Düzeyi Ölçümü

Doku protein düzeyleri ölçümü Lowry yöntemi ile tesbit edildi (Lowry, Rosebrough, Farr, & Randall, 1951). Alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşarak Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifini redükler ve mavi bir renk meydana gelir. Meydana gelen rengin koyuluğu çözeltideki protein miktarı ile doğru orantılıdır. Folin reaktifi sadece asit ortamda dayanıklıdır, fakat bahsedilen bu redükleme reaksiyonu ise alkali ortamda (pH 10'da) meydana gelmektedir. Dolayısıyla folin reaktifi çok hızlı bir şekilde alkali bakır-protein çözeltisi içerisine eklenmeli ve hemen karıştırılmalıdır. Böylece henüz Folin reaktifi parçalanmadan önce redüklenme reaksiyonu gerçekleşmiş olur.

Kimyasallar

Folin ciocalteu's fenol reaktifi, Bovine serum albümin, Na₂CO₃, NaOH, CuSO₄

Ölçüm yöntemi

Bovine serum albuminden hazırlanmış çözeltiler kullanılarak standart grafiği çizildi. Konsantrasyonu bilinen "Optik dansite (OD) mg/ml protein konsantrasyonu" grafiği çizilerek protein değerleri bu grafikten okunarak belirlendi. 0,01 mL numune örnek tüplerine eklendikten sonra üzerlerine 0,49 mL distile su eklendi. Kör tüpüne ise sadece 0,5 mL distile su konuldu. Hazırlanan ölçüm reaktifinden her deney tüpüne 2,5 mL ilave edildi. Alt üst edilerek karıştırılan tüpler 10 dakika süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin bitiminde deney tüplerine 0,25 mL Folin ciocalteu's fenol reaktifi eklenip oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. Bu sürenin de bitiminde standart ve numuneler kör tüpüne karşı 700 nm'de ölçüldü.

Hesaplama

Protein (mg/ml) = grafikten okunan değer x faktör

$$F (\text{faktör}) = \text{standart hacmi (0,5 ml)} / \text{numune hacmi (0,010 ml)} = 50$$

Not: Faktör, kullanılan numune miktarına göre değişir. Numune miktarında değişiklik durumunda distile su hacmi ile ters orantılı olarak tüpe ilave edilir.

3.3.1. MIOX Ölçümü

Serum ve doku MIOX düzeyi, rat MIOX (Myo Inositol Oxygenase) ELISA Kit (Katalog no: E-EL-R2591, Elabscience®, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak ölçüldü. Kullanılan rat MIOX ELISA kit için, sensitivite 0.10 ng / mL, ölçüm aralığı 0.16 - 10 ng / mL ve CV < %10 olarak belirtilmiştir.

3.3.1.1. Test Prensipleri

Bu ELISA kiti, yarışma (Sandwich-ELISA) prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, önceden hazırlanmış bir rat MIOX antikoru ile kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Sonra rat MIOX için spesifik bir biyotininle tespit antikoru ve Avidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) konjüгатı her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Bağlanmayan bileşenler yıkamayla uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenir. Sadece Rat MIOX içeren, biyotinenmiş tespit antikoru ve Avidin-HRP konjüгатı eklenmiş kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, stop solüsyonu eklenerek sona erdirilir ve renk sarıya döner. Optik dansite (OD), spektrofotometrik olarak 450 nm ± 2 nm dalga boyunda ölçülür. OD değeri, rat MIOX'un konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'leri standart eğri ile karşılaştırarak örneklerde rat MIOX konsantrasyonunu hesaplanır.

3.3.1.2. Reaktif hazırlanması

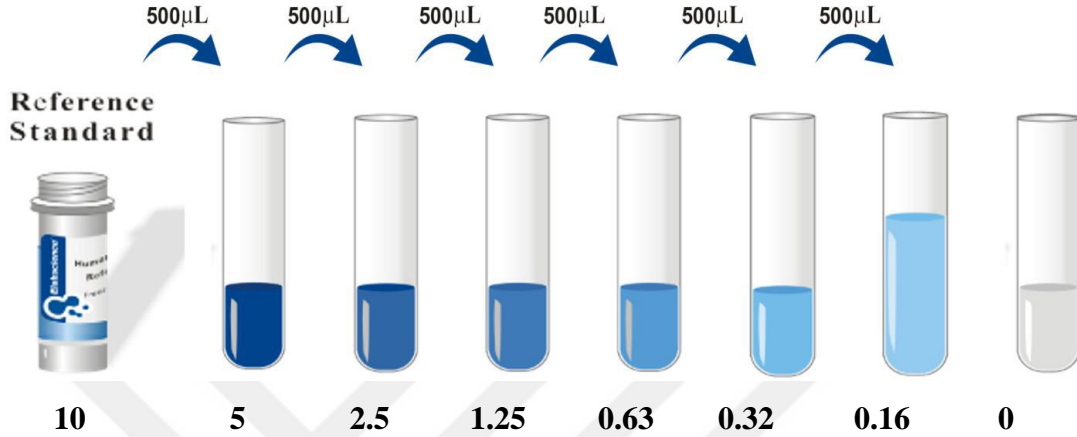
1. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi (18 ~ 25 °C). Microplate okuyucu kılavuzu izlenerek OD ölçümünden 15 dakika önce ısıtıldı.

2. Yıkama Tamponu: 750 mL yıkama tamponu hazırlamak için, 30 mL konsantre yıkama tamponunu 720 mL distile su ile seyreltildi.

3. Standart çalışma solüsyonu: Standart 10.000 × g'da 1 dakika boyunca santrifüj edildi. 1.0 mL referans standart & örnek seyreltici eklenerek 10 dakika bekletildi ve nazikçe birkaç kez alt-üst edildi. Tamamen çözüldükten sonra bir pipetle iyice karıştırıldı. Bu seyreltme sonucu 10 ng / mL'lik bir çalışma çözeltisi üretilmiş oldu. Sonra 10, 5, 2.5, 1.25, 0.63, 0.32, 0.16, 0 ng/mL'lik seri dilüsyonlar yapıldı.

Seyreltme yöntemi: Yedi adet ependorf tüpü alındı ve her bir tüpe 500 uL referans standardı ve örnek seyreltici eklendi. İlk tüpe 10 ng/mL çalışma solüsyonundan

500 uL pipetlendi ve 5 ng/mL çalışma solüsyonu elde etmek için karıştırıldı. Bu basamak takip edilerek önceki tüpten gelen 500 uL çözelti sonrakine pipetlendi. Uygulama aşağıdaki çizimde gösterilmiştir (**Resim3.3**). Son tüp blank olarak belirlendi ve ona önceki tüpten pipetleme yapılmadı.



Resim3.3. MIOX ELİSA testi için standartların hazırlanması

4. Biotinlenmiş Algılama Ab çalışma çözeltisi: Deneyden önce her kuyucuğa 100 µL konacak şekilde gerekli miktar hesaplandı. Kullanmadan önce stok tüpünü santrifüj edildi. 100× Konsantre Biotinile Saptama Ab'ı, Biotinile Detection Ab Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna kadar seyreltildi.

5. Konsantre HRP Konjugat çalışma çözeltisi: 100× Konsantre HRP Konjugatı konsantre HRP Konjugat Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna kadar seyreltildi.

3.3.1.3. Test prosedürü

1. Standart çalışma solüsyonu ilk iki sütun kuyucuğa eklendi: Solüsyonun her bir konsantrasyonu, her biri yan yana, her bir kuyucuğa ilave edildi (Her bir kuyucuk için 100 uL). Serum ve doku örnekleri diğer kuyucuklara eklendi (her kuyu için 100 uL). Plaka, kitinde verilen kapatıcı ile örtüldü. 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Solüsyonlar mikro ELISA plakasının dibine eklendi ve kuyucukların iç duvarına dokunmaktan ve mümkün olduğunca köpük oluşumuna neden olmaktan kaçınıldı.

2. Her kuyucuktan sıvı içerik uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı. Hemen her kuyucuğa biyotinlenmiş algılama Ab çalışma çözeltisinden 100 µL eklendi. Plaka kapatıcı ile örtüldü. Yavaşça karıştırıldı ve 37 ° C'de 1 saat inkübe edildi.

3. Her bir kuyucuktan solüsyon aspire edildi ve her bir kuyucuğa 350 uL yıkama tamponu eklendi. 1 ~ 2 dakika bekletildi ve her bir kuyucuktan solüsyonu aspire edildive temiz emici kağıtta kurutuldu. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı.

4. Her kuyucuğa 100 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kapatıcı ile örtüldüve 37 ° C'de 30 dk inkübe edildi.

5. Çözelti her bir kuyucuktan boşaltıldı, yıkama işlemi adım 3'te gerçekleştirildiği gibi beş kez tekrarlandı.

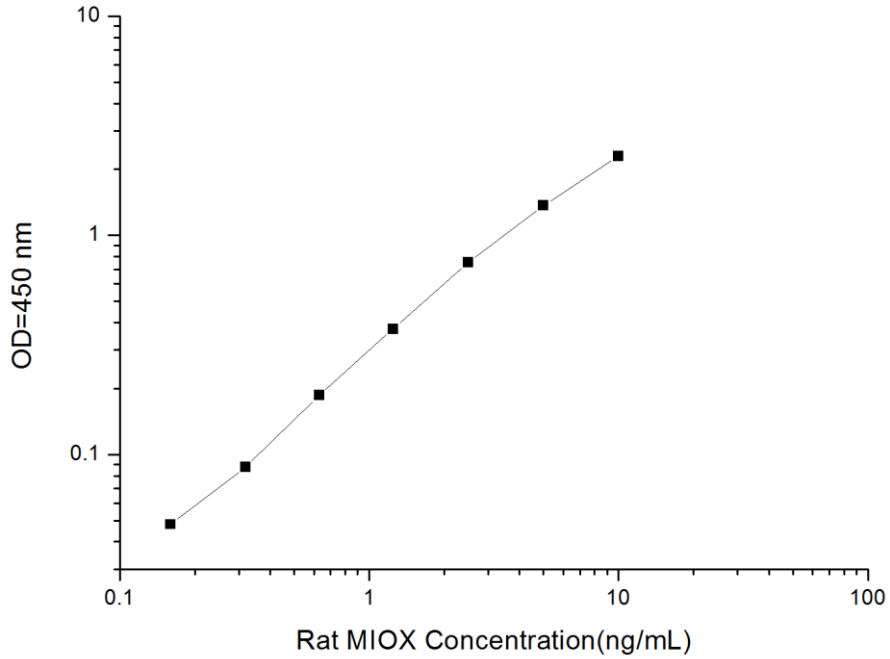
6. Her kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi eklendi. Plaka kapatıcı ile örtüldü ve 37 ° C'de 15 dk inkübe edildi. Plaka ışıktan korundu.

7. Her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi.

8. Absorbanslar 450 nm'de okundu.

3.3.1.4. Sonuçların Hesaplanması

Her standart ve numuneler çift okutuldu ve ortalaması alınarak ortalama sıfır standart optik dansitesi çıkartıldı. Grafik kağıdına, x ekseninde standart konsantrasyon ve y eksenindeki OD değerleri olacak şekilde dört parametrelili bir lojistik eğri çizilerek MIOX konsantrasyonları ng/mL olarak hesaplandı (**Şekil 3.1**).



Şekil3.1. MIOX standart eğrisi

3.3.2. NGAL Ölçümü

Serum ve doku NGAL düzeyi, rat NGAL (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin) ELISA Kit (Katalog no: E-EL-R0662, Elabscience®, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak ölçüldü. Kullanılan rat NGAL ELISA kit için, sensitivite 37.50 pg / mL, ölçüm aralığı 62.50 - 4000 ng / mL ve CV < %10 olarak belirtilmiştir.

3.3.2.1. Test Prensipleri

Bu ELISA kiti, yarışma (Sandwich-ELISA) prensibini kullanır. Bu kitte sağlanan mikro ELISA plakası, önceden hazırlanmış bir rat NGAL antikoru ile kaplanmıştır. Standartlar ve örnekler mikro ELISA plakası kuyucuklarına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Sonra rat NGAL için spesifik bir biyotininle tespit antikoru ve Avidin-Horseradish Peroksidaz (HRP) konjügatı her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Bağlanmayan bileşenler yıkamayla uzaklaştırılır. Substrat solüsyonu her bir kuyucuğa eklenir. Sadece rat NGAL içeren, biyotinenmiş tespit antikoru ve avidin-HRP konjügatı eklenmiş kuyucuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, stop solüsyonu eklenerek sona erdirilir ve renk

sarıya döner. OD, spektrofotometrik olarak $450 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ dalga boyunda ölçülür. OD değeri, rat NGAL'in konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'leri standart eğri ile karşılaştırarak örneklerde rat NGAL konsantrasyonunu hesaplanır.

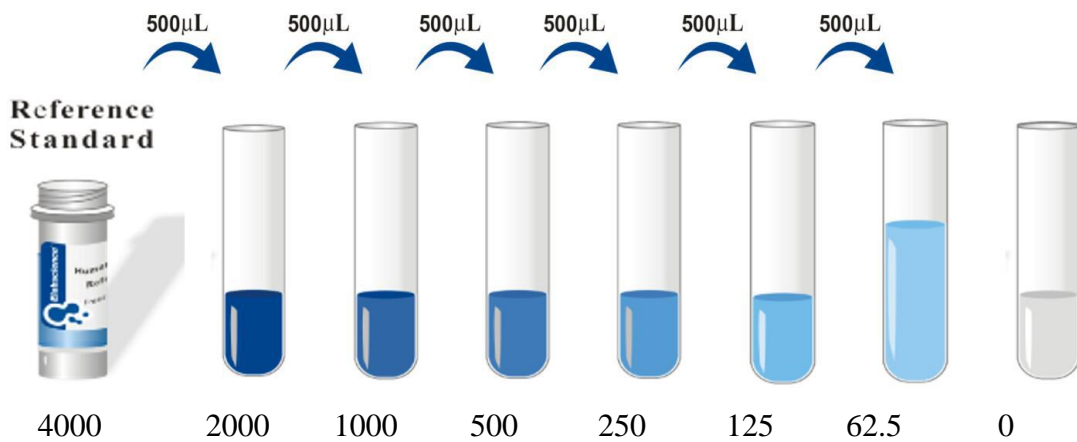
3.3.2.2. Reaktif hazırlanması

1. Kullanmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi ($18 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Microplate okuyucu kılavuzu izlenerek OD ölçümünden 15 dakika önce ısıtıldı.

2. Yıkama Tamponu: 750 mL yıkama tamponu hazırlamak için, 30 mL konsantre yıkama tamponunu 720 mL distile su ile seyreltildi.

3. Standart çalışma solüsyonu: Standart $10.000 \times \text{g}$ 'da 1 dakika boyunca santrifüj edildi. 1.0 mL referans standart & örnek seyreltici eklenerek 10 dakika bekletildi ve nazikçe birkaç kez alt-üst edildi. Tamamen çözüldükten sonra bir pipetle iyice karıştırıldı. Bu seyreltme sonucu 4000 pg/mL'lik bir çalışma çözeltisi üretilmiş oldu. Sonra 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.50, 0 pg/mL'lik seri dilüsyonlar yapıldı.

Seyreltme yöntemi: Yedi adet ependorf tüpü alındı ve her bir tüpe 500 uL referans standardı & örnek seyreltici eklendi. İlk tüpe 4000 pg/mL çalışma solüsyonundan 500 uL pipetlendi ve 2000 pg/mL çalışma solüsyonu elde etmek için karıştırıldı. Bu basamak takip edilerek önceki tüpten gelen 500 uL çözelti sonrakine pipetlendi. Uygulama aşağıdaki çizimde gösterilmiştir (**Resim3.4**). Son tüp blank olarak belirlendi ve ona önceki tüpten pipetleme yapılmadı.



Resim3.4. NGAL ELISA testi için standartların hazırlanması

4. Biotinlenmiş Algılama Ab çalışma çözeltisi: Deneyden önce her kuyucuğa 100 µL konacak şekilde gerekli miktar hesaplandı. Kullanmadan önce stok tüpünü santrifüj edildi. 100× Konsantre Biotinile Saptama Ab'ı, Biotinile Detection Ab Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna kadar seyreltildi.

5. Konsantre HRP Konjugat çalışma çözeltisi: 100× Konsantre HRP Konjugatı konsantre HRP Konjugat Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna kadar seyreltildi.

3.3.2.3. Test prosedürü

1. Standart çalışma solüsyonu ilk iki sütun kuyucuğa eklendi: Solüsyonun her bir konsantrasyonu, her biri yan yana, her bir kuyucuğa ilave edildi (Her bir kuyucuk için 100 uL). Serum ve doku örnekleri diğer kuyucuklara eklendi (her kuyu için 100 uL). Plaka, kitinde verilen kapatıcı ile örtüldü. 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Solüsyonlar mikro ELISA plakasının dibine eklendi ve kuyucukların iç duvarına dokunmaktan ve mümkün olduğunca köpük oluşumuna neden olmaktan kaçınıldı.

2. Her kuyucuktan sıvı içerik uzaklaştırıldı, yıkama yapılmadı. Hemen her kuyucuğa biyotinlenmiş algılama Ab çalışma çözeltisinden 100 µL eklendi. Plaka kapatıcı ile örtüldü. Yavaşça karıştırıldı ve 37 ° C'de 1 saat inkübe edildi.

3. Her bir kuyucuktan solüsyon aspire edildi ve her bir kuyucuğa 350 uL yıkama tamponu eklendi. 1 ~ 2 dakika bekletildi ve her bir kuyucuktan solüsyonu aspire edildive temiz emici kağıtta kurutuldu. Bu yıkama adımı 3 kez tekrarlandı.

4. Her kuyucuğa 100 µL HRP konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kapatıcı ile örtüldü ve 37 ° C'de 30 dk inkübe edildi.

5. Çözelti her bir kuyucuktan boşaltıldı, yıkama işlemi adım 3'te gerçekleştirildiği gibi beş kez tekrarlandı.

6. Her kuyucuğa 90 µL substrat reaktifi eklendi. Plaka kapatıcı ile örtüldü ve 37 °C'de 15 dk inkübe edildi. Plaka ışıktan korundu.

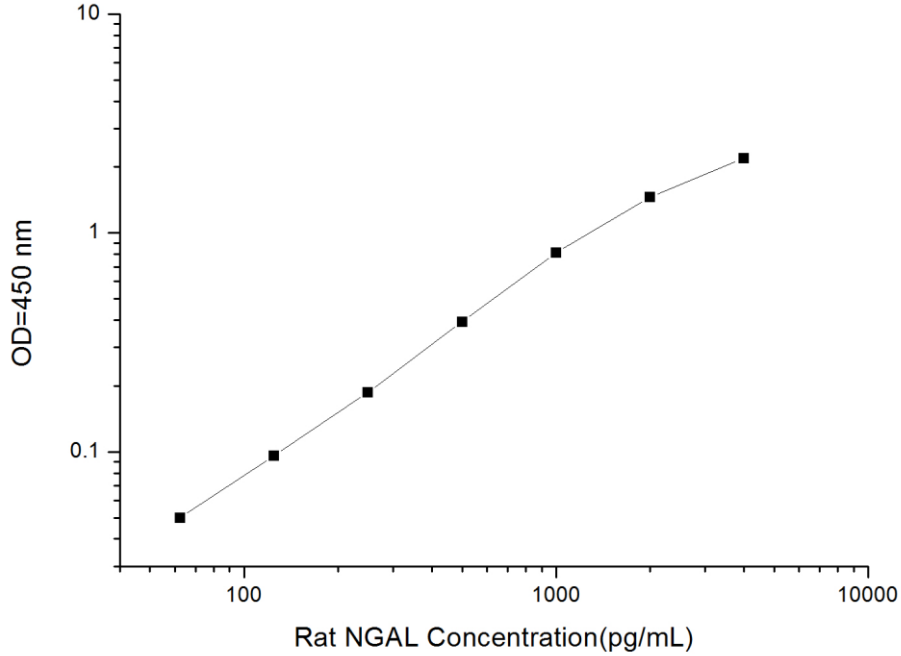
7. Her kuyucuğa 50 µL stop solüsyonu eklendi.

8. Absorbanslar 450nm'de okundu.

3.3.2.4. Sonuçların Hesaplanması

Her standart ve numuneler çift okutuldu ve ortalamsı alınarak ortalama sıfır standart optik dansitesi çıkartıldı. Grafik kağıdına, x ekseninde standart

konsantrasyonve y eksenindeki OD değerleri olacak şekilde dört parametrelili bir lojistik eğri çizilerek NGAL konsantrasyonları pg/mL olarak hesaplandı (Şekil 3.2).



Şekil3.2.NGAL standart eğrisi

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Ölçülen her bir parametrenin normal dağılıma uygunluğu tek rneklem Kolmogorov-Smirnov testi kullanarak belirlendi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi, Mann Whitney U testi ile yapıldı. Tüm analizler SPSS version 18.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar medyan ve % 95 CI olarak ifade edildi. Sensitivite, spesifite ve cut off değerleri receiver operating characteristics (ROC) eğrisi analizleri ile MedCalc istatistik yazılımı (13.2.0, Mariakerke, Belçika) kullanılarak gerçekleştirildi. $P < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Gruplar arası BUN değerleri kıyaslandığında tüm deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla bir yükseklik bulundu (**Tablo 4.1 ve 4.2**). Yine grup V BUN değeri diğer deney gruplarından da daha yüksekti ($p < 0.001$). Ancak grup II, III ve IV arasında BUN değeri açısından anlamlı fark yoktu (**Şekil 4.1**). Kreatinin değeri tüm deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha yüksekti ($p < 0.001$). Kreatinin değeri grup V'teki diğer deney gruplarından da yüksekti. II. ve IV. grup kreatinin değeri III. gruptan daha yüksekti (**Şekil 4.2**).

Serum MIOX düzeyleri II. III. ve IV. grupta kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulundu ($p = 0.002$). Serum MIOX düzeyleri II. grupta tüm diğer gruplardan da yüksekti (**Şekil 4.3**). Doku MIOX düzeyleri II., IV. ve V. grupta kontrol grubuna kıyasla daha düşüktü. Doku MIOX düzeyleri V. grupta III. gruba kıyasla da daha düşüktü ($p = 0.039$) (**Şekil 4.4**). Serum NGAL düzeyleri deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla artmış olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi (**Şekil 4.5**). Doku NGAL düzeyleri II, IV ve V. deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla daha düşük olmasına rağmen bu fark da istatistiksel olarak anlamlı değildi (**Şekil 4.6**). Serum glukoz düzeyi V. grupta tüm diğer gruplardan daha yüksek iken, IV. grupta sadece kontrol grubundan daha yüksekti (**Şekil 4.7**).

Tablo 4.1. Gruplar arasında biyokimyasal parametrelerinin median ve % 95 CI değerleri.

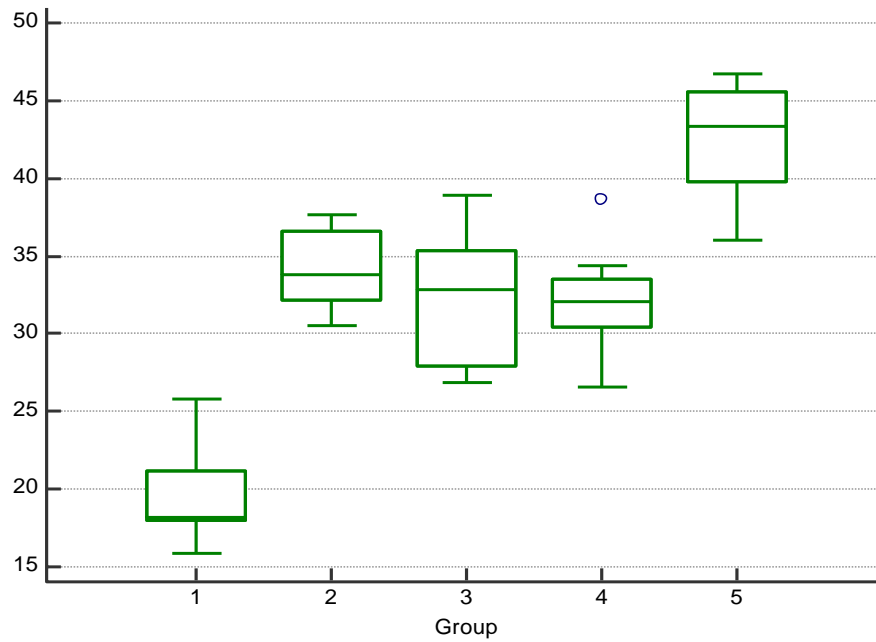
	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V	
Parametre	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	Medyan	P
	95% CI	95% CI	95% CI	95% CI	95% CI	değeri
BUN (mg/dL)	18,2 ^{bcd} 17,4 - 23,3	33,8 ^{ae} 31,3 - 37,2	32,8 ^{ae} 26,9 - 36,4	32,0 ^{ae} 29,2 - 35,1	43,3 ^{abcd} 38,7 - 46,3	<0.001
Kreatinin (mg/dL)	0,33 ^{bcd} 0,27 - 0,35	0,74 ^{ae} 0,61 - 0,84	0,46 ^{abde} 0,41 - 0,66	0,65 ^{ae} 0,59 - 0,72	0,87 ^{abcd} 0,74 - 1,02	<0.001
Glukoz (mg/dL)	252 ^{de} 170 - 286	291 ^e 230 - 365	252 ^e 189 - 356	291 ^{ae} 251 - 391	501 ^{abcd} 447 - 539	<0.001
MIOX serum (ng/mL)	1,63 ^{bcd} 1,58 - 2,22	3,21 ^{acde} 2,73 - 4,08	2,72 ^{ab} 2,14 - 2,99	2,29 ^{ab} 1,72 - 3,10	2,04 ^b 1,39 - 2,99	0.002
MIOX doku (ng/g protein)	57,2 ^{bde} 48,3 - 66,2	43,4 ^a 26,1 - 52,2	51,3 ^e 36,3 - 69,5	43,7 ^a 34,5 - 53,2	38,5 ^{ac} 22,1-53,4	0.039
NGAL serum (pg/mL)	1191 709 - 1374	1585 1159-1760	1373 1270-1439	1433 911 - 1712	1413 1310-1790	0.093
NGAL doku (pg/g protein)	58,8 48,1 - 63,2	45,1 34,5 - 60,3	59,4 42,8 - 71,5	46,2 37,2 - 59,8	47,5 29,8 - 61,7	0.161

a: Grup I'den farklı, b: Grup II'den farklı, c: Grup III'den farklı, d: Grup IV'den farklı, e: Grup V'den farklı. P < 0.05 olduğunda anlamlı kabul edildi.

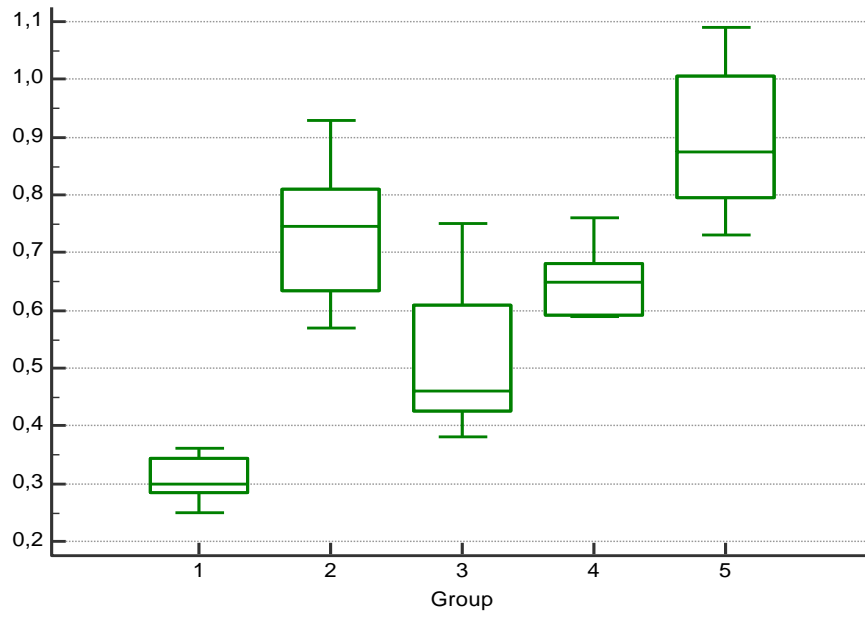
Tablo 4.2. Gruplar arasında biyokimyasal parametrelerin karşılaştırmasının exact p değerleri.

Karşılaştırılan Gruplar	BUN p	Kreatinin p	Glukoz p	MIOX serum p	MIOX doku p	NGAL serum p	NGAL doku p
Grup I -II	0.0008*	0.0008*	0.0587	0.0039 [‡]	0.0127 [‡]	0.0250 [‡]	0.0357 [‡]
Grup I - III	0.0008*	0.0008*	0.4948	0.0104 [‡]	0.5653	0.1003	0.8336
Grup I - IV	0.0008*	0.0012 [‡]	0.0831	0.0374 [‡]	0.0350 [‡]	0.1003	0.1415
Grup I - V	0.0008*	0.0008*	0.0008*	0.5218	0.0181 [‡]	0.0285 [‡]	0.0742
Grup II - III	0.3720	0.0117 [‡]	0.3720	0.0202 [‡]	0.1797	0.3613	0.1415
Grup II - IV	0.1722	0.2030	0.6744	0.0163 [‡]	0.7494	0.2012	0.9164
Grup II - V	0.0023 [‡]	0.0313 [‡]	0.0008*	0.0103 [‡]	0.4822	0.3613	0.9164
Grup III - IV	0.6744	0.0279 [‡]	0.2076	0.2623	0.2248	0.9168	0.1722
Grup III - V	0.0011 [‡]	0.0014 [‡]	0.0008*	0.1495	0.0845	0.7540	0.1415
Grup IV - V	0.0011 [‡]	0.0026 [‡]	0.0033 [‡]	0.4233	0.2774	0.9168	0.7527

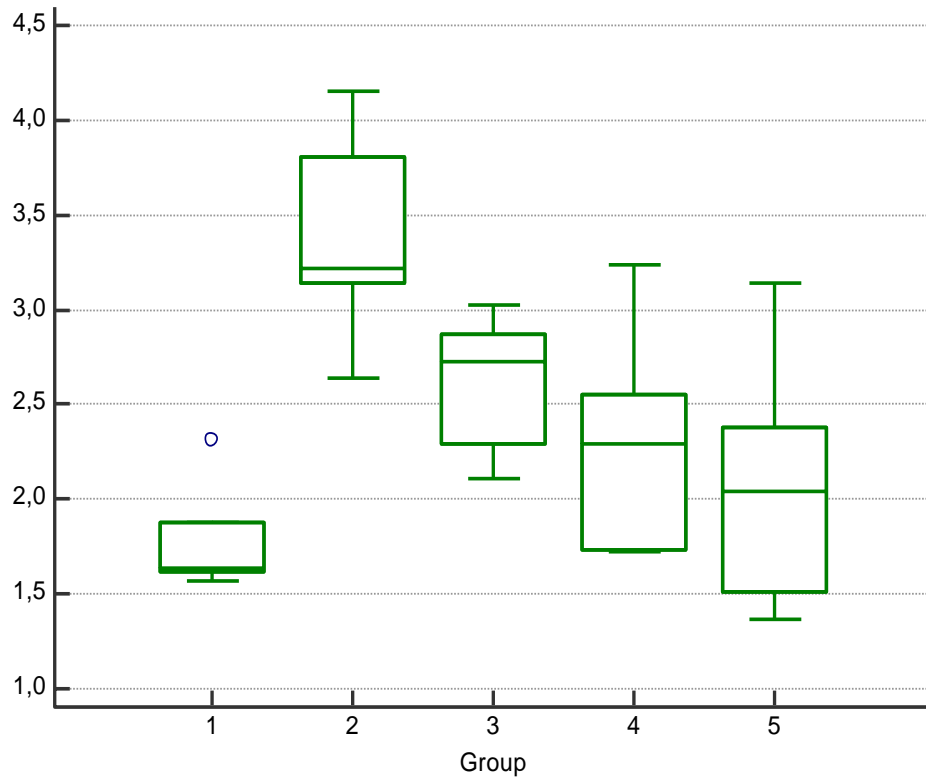
[‡]: p < 0.05, * : p < 0.001



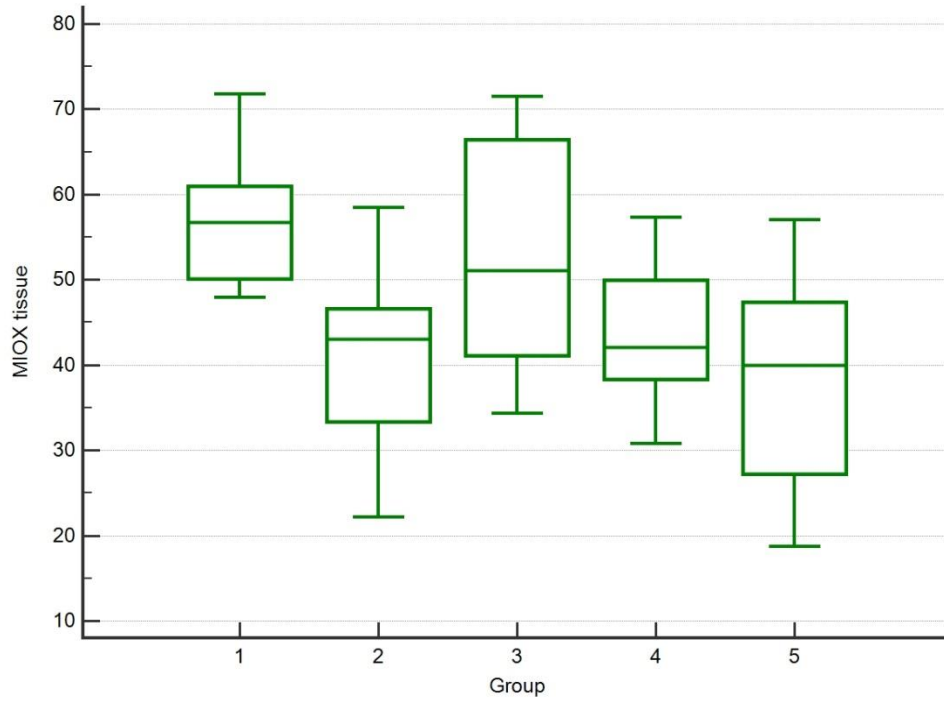
Şekil 4.1. Serum BUN düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



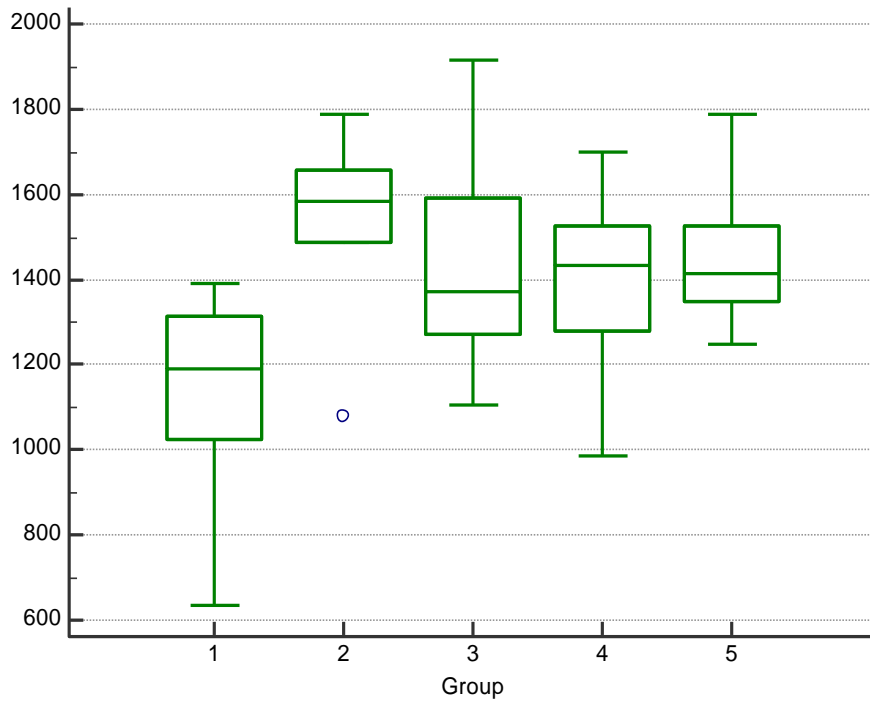
Şekil 4.2. Serum kreatinin düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



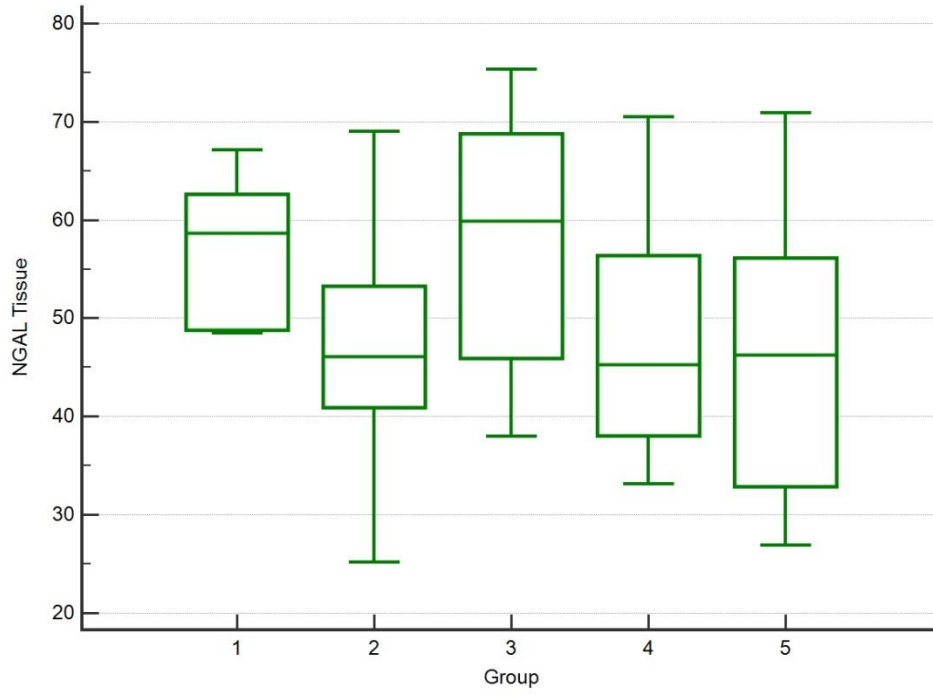
Şekil 4.3. Serum MIOX düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



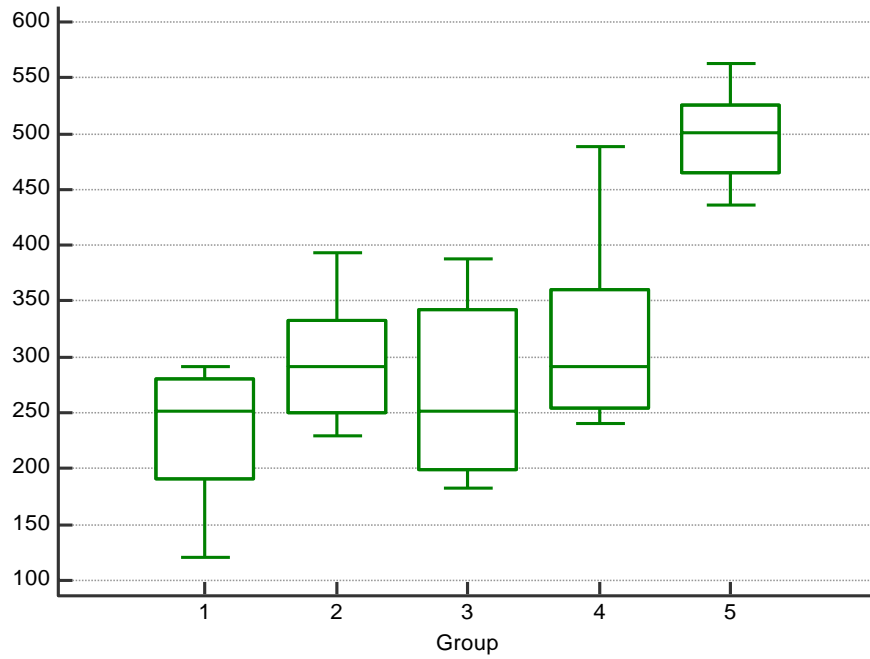
Şekil 4.4. Doku MIOX düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



Şekil 4.5. Serum NGAL düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



Şekil 4.6. Doku NGAL düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.



Şekil 4.7. Serum glukoz düzeylerinin gruplar arası karşılaştırılması.

Yapılan ROC analizinde BUN (cut off > 25.8 mg/dL) ve kreatinin (cut off > 0.36 mg/dL) için eğri altında kalan alan (AUC) 1.000, sensitivite ve spesifite % 100 ve diğer tüm ABH belirteçlerinden istatistiksel olarak anlamlı yüksek olarak bulunmuştur. Bunun harici diğer belirteçlerin AUC karşılaştırmasında bir fark bulunamamıştır (**Tablo 4.2 ve 4.3, Şekil 4.8**).

Tablo 4.3. Akut böbrek hasarı markırlarının receiver operating characteristic analiz sonuçları.

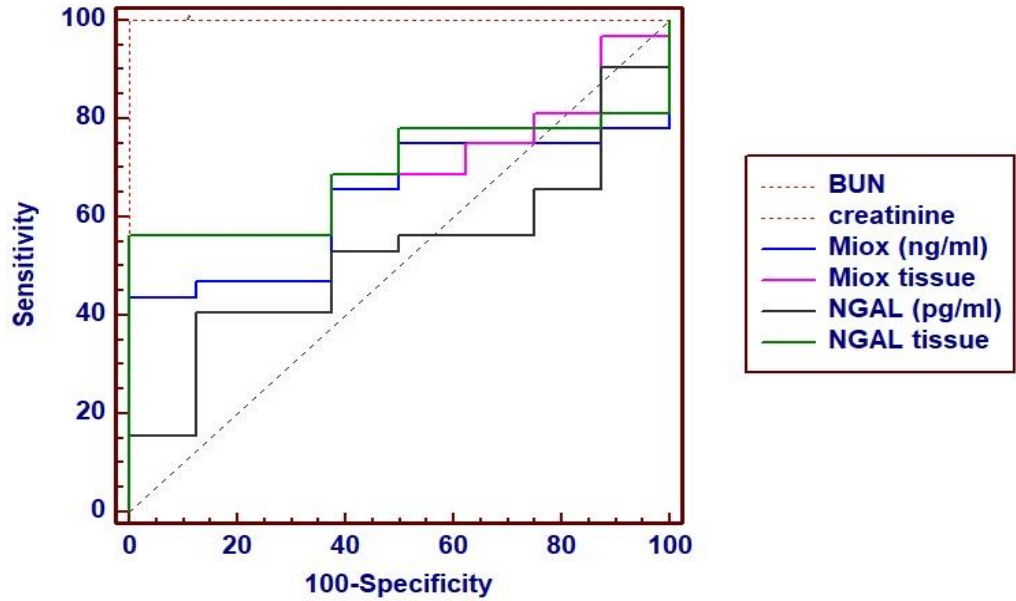
Parametre	AUC	Cut off	Sensitivite (%)	Spesifite (%)
BUN (mg/dL)	1.000	> 25.8	100	100
Kreatinin (mg/dL)	1.000	> 0.36	100	100
MIOX serum (ng/mL)	0.633	> 2.44	43.75	100
MIOX doku (ng/g protein)	0.699	< = 44.75	56.25	100
NGAL serum (pg/mL)	0.523	> 1393	40.63	87.5
NGAL doku (pg/g protein)	0.691	< = 45.32	56.25	100

Tablo 4.4. Akut böbrek hasarı markırlarının receiver operating characteristic analizinde eğri altında kalan alanların karşılaştırılması.

Parametre	Kreatinin “AUC arasındaki fark” “P değeri”	MIOX serum “AUC arasındaki fark” “P değeri”	MIOXdoku “AUC arasındaki fark” “P değeri”	NGAL serum “AUC arasındaki fark” “P değeri”	NGALdoku “AUC arasındaki fark” “P değeri”
BUN (mg/dL)	0.000 1.000	0.367 <0.001 ^a	0.301 0.007 ^b	0.477 <0.001 ^a	0.309 0.006 ^b
Kreatinin (mg/dL)		0.367 <0.001 ^a	0.301 0.007 ^b	0.477 <0.001 ^a	0.309 0.006 ^b
MIOX serum (ng/mL)			0.066 0.571	0.109 0.264	0.059 0.629
MIOX doku (ng/g protein)				0.176 0.106	0.008 0.860
NGAL serum (pg/mL)					0.168 0.144

AUC: eğri altında kalan alan.

a : p< 0.001, b: p< 0.05



Şekil 4.8. Böbrek hasarı biyobelirteçlerinin, akut böbrek hasarını gösteren receiver operating characteristic (ROC) eğrisi.

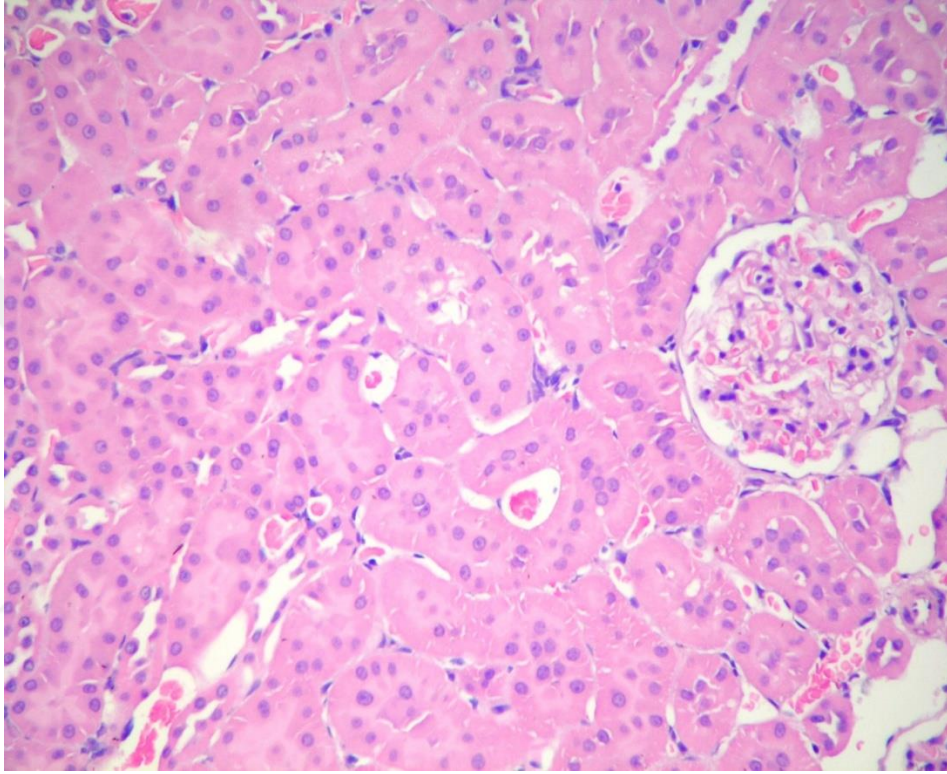
Klasik böbrek hasarı göstergesi biyobelirteçler olan BUN ve kreatinin ile yeni ABH biyobelirteçleri olan MIOX ve NGAL serum ve doku düzeyleri korelasyon ilişkisi incelendiğinde; BUN, kreatinin ve glukoz düzeyi ile MIOX doku düzeyi arasında negatif korelasyon, BUN ve kreatinin serum düzeyi ile NGAL serum düzeyi arasında pozitif korelasyon ilişkisi saptanmıştır (**Tablo 4.4**).

Tablo 4.5. Biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon ilişkisi karşılaştırmaları.

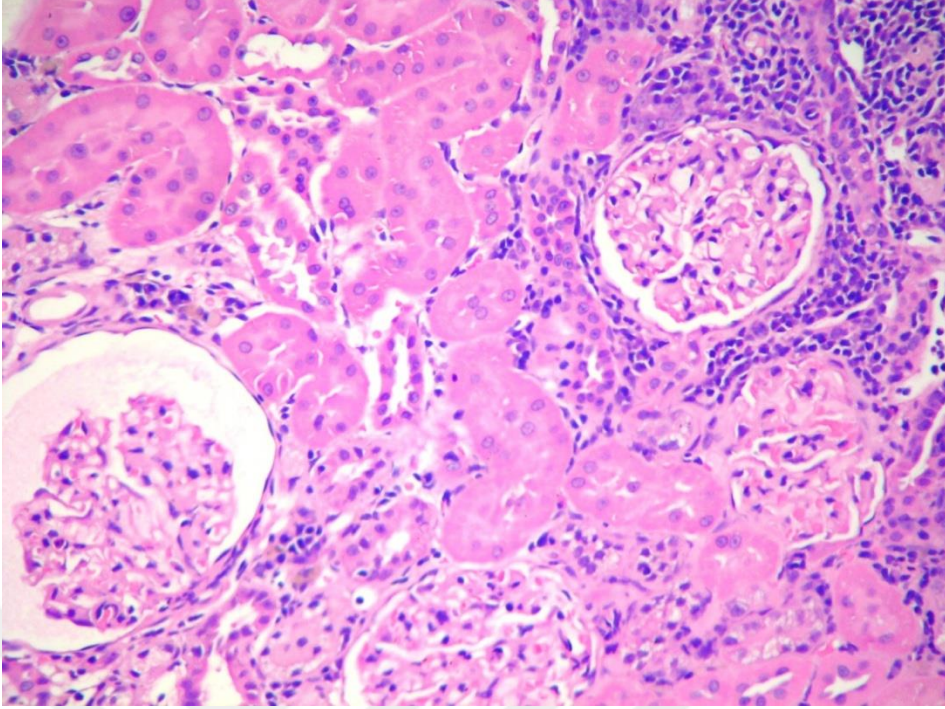
Parametre	MIOX serum	MIOX doku	NGAL serum	NGAL doku
BUN				
p	0.205	0.009 ^a	0.012 ^a	0.074
r	0.237	- 0.435	0.473	- 0.285
Kreatinin				
p	0.070	0.008 ^a	0.014 ^a	0.124
r	0.340	-0.445	0.466	-0.250
Glukoz				
p	0.820	0.009 ^a	0.099	0.084
r	-0.043	-0.431	0.324	-0.276

^a p < 0.05

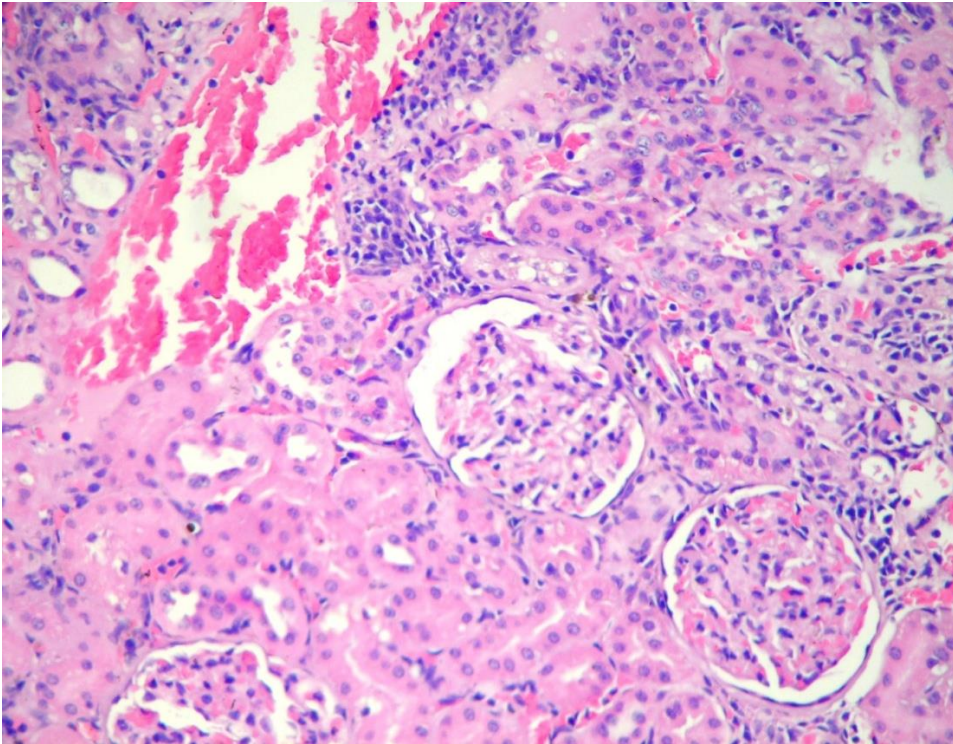
I/R yapılan sol böbrek dokusu histopatolojik doku skorlaması incelendiğinde sadece II. ve IV. grup birbirine benzer olup, diğer tüm gruplar birbirinden farklılık gösterdiği, hasar düzeyi düşükten yükseğe grup I < grup III < grup II = grup IV < grup V şeklinde olduğu görülmüştür (**Tablo 4.5**). Her bir gruba ait histopatolojiyi gösteren birer resim gösterilmektedir (**Resim 4.1 - 4.5**).



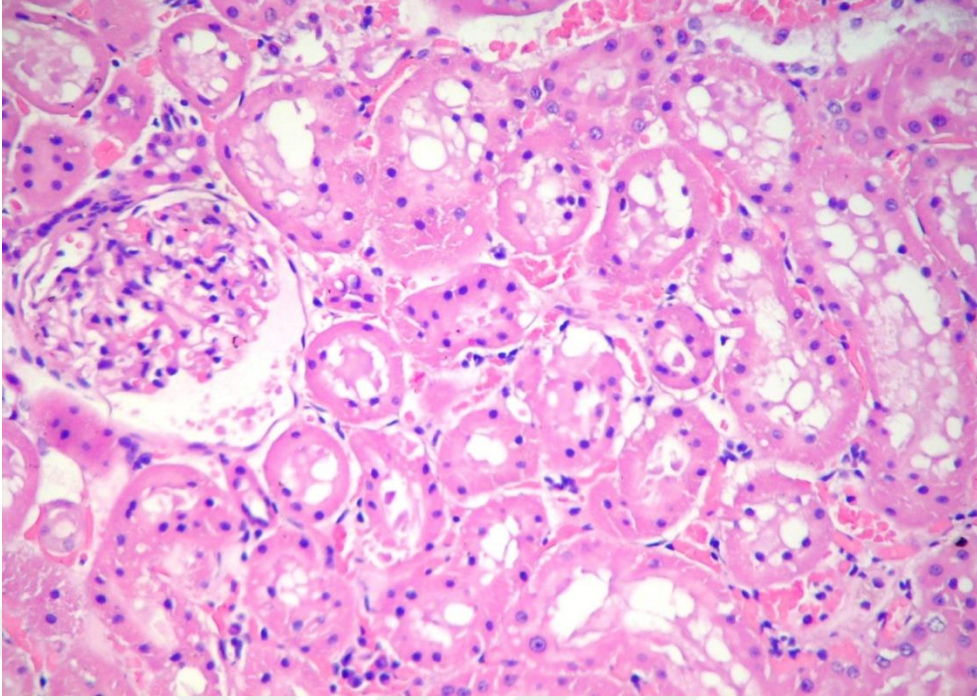
Resim 4.1. Grup I histolojik inceleme görüntüsü. Glomerül ve tübül yapıları normal morfolojide (HE x 200).



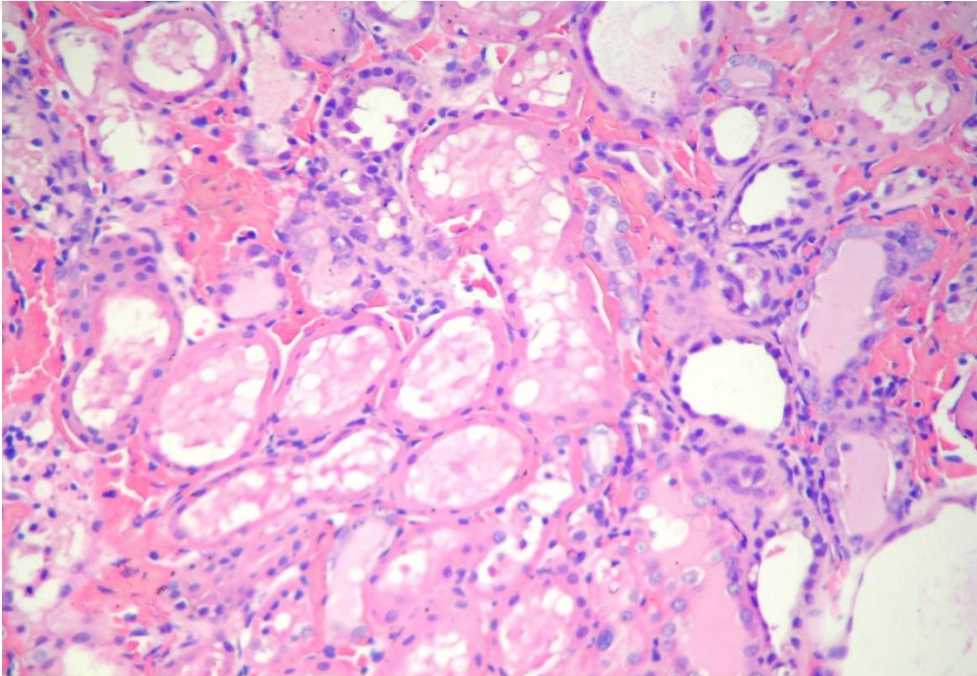
Resim 4.2. Grup II histolojik inceleme görüntüsü. Tübül epitel hücrelerinde hafif dejenerasyon, Bowman boşluğunda genişleme, interstisyel alanda iltihabi hücre infiltrasyonu (HE x 200).



Resim 4.3. Grup III histolojik inceleme görüntüsü. İnterstisyel alanda konjesyon ve hafif iltihabi hücre infiltrasyonu (HE x 200).



Resim 4.4. Grup IV histolojik inceleme görüntüsü. Tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon, Bowman boşluğunda genişleme, interstisyel alanda konjesyon (HE x 200).



Resim 4.5. Grup V histolojik inceleme görüntüsü. Tübül epitel hücrelerinde dejenerasyon, tübül lümenlerinde sıvı birikimi, interstisyel alanda yaygın kanama ve konjesyon (HE x 200).

Tablo 4.5. Böbrek dokularının histopatolojik değerlendirme skorlarının karşılaştırılması

Denek	Grup I Doku hasar skoru	Grup II Doku hasar skoru	Grup III Doku hasar skoru	Grup IV Doku hasar skoru	Grup V Doku hasar skoru
1	1	3	2	3	4
2	1	3	2	3	3
3	0	4	3	3	4
4	0	3	2	3	4
5	1	3	3	3	4
6	0	3	2	3	4
7	1	2	2	4	5
8	0	3	3	3	4
Medyan	0,5	3	2	3	4
Farklı olduğu gruplar*	Grup II, III, IV, V	Grup I, III, V	Grup I, II, IV, V	Grup I, III, V	Grup I, II, III, IV

*: p < 0.001

5. TARTIŞMA

Akut böbrek hasarı yüksek morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. ABH tanısında kullanılan serum kreatinin, BUN ve idrar çıkımı ise ABH'nın geç ve sensitif olmayan belirteçleridir (Reiser IW, 2001). Bu nedenle, ABH erken tanısında yeni tanı biyobelirteçleri araştırılması gerekliliği bu çalışmanın temel amacını oluşturmuştur. Bu amaçla deneysel böbrek I/R hasarında serum ve doku MIOX ve NGAL düzeyleri klasik biyobelirteçleri olan serum kreatinin ve BUN düzeyleri ile karşılaştırıldı.

MIOX enzimi karbonhidrat metabolizmasının ara yollarında yer alan böbrek spesifik bir enzimdir (R J Arner ve ark., 2001). Özellikle böbreklere spesifikliğı nedeniyle son yıllarda MIOX enziminin ABH tanısında yeri merak uyandıran bir konu olmuştur (Gaut ve ark., 2014; C. Mertoglu, Gunay, Gurel, & Gungor, 2018).

Gaut ve ark. (Gaut ve ark., 2014) yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada MIOX enziminin ABH'nı erken dönemde gösteren bir biyobelirteç olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmanın iki aşaması vardır; birinci aşamasında yapılan hayvan deneyinde 8-12 haftalık farelere bilateral 30 dk iskemi yapılmış (deney grubu n = 6, sham grubu n = 2) ve cerrahiden 24 saat sonra serum ve böbrekler alınarak MIOX ve kreatinin ölçümü yapılmıştır. Farelerde, cerrahi öncesinde ve sham grubunda serumda MIOX tesbit edilememiştir ancak böbrek I/R yapılan deney grubunda ABH'nı izleyen 24. saatte MIOX düzeyi anlamlı artmıştır. Yine aynı çalışmanın ikinci aşaması insanlar üzerinde yapılmış olup, 24-72 saat içinde plazma kreatinininde yükselmeye göre ABH geliştirmesi muhtemel kritik hastaların taranması ile yapılmıştır (n=101). Kronik böbrek hastalığı olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Kreatinin düzeyi yükselmeden önceki serumlar (0. saat) ve kreatinin düzeyi yükselince alınan plazmalardan MIOX düzeyi ölçülmüştür. Sonuçta ABH gelişen hastalarda, plazma MIOX düzeyinin kreatinininden 54.3 saat önce artmış olduğu bulunmuştur. Bu sonuca göre MIOX düzeyinin ABH gösteren erken bir biyobelirteç olduğu ifade edilmiştir. Yine aynı çalışmada MIOX enziminin böbreklere spesifikliğı Western blot tekniğıyle gösterilmiştir. Yakın zamanda kreatinin artışı ve idrar çıkışı baz alınarak ABH tanısı alan insanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, serum kreatinin artışı ile ABH tanısı konulduğu anda serum MIOX düzeyi sağlıklı kontrol grubuna kıyasla hasta grubunda daha yüksek olarak bulunmuştur (C. Mertoglu, Gunay, Gurel, & Gungor, 2018). Böbrek taşı tedavisinde yapılan retrograd intrarenal cerrahinin böbrek dokusuna etkisinin incelendiğı başka bir

çalışmada, serum MIOX düzeyinin böbrek hasarını göstermede yararlı olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada serum MIOX ve kreatinin değerleri arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (C. Mertoglu, Bozkurt, ve ark., 2018).

Tüm bu çalışmaların sonuçlarına benzer şekilde, bu çalışmanın sonuçları da göstermiştir ki; serum MIOX enzim düzeyleri akut böbrek hasarının erken dönemlerinde artmaktadır. Ancak ABH'nin ilerleyen saatlerinde bu artış azalmaktadır. Nitekim 1 saat iskemi 2 saat reperfüzyon yapılan ikinci grupta en yüksek düzeyde serum MIOX düzeyi ölçülürken, deney süresi uzadıkça bu yükseklik azalmış ve 2 saat iskemi 4 saat reperfüzyon uygulanan V. grupta serum MIOX düzeyi kontrol grubu seviyelerine yaklaşmıştır. Böbrekte I/R hasarının ortaya çıkması için belirli bir süre geçmesi gerekmektedir. Paller ve ark. (Paller, Hoidal, & Ferris, 1984) 60 dk'lık iskemi süresinin I/R hasarı meydana gelmesi için yeterli olduğunu göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da serum BUN ve kreatinin düzeylerinin deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı yüksek olması yeterince böbrek hasarı meydana geldiğini göstermektedir. Bu yüksekliğin en fazla V. grupta olması, en ağır böbrek hasarının da bu grupta olduğunu göstermektedir. III. Grupta kreatinin düzeyinin II. gruba kıyasla daha düşük olması bu grubun reperfüzyon süresinin daha uzun olmasından kaynaklanabilir. Çünkü bu iki gruba da 1 saat iskemi uygulanırken, II. gruba 2 saat reperfüzyon uygulanıp, III. grubun reperfüzyon süresi 4 saate çıkartılmıştır. Halbuki iskemi süreleri (2'şer saat) aynı ancak reperfüzyon süreleri farklı olan IV ve V. gruplarda kreatinin değeri, reperfüzyon süresi daha uzun olan V. grupta daha yüksek bulunmuştur. Bu da iskemi hasarının daha uzun olduğu durumlarda böbrek hasarının da daha yüksek olduğunu göstermektedir. Nitekim histopatolojik incelemede de aynı kreatinin düzeyinde olduğu gibi en ağır hasar V. grupta sonra II ve IV. grupta sonra III. grupta ve tüm deney gruplarında kontrol grubundan yüksek bulunması biyokimyasal verileri desteklemiştir.

Doku MIOX düzeylerinin II, IV ve V. gruplarda kontrol grubuna kıyasla düşük bulunması, böbrek hasarı sonucu tübül hücrelerinde fonksiyon kaybına bağlı enzim üretiminin durmasına ve/veya parçalanmış hücrelerdeki enzimin idrara geçmesine bağlı olabilir. Nitekim iskemik veya nefrotoksik hasara cevaben böbrek tübüllerinden salınan bazı enzimlerin idrara geçişlerinin arttığı önceki çalışmalarda bildirilmiştir (D'Amico & Bazzi, 2003; S S Waikar & Bonventre, 2008). Yine, BUN ve kreatinin düzeyi ile doku

MIOX düzeyi arasındaki negatif korelasyon ilişkisi de bu durumu desteklemektedir. Ancak doku MIOX enzim düzeyinin III. grupta diğer deney gruplarından yüksek olup kontrol grubu seviyelerine yaklaşması, tıpkı bu gruptaki kreatinin düzeyindeki azalma gibi uzun reperfüzyon süresi ile ilişkilidir. Bu gruba yapılan bir saat iskemi dört saat reperfüzyonun daha az bir hasara neden olduğunu göstermektedir.

MIOX enziminin, ABH dışında başka hastalıklarla ilişkisi araştırılmaktadır. Mesela, MIOX enziminin diyabetik nefropatide rolünü inceleyen bir çalışmada; hiperosmolar stres altında, MI katabolizmasının glikuronat-ksiluloz yolu ürünlerinden ksilitolün, renal proksimal tübül epitel hücrelerinde MIOX'ın aşırı ekspresyonunu indüklediği ve pozitif bir geri bildirim mekanizması tarafından düzenlendiği gösterilmiştir (Prabhu, Arner, Vunta, & Reddy, 2005). Başka bir çalışmada MIOX'ın diyabetik nefropatide aşırı ekspresyonunu, glukoz tarafından indüklenen araçların ve aktive kinazların farklı transkripsiyon faktörlerini uyardığı ve bunun da posttranslasyonel modifikasyonla (fosforilasyon) MIOX aktivitesini uyarmasına bağlamışlardır (Nayak ve ark., 2011). Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada renal tübül bir enzim olan MIOX'ın aşırı ekspresyonunun reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine neden olduğu ve bunun da obezite ve diyabetteki tubulo-interstitial hasardan sorumlu olduğu gösterilmiştir (Tominaga ve ark., 2016). Yine yeni bir çalışmada; MIOX over ekspresyonunun redox imbalansına, ROS üretiminin artışına ve diğer antioksidan savunma sistemlerinin dejenerasyonunu neden olarak diyabetik nefropatide renal hasarı artırdığını göstermişlerdir (Sun, Dutta, Xie, & Kanwar, 2016). Başka çalışmalarda da; MIOX'ın yine diyabetik nefropatinin patogenezinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Nayak ve ark., 2005, 2011; Xie, Sun, Oates, Srivastava, & Kanwar, 2010). MIOX ekspresyonunun, nöropati, retinopati ve katarakt gibi diyabetik komplikasyonların görüldüğü ekstra-renal organlarda düşük olduğu bildirilmiştir (Ryan J. Arner ve ark., 2006). MIOX geninin promoter bölgesinde görülen bir tek nükleotit polimorfizminin (rs761745) tip 1 diyabet gelişimiyle ilgili olduğu ileri sürülmüştür (B. Yang et al., 2010). Başka bir çalışmada polikistik over sendromu tanısı alan genç kadınlarda sağlıklı gruba kıyasla, serum MIOX enzim düzeyleri benzer bulunmuştur (Mertoglu, Gunay, Gul ve ark., 2018).

Delanaye ve ark (Delanaye, Rozet, Krzesinski, & Cavalier, 2011), 20 sağlıklı bireyin idrar örneklerinde NGAL'in biyolojik varyasyonunu ve NGAL ve kreatinin

değerleri arasındaki oranı değerlendirmiştir. Her bireyin sabah ilk idrarı on farklı gün toplanmıştır. Sonra ikinci bir idrar örneği aynı gün herhangi bir zamanda rastgele toplanmıştır. İlk sabah idrarının biyolojik varyasyonu NGAL ve NGAL/kreatinin oranlarının coefficient of variation (CV)'si sırasıyla % 84 ve % 81 olarak hesaplanmıştır ($p < 0.05$). İkinci idrar rastgele örneklerinde ise CV'ler sırasıyla % 124 ve % 88 olarak bulunmuştur ($p < 0.05$). Delanaye ve ark. (Delanaye ve ark., 2011) idrar NGAL ölçümlerinde görülen bu birey içi varyasyonu düzeltmek için özellikle randomize idrar örneklerinde NGAL/kreatinin oranlarının kullanılmasını önermişlerdir.

Sonuçta NGAL ölçümü biyolojik varyasyonu, kreatinin oranı kullanıldığında dahi çok yüksek kalmaktadır. Ayrıca NGAL'ın biyolojik varyasyonunu değerlendiren çalışmalar hep sağlıklı bireylerde yapılmış olup ABH hastalarında gerçek varyasyonunun ne olduğunu araştıran bir çalışma araştırmalarımıza göre henüz yapılmamıştır. Bu yüzden bu geniş biyolojik varyasyon NGAL'ın ABH tanısında doğruluğunu kısıtlamaktadır (Clerico ve ark., 2012).

Padhy ve ark. kontrast kaynaklı ABH'nda yaptıkları çalışmada; ABH grubunda serum NGAL düzeyindeki artış, en yüksek 4. saatte ve bu da 0. saatten anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. 24. saatte NGAL düzeyi düşmüş ancak 0. saatten hala yüksek bulunmuştur. Bazal düzeyine ancak 48. saatte ulaşmıştır (Padhy ve ark., 2014).

Diğer bir çalışmada kalp cerrahisi yapılan 114 hastanın; cerrahi öncesi, yoğun bakıma gelişinde ve cerrahiden 24 h sonra NGAL, sistatin c, kreatinin ve BUN ölçümü yapılmış. Kalp cerrahisi geçiren hastaların ameliyat sonrası yoğun bakıma gelişlerinde ölçülen NGAL ve sistatin c değerlerinin ABH tanısında kreatinine üstün olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada cerrahiden hemen sonra daha serum kreatinin düzeyi yükselmeden plazma NGAL düzeyi yüksek bulunurken, 24 saat sonrasında serum kreatinin düzeyi artarken plazma NGAL düzeyi azalmıştır. Sonuçta; plazma NGAL ve sistatin c'nin geleneksel belirteçlere göre ABH'nı tahmin etmede daha üstün oldukları gösterilmiştir (Haase-Fielitz ve ark., 2009).

Bir derlemede 8 farklı ülkeden 19 klinik çalışmada; toplam 2538 hasta incelenmiştir (çocuk ve erişkin) ve ağırlıklı olarak bu hastalar kardiyopulmoner bypas cerrahisi geçirmiş kişilerden oluşmaktadır. İndeks testler olarak serum/plazma ve idrar NGAL düzeyleri hasardan 6 saat önce ya da ABH tanısından 24-48 saat önce

ölçülmüştür. Sonuçta, idrar ve serum NGAL seviyeleri ABH'nın erken tanısında kullanışlı bulunmuştur (Haase ve ark., 2009).

Hayvan çalışmalarında, ipsilateral renal ven klemplenerek yapılan tek taraflı iskemiden sonra böbrekte sentezlenen NGAL'in dolaşımında etkili bir şekilde artmadığı, ancak ipsilateral üreterde bol miktarda bulunduğu gösterilmiştir (Schmidt-Ott ve ark., 2007). Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerlik göstermekte olup, gruplar arasında serum NGAL düzeylerindeki benzerliği açıklamaktadır.

Yine bizim çalışmamızda, serum NGAL düzeylerinde, deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla artış olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bu durum bizim ölçüm yöntemimizin analitik hassasiyetinin bu değişikliği tesbit etmek için yeterli olmadığından da kaynaklanabilir. Benzer şekilde doku NGAL düzeylerinde grup II, IV ve V'de kontrol grubuna kıyasla azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmaması da ölçüm yöntemimizin analitik hassasiyetiyle ilgili olabileceği gibi hayvan çalışmalarının, insan üzerinde yapılan çalışmalara kıyasla kısmen az sayıda denek üzerinde yapılması nedeniyle denek sayısındaki kısmi azlık da olabilir. Serum ve doku NGAL düzeylerindeki bu değişiklik, bu proteinin yine hasar gören böbrek hücrelerinden idrara geçişiyle ilgili olabilir. Benzer şekilde, BUN ve kreatinin düzeyi ile doku NGAL düzeyi arasındaki negatif korelasyon ilişkisi de hasarın artmasıyla beraber doku NGAL düzeyindeki azalmayı göstermektedir ve NGAL'in idrara geçişinde artışla ilişkili olabilir. Nitekim önceki çalışmalarda da, böbrek hasarına cevaben NGAL gibi bazı proteinlerin idrara geçişinde artış olduğu gösterilmiştir (Haase-Fielitz ve ark., 2009; Schmidt-Ott ve ark., 2007; S S Waikar & Bonventre, 2008; Zhou ve ark., 2014). Grup III'de görülen diğer deney gruplarına kıyasla serum NGAL düzeyinde azalma ve doku düzeyinde artma bu gruptaki düşük hasar durumunu serum kreatinin ve doku MIOX düzeylerine benzer şekilde ortaya koymaktadır.

Yapılan ROC analizinde serum BUN ve kreatinin için eğri altında kalan alan serum/doku MIOX ve serum/doku NGAL için eğri altında kalan alanlardan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, serum BUN ve kreatinin değerleri akut böbrek hasarı tanısında en önemli belirteçlerdir. Ancak serum/doku MIOX ve serum/doku NGAL değerlerindeki yüksek sensitivite ve spesifikte ABH tanısında yeri olduğu görülmüştür.

Hiperglisemik durumlarda hücre içi MI düzeyinin önemli olduğu bildirilmiştir (Ryan J. Arner ve ark., 2006). Dokularda MI mikromolar düzeyde bulunur. Ancak diyabetik komplikasyonların görüldüğü sinir, böbrek, lens gibi dokularda MI düzeyinin önemli oranda azaldığı rapor edilmiştir (Ryan J. Arner ve ark., 2006; Greene, Chakrabarti, Lattimer, & Sima, 1987; Lin, Reddy, Giblin, Kador, & Kinoshita, 1991). Ancak MI düzeyinin azalmasında, MI'yi endojen olarak yıkan tek enzim olan MIOX enziminin rolü yeterince aydınlatılamamıştır. Renal proksimal tübül epitel hücrelerinde hiperglisemik stres altında MIOX enziminin daha fazla eksprese olduğu gösterilmiştir (Prabhu et al., 2005). Ancak bu çalışmada MIOX enzimi ile serum glukoz düzeyi arasında herhangi bir ilişki olup olmadığı I/R hasarının karıştırıcı etkisinden dolayı net olarak aydınlatılamamıştır. Serum glukoz düzeyinin V. grupta yüksek bulunmasının nedeni; böbrek hasarının en yüksek olduğu bu grupta, böbrek I/R hasarına sekonder pankreas hasarı gelişmesine bağlı olabilir. Nitekim yapılan çalışmalarda artan oksidatif stresin böbrek I/R hasarına sekonder pankreas hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Abogresha, Greish, Abdelaziz, & Khalil, 2016; Hussein ve ark., 2014).

ABH erken tanı belirteçleri ile ilgili problemlerden birisi de bu belirteçlerin ölçümünde çoğunlukla ELISA yöntemi kullanıldığından ve bu yöntemin de analitik hassasiyetinin düşüklüğü nedeniyle çok farklı cut-off değerlerinin ortaya çıkmasıdır (Haase et al., 2009). Bu nedenle son yıllarda bu belirteçlerin daha güvenilir yöntemler olan kütle spektrometrisi gibi yöntemler ile ölçümü çalışmaları başlamıştır. Nitekim yakın zamanda MIOX, fosfoenolpiruvat karboksikinaz 1, NGAL ve L-FABP markırlarının kütle spektrometrisi ile ölçüm yöntemleri tanımlanmıştır (Gilquin ve ark., 2017). Farklı cut-off değerlerinin ortaya çıkmasının elbette farklı etyolojik nedenler, hasta popülasyonunun ve sayısının farklılığı gibi başka nedenleri de vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, serum MIOX düzeyi ABH'nın erken dönemlerinde yükselmektedir ancak ilerleyen sürelerde tekrar azalmaktadır. Dolayısıyla ABH erken tanısında serum MIOX düzeyi ümit vaat eden potansiyel bir biyobelirteç olabilir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, serum NGAL düzeyi ölçümü böbrek I/R hasarını göstermekte yetersiz kalmaktadır. Serum BUN ve kreatinin değerleri akut böbrek hasarı tanısında hala en önemli belirteçler olarak yerlerini korumaktadırlar.

Ratların küçük anatomik yapısından dolayı bu çalışmada idrar alınamamıştır. Dolayısıyla idrar MIOX düzeyi ölçümü yapılamaması bu çalışmanın başlıca kısıtlılıklarındandır. Bundan sonraki araştırmalarda kapsamlı insan çalışmaları yapılmalıdır. ABH farklı etyolojik nedenlerinde, glomerül ve tübül hasarında serum ve idrar MIOX düzeyi değişimi araştırılması gereken alanlardandır. Yine kütle spektrometrisi gibi ileri ölçüm yöntemlerinden MIOX düzeyi ölçümünde yararlanılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

- Abogresha, N. M., Greish, S. M., Abdelaziz, E. Z., & Khalil, W. F. (2016). Remote effect of kidney ischemia-reperfusion injury on pancreas: Role of oxidative stress and mitochondrial apoptosis. *Archives of Medical Science*, 12(2), 252–262. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.48130>
- Aregger, F., Uehlinger, D. E., Witowski, J., Brunisholz, R. A., Hunziker, P., Frey, F. J., & Jörres, A. (2014). Identification of IGFBP-7 by urinary proteomics as a novel prognostic marker in early acute kidney injury. *Kidney International*, 85(4), 909–919. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.363>
- Arıncı K, E. A. (2001). *Üriner sistem* (Cilt 1). Güneş Kitabevi.
- Arner, R. J., Prabhu, K. S., Krishnan, V., Johnson, M. C., & Reddy, C. C. (2006). Expression of myo-inositol oxygenase in tissues susceptible to diabetic complications. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 339(3), 816–820. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.11.090>
- Arner, R. J., Prabhu, K. S., & Reddy, C. C. (2004). Molecular cloning, expression, and characterization of myo-inositol oxygenase from mouse, rat, and human kidney. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 324(4), 1386–1392. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.09.209>
- Arner, R. J., Prabhu, K. S., Thompson, J. T., Hildenbrandt, G. R., Liken, a D., & Reddy, C. C. (2001). myo-Inositol oxygenase: molecular cloning and expression of a unique enzyme that oxidizes myo-inositol and D-chiro-inositol. *The Biochemical Journal*, 360(Pt 2), 313–20. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3600313>
- Badr, K. F., Kelley, V. E., Rennke, H. G., & Brenner, B. M. (1986). Roles for thromboxane A2 and leukotrienes in endotoxin-induced acute renal failure. *Kidney Int*, 30(4), 474–480. <https://doi.org/10.1038/ki.1986.210>
- Bellomo, R., Ronco, C., Kellum, J. A., Mehta, R. L., Palevsky, P., & Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. (2004). 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. *Critical Care (London, England)*. <https://doi.org/10.1186/cc2872>
- Bonventre, J., & Yang, L. (2011). Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney

- injury. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(11), 4210–4221. <https://doi.org/10.1172/JCI45161.4210>
- Brown, P. M., Caradoc-Davies, T. T., Dickson, J. M. J., Cooper, G. J. S., Loomes, K. M., & Baker, E. N. (2006). Crystal structure of a substrate complex of myo-inositol oxygenase, a di-iron oxygenase with a key role in inositol metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605143103>
- Cavalier, E., Bekaert, A. C., Carlisi, A., Legrand, D., Krzesinski, J. M., & Delanaye, P. (2011). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) determined in urine with the Abbott architect or in plasma with the Biosite Triage? The laboratory's point of view. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.044>
- Charalampous, F. C., & Lyras, C. (1957). Biochemical studies on inositol. IV. Conversion of inositol to glucuronic acid by rat kidney extracts. *The Journal of Biological Chemistry*, 228(1), 1–13.
- Clerico, A., Galli, C., Fortunato, A., & Ronco, C. (2012). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: A review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 50(9), 1505–1517. <https://doi.org/10.1515/cclm-2011-0814>
- Cowland, J. B., & Borregaard, N. (1997). Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics*, 45(1), 17–23. <https://doi.org/10.1006/geno.1997.4896>
- Croze, M. L., & Soulage, C. O. (2013). Potential role and therapeutic interests of myo-inositol in metabolic diseases. *Biochimie*, 95(10), 1811–1827. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.05.011>
- Cruz, D. N., De Cal, M., Garzotto, F., Perazella, M. A., Lentini, P., Corradi, V., Ronco, C. (2010). Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early biomarker for acute kidney injury in an adult ICU population. *Intensive Care Medicine*, 36(3), 444–451. <https://doi.org/10.1007/s00134-009-1711-1>
- D'Amico, G., & Bazzi, C. (2003). Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. <https://doi.org/10.1097/00041552-200311000-00011>

- Delanaye, P., Rozet, E., Krzesinski, J. M., & Cavalier, E. (2011). Urinary NGAL measurement: Biological variation and ratio to creatinine. *Clinica Chimica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2010.10.011>
- Devarajan, P. (2010). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for human acute kidney injury. *Biomark Med.*, 4(2), 265–280. <https://doi.org/10.2217/bmm.10.12>.
- Dieterle, F., Sistare, F., Goodsaid, F., Papaluca, M., Ozer, J. S., Webb, C. P., ... Mattes, W. (2010). Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMEA and Predictive Safety Testing Consortium. *Nature Biotechnology*, 28(5), 455–462. <https://doi.org/10.1038/nbt.1625>
- Feltes, C. M., Van Eyk, J., & Rabb, H. (2008). Distant-organ changes after acute kidney injury. *Nephron - Physiology*. <https://doi.org/10.1159/000142940>
- Filler, G., Bökenkamp, A., Hofmann, W., Le Bricon, T., Martínez-Brú, C., & Grubb, A. (2005). Cystatin C as a marker of GFR—history, indications, and future research. *Clinical Biochemistry*, 38(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2004.09.025>
- Gaut, J. P., Crimmins, D. L., Ohlendorf, M. F., Lockwood, C. M., Griest, T. A., Brada, N. A., ... Ladenson, J. H. (2014). Development of an immunoassay for the kidney-specific protein myo-inositol oxygenase, a potential biomarker of acute kidney injury. *Clinical Chemistry*, 60(5), 747–757. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2013.212993>
- Gilquin, B., Louwagie, M., Jaquinod, M., Cez, A., Picard, G., El Kholy, L., ... Brun, V. (2017). Multiplex and accurate quantification of acute kidney injury biomarker candidates in urine using Protein Standard Absolute Quantification (PSAQ) and targeted proteomics. *Talanta*, 164, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.11.023>
- Goode, D., Lewis, M. E., & Crabbe, M. J. C. (1996). Accumulation of xylitol in the mammalian lens is related to glucuronate metabolism. *FEBS Letters*, 395(2–3), 174–178. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)01012-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)01012-5)
- Greene, D. A., Chakrabarti, S., Lattimer, S. A., & Sima, A. A. F. (1987). Role of sorbitol accumulation and Myo-inositol depletion in paranodal swelling of large myelinated nerve fibers in the insulin-deficient spontaneously diabetic bio-

- breeding rat. Reversal by insulin replacement, an aldose reductase inhibitor, and Myo-inosi. *Journal of Clinical Investigation*, 79(5), 1479–1485. <https://doi.org/10.1172/JCI112977>
- Haase-Fielitz, A., Bellomo, R., Devarajan, P., Story, D., Matalanis, G., Dragun, D., & Haase, M. (2009). Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery--a prospective cohort study. *Critical Care Medicine*, 37(2), 553–560. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e318195846e>
- Haase-Fielitz, A., Haase, M., & Devarajan, P. (2014). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury: a critical evaluation of current status. *Annals of Clinical Biochemistry*, 51(Pt 3),335–51. <https://doi.org/10.1177/0004563214521795>
- Haase, M., Bellomo, R., Devarajan, P., Schlattmann, P., Haase-Fielitz, A., Bagshaw, S. M., ... Zhaohui, N. (2009). Accuracy of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Diagnosis and Prognosis in Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 54(6), 1012–1024. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.07.020>
- Haase, M., Bellomo, R., Story, D., Davenport, P., & Haase-Fielitz, A. (2008). Urinary interleukin-18 does not predict acute kidney injury after adult cardiac surgery: A prospective observational cohort study. *Critical Care*, 12(4). <https://doi.org/10.1186/cc6972>
- Han, W. K. (2005). Human Kidney Injury Molecule-1 Is a Tissue and Urinary Tumor Marker of Renal Cell Carcinoma. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(4), 1126–1134. <https://doi.org/10.1681/ASN.2004070530>
- Han, W. K., Bailly, V., Abichandani, R., Thadhani, R., & Bonventre, J. V. (2002). Kidney Injury Molecule-1 (KIM International, 62(1), 237–244. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00433.x>
- Hankes, L. V., Politzer, W. M., Touster, O., & Anderson, L. (1970). Myo-Inositol Catabolism In Human Pentosurics: The Predominant Role Of The Glucuronate-Xylulose-Pentose Phosphate Pathway. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 165(2), 564–576. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1970.tb56424.x>
- Herget-Rosenthal, S., Marggraf, G., Hüsing, J., Göring, F., Pietruck, F., Janssen, O.,

- Kribben, A. (2004). Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney International*, 66(3), 1115–1122. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00861.x>
- Ho, J., Tangri, N., Komenda, P., Kaushal, A., Sood, M., Brar, R., Rigatto, C. (2015). Urinary, plasma, and serum biomarkers' utility for predicting acute kidney injury associated with cardiac surgery in adults: A meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(6), 993–1005. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.06.018>
- Holub, B. J. (1986). Metabolism and function of myo-inositol and inositol phospholipids. *Annual Review of Nutrition*. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.6.1.563>
- Hošková, L., Franekova, J., Málek, I., Kautzner, J., Szárszoi, O., Jabor, A., ... Melenovský, V. (2016). Comparison of Cystatin C and NGAL in Early Diagnosis of Acute Kidney Injury After Heart Transplantation. *Annals of Transplantation*, 21, 329–245. <https://doi.org/10.12659/AOT.896700>
- Hoste, E. A. J., Clermont, G., Kersten, A., Venkataraman, R., Angus, D. C., De Bacquer, D., & Kellum, J. A. (2006). RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Critical Care (London, England)*, 10(3), R73. <https://doi.org/10.1186/cc4915>
- Howard, C. F., & Anderson, L. (1967). Metabolism of myo-inositol in animals. II. Complete catabolism of myo-inositol-14C by rat kidney slices. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 118(2), 332–339. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(67\)90357-8](https://doi.org/10.1016/0003-9861(67)90357-8)
- Hu, E., Chen, Z., Fredrickson, T., Gellai, M., Jugus, M., Contino, L., ... Brooks, D. (2000). Identification of a novel kidney-specific gene downregulated in acute ischemic renal failure. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 279(3), F426–F439.
- Hussein, A. A. M., Abd-Elkhabir, A., Abozahra, A., Baiomy, A., Ashamallah, S. A., Sheashaa, H. A., & Sobh, M. A. (2014). Pancreatic injury secondary to renal ischemia/reperfusion (I/R) injury: Possible role of oxidative stress. *Physiological Research*, 63(1), 47–55.
- İ., Akkuş. (1995). *Klinik biyokimya laboratuvarı el kitabı*. Akkuş Öz Eğitim Bas. Yay. Dağ. Konya.

- Ichimura, T., Bonventre, J. V., Bailly, V., Wei, H., Hession, C. A., Cate, R. L., & Sanicola, M. (1998). Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *Journal of Biological Chemistry*, 273(7), 4135–4142. <https://doi.org/10.1074/jbc.273.7.4135>
- Junqueira Jose Carneiro, Robert O,K, L. C. (2012). *Histologi Dasar. Edisi 12*.
- Kam Tao Li, P., Burdmann, E. A., Mehta, R. L., & World Kidney Day Steering Committee 2013, F. the W. K. D. S. C. (2013). Acute kidney injury: Global health alert. *Journal of Nephropathology*, 2(2), 90–7. <https://doi.org/10.12860/JNP.2013.15>
- Kamijo, A., Sugaya, T., Hikawa, A., Okada, M., Okumura, F., Yamanouchi, M., ... Kimura, K. (2004). Urinary excretion of fatty acid-binding protein reflects stress overload on the proximal tubules. *American Journal of Pathology*, 165(4), 1243–1255. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63384-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63384-6)
- Kaplanski, G. (2018). Interleukin-18: Biological properties and role in disease pathogenesis. *Immunological Reviews*. <https://doi.org/10.1111/imr.12616>
- Kashani, K., Al-Khafaji, A., Ardiles, T., Artigas, A., Bagshaw, S. M., Bell, M., ... Kellum, J. A. (2013). Discovery and validation of cell cycle arrest biomarkers in human acute kidney injury. *Critical Care*, 17(1), R25. <https://doi.org/10.1186/cc12503>
- Keith L Moore, T V N Persaud, M. G. T. (2016). *Before we are Born: Essentials of Embriology and Birth Defects. Before We Are Born*.
- Kellum, J. a, Lameire, N., Aspelin, P., Barsoum, R. S., Burdmann, E. a, Goldstein, S. L., Uchino, S. (2012). KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International Supplements*, 2(1), 1–138. <https://doi.org/10.1038/kisup.2012.7>
- Knight, E. L., Verhave, J. C., Spiegelman, D., Hillege, H. L., De Zeeuw, D., Curhan, G. C., & De Jong, P. E. (2004). Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney International*, 65(4), 1416–1421. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00517.x>
- Kocoglu, H., Ozturk, H., Ozturk, H., Yilmaz, F., & Gulcu, N. (2009). Effect of

- dexmedetomidine on ischemia-reperfusion injury in rat kidney: A histopathologic study. *Renal Failure*. <https://doi.org/10.1080/08860220802546487>
- Laterza, O. F., Price, C. P., & Scott, M. G. (2002). Cystatin C: An improved estimator of glomerular filtration rate? *Clinical Chemistry*. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03152-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03152-4)
- Legrand, M., Mik, E. G., Johannes, T., Payen, D., & Ince, C. (2008). Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Mol Med*, *14*(7–8), 502–516. <https://doi.org/10.2119/2008-00006.Legrand>
- Lewin, L. M., Yannai, Y., Sulimovici, S., & Kraicer, P. F. (1976). Studies on the metabolic role of myo-inositol. Distribution of radioactive myo-inositol in the male rat. *The Biochemical Journal*.
- Lin, L. R., Reddy, V. N., Giblin, F. J., Kador, P. F., & Kinoshita, J. H. (1991). Polyol accumulation in cultured human lens epithelial cells. *Experimental Eye Research*, *52*(1), 93–100. [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(91\)90132-X](https://doi.org/10.1016/0014-4835(91)90132-X)
- Liu, Y., Guo, W., Zhang, J., Xu, C., Yu, S., Mao, Z., ... Dai, B. (2013). Urinary interleukin 18 for detection of acute kidney injury: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*, *62*(6), 1058–1067. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2013.05.014> [doi]
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. [https://doi.org/10.1016/0304-3894\(92\)87011-4](https://doi.org/10.1016/0304-3894(92)87011-4)
- Mehta, R. L., Kellum, J. a, Shah, S. V., & et al. (2007). Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. <https://doi.org/10.1186/cc5713>
- Melnikov, V. Y., Faubel, S., Siegmund, B., Scott Lucia, M., Ljubanovic, D., & Edelstein, C. L. (2002). Neutrophil-independent mechanisms of caspase-1- and IL-18-mediated ischemic acute tubular necrosis in mice. *Journal of Clinical Investigation*, *110*(8), 1083–1091. <https://doi.org/10.1172/JCI0215623>
- Meng, P. H., Raynaud, C., Tcherkez, G., Blanchet, S., Massoud, K., Domenichini, S., Bergounioux, C. (2009). Crosstalks between myo-inositol metabolism, programmed cell death and basal immunity in Arabidopsis. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007364>
- Mertoglu, C., Bozkurt, A., Keskin, E., & Gunay, M. (2018). Evaluation of the effect of

- retrograde intrarenal surgery with myo-inositol oxygenase. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 34(1). <https://doi.org/10.12669/pjms.341.14094>
- Mertoglu, C., Gunay, M., Gul, V., Kulhan, M., Aktas, M., & Coban, T. A. (2018). Does myo-inositol oxygenase, the only enzyme to catalyze myo-inositol in vivo, play a role in the etiology of polycystic ovarian syndrome? *Gynecological Endocrinology*, 34(5), 418–421. <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1409710>
- Mertoglu, C., Gunay, M., Gurel, A., & Gungor, M. (2018). Myo-inositol oxygenase as a novel marker in the diagnosis of acute kidney injury. *Journal of Medical Biochemistry* (Vol. 37). <https://doi.org/10.1515/jomb-2017-0027>
- Mertoglu, C., Gunay, M., Gurel, A., Gungor, M., & Gul, V. (2018). Ischemic modified albumin increases in acute kidney injury. *Revista Romana de Medicina de Laborator*, 26(1). <https://doi.org/10.2478/rrlm-2018-0002>
- Mertoğlu, C., Senel, U., Cayli, S., Tas, U., Küskü Kiraz, Z., & Özyurt, H. (2016). Protective role of methylprednisolone and heparin in ischaemic-reperfusion injury of the rat testicle. *Andrologia*, 48(7). <https://doi.org/10.1111/and.12503>
- Mishra, J., Qing, M. A., Prada, A., Mitsnefes, M., Zahedi, K., Yang, J., ... Devarajan, P. (2003). Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(10), 2534–2543
<https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000088027.54400.C6>
- Moskala, R., Reddy, C. C., Minard, R. D., & Hamilton, G. A. (1981). An oxygen-18 tracer investigation of the mechanism of myo-inositol oxygenase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 99(1), 107–113.
[https://doi.org/10.1016/0006-291X\(81\)91719-8](https://doi.org/10.1016/0006-291X(81)91719-8)
- Murray, P. T., Mehta, R. L., Shaw, A., Ronco, C., Endre, Z., Kellum, J. A., ... Okusa, M. D. (2014). Potential use of biomarkers in acute kidney injury: Report and summary of recommendations from the 10th Acute Dialysis Quality Initiative consensus conference. In *Kidney International* (Vol. 85, pp. 513–521). <https://doi.org/10.1038/ki.2013.374>
- Nayak, B., Kondeti, V. K., Xie, P., Lin, S., Viswakarma, N., Raparia, K., & Kanwar, Y. S. (2011). Transcriptional and post-translational modulation of myo-inositol oxygenase by high glucose and related pathobiological stresses. *Journal of*

- Biological Chemistry*, 286(31), 27594–27611.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M110.217141>
- Nayak, B., Xie, P., Akagi, S., Yang, Q., Sun, L., Wada, J., ... Kanwar, Y. S. (2005). Modulation of renal-specific oxidoreductase/myo-inositol oxygenase by high-glucose ambience. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(50), 17952–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509089102>
- Padhy, M., Kaushik, S., Girish, M. P., Mohapatra, S., Shah, S., & Koner, B. C. (2014). Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) and cystatin C as early predictors of contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Clinica Chimica Acta*, 435, 48–52. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.04.016>
- Paller, M. S., Hoidal, J. R., & Ferris, T. F. (1984). Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *Journal of Clinical Investigation*, 74(4), 1156–1164. <https://doi.org/10.1172/JCI111524>
- Parikh, C. R., Mishra, J., Thiessen-Philbrook, H., Dursun, B., Ma, Q., Kelly, C., ... Edelstein, C. L. (2006). Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery 5. *Kidney Int.*, 70(0085–2538 (Print)), 199–203. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001527>
- Parikh, C. R., Thiessen-Philbrook, H., Garg, A. X., Kadiyala, D., Shlipak, M. G., Koyner, J. L., ... Coca, S. G. (2013). Performance of kidney injury molecule-1 and liver fatty acid-binding protein and combined biomarkers of aki after cardiac surgery. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 8(7), 1079–1088. <https://doi.org/10.2215/CJN.10971012>
- Pozzoli, S., Simonini, M., & Manunta, P. (2018). Predicting acute kidney injury: current status and future challenges. *Journal of Nephrology*. <https://doi.org/10.1007/s40620-017-0416-8>
- Prabhu, K. S., Arner, R. J., Vunta, H., & Reddy, C. C. (2005). Up-regulation of human myo-inositol oxygenase by hyperosmotic stress in renal proximal tubular epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 280(20), 19895–19901. <https://doi.org/10.1074/jbc.M502621200>
- Reddy, C. C., Pierzchala, P. A., & Hamilton, G. A. (1981). myo-Inositol oxygenase from hog kidney. II. Catalytic properties of the homogeneous enzyme. *Journal of*

Biological Chemistry.

- Reiser IW, P. J. (2001). *Evaluation of renal function*. In Massry SG, Glasscock RJ, ed. Textbook of Nephrology, 4th ed, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.
- Schmidt-Ott, K. M., Mori, K., Li, J. Y., Kalandadze, A., Cohen, D. J., Devarajan, P., & Barasch, J. (2007). Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 18(2), 407–13. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080882>
- Schoenwolf G, Bleyl SB, B. P. (2009). *Larsen's Human Embryology* (Forth). Elsevier, 2009 Development of the urogenital system:
- Schor, N., Ichikawa, I., & Brenner, B. M. (1981). Mechanisms of action of various hormones and vasoactive substances on glomerular ultrafiltration in the rat. *Kidney International*, 20(4), 442–451. <https://doi.org/10.1038/ki.1981.160>
- Sheridan, a M., & Bonventre, J. V. (2000). Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*.
- Shlipak, M. G., Sarnak, M. J., Katz, R., Fried, L. F., Seliger, S. L., Newman, A. B., ... Stehman-Breen, C. (2005). Cystatin C and the Risk of Death and Cardiovascular Events among Elderly Persons. *New England Journal of Medicine*, 352(20), 2049–2060. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043161>
- Siew, E. D., Ware, L. B., & Ikizler, T. A. (2011). Biological markers of acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*, 22(5), 810–820. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010080796>
- Singbartl, K., & Kellum, J. A. (2012). AKI in the ICU: Definition, epidemiology, risk stratification, and outcomes. *Kidney International*. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.339>
- Spahillari, A., Parikh, C. R., Sint, K., Koyner, J. L., Patel, U. D., Edelstein, C. L., ... Shlipak, M. G. (2012). Serum cystatin C- versus creatinine-based definitions of acute kidney injury following cardiac surgery: a prospective cohort study. *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 60(6), 922–9. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2012.06.002>
- Sun, L., Dutta, R. K., Xie, P., & Kanwar, Y. S. (2016). myo-inositol oxygenase overexpression accentuates generation of reactive oxygen species and exacerbates

- cellular injury following high glucose ambience: A new mechanism relevant to the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Journal of Biological Chemistry*, 291(11), 5688–5707. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.669952>
- Supavekin, S., Zhang, W., Kucherlapati, R., Kaskel, F. J., Moore, L. C., & Devarajan, P. (2003). Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion. *Kidney International*, 63(5), 1714–1724. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00928.x>
- Susantitaphong, P., Siribamrungwong, M., Doi, K., Noiri, E., Terrin, N., & Jaber, B. L. (2013). Performance of urinary liver-type fatty acid-binding protein in acute kidney injury: A meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 61(3), 430–439. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2012.10.016>
- Textbook, H., & Physiology, M. (2011). Hall : Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology , 12th ed . *Physiology*, 768–769.
- Tominaga, T., Dutta, R. K., Joladarashi, D., Doi, T., Reddy, J. K., & Kanwar, Y. S. (2016). Transcriptional and translational modulation of myo-inositol oxygenase (Miox) by fatty acids: Implications in renal tubular injury induced in obesity and diabetes. *Journal of Biological Chemistry*. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.698191>
- United States Renal Data System. (2016). 2016 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States.
- Urbschat, A., Obermüller, N., & Haferkamp, A. (2011). Biomarkers of kidney injury. *Biomarkers : Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 16 Suppl 1(May), S22-30. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2011.587129>
- Vaidya, V. S., Ramirez, V., Ichimura, T., Bobadilla, N. A., & Bonventre, J. V. (2006). Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 290(2), F517–F529. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00291.2005>
- Waikar, S. S., Betensky, R. A., & Bonventre, J. V. (2009). Creatinine as the gold standard for kidney injury biomarker studies. *Nephrology Dialysis Transplantation*. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp428>
- Waikar, S. S., & Bonventre, J. V. (2008). Biomarkers for the diagnosis of acute kidney

- injury. *Nephron Clin Pract*, 109(4), c192-7. <https://doi.org/000142928> [pii]r10.1159/000142928
- Wei, Qi., A., & Dong, Z. (2012). Mouse model of ischemic acute kidney injury: technical notes and tricks. *American Journal of Physiology Renal Physiology*, 303(11), F1487–F1494. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00352.2012>
- Xie, P., Sun, L., Oates, P. J., Srivastava, S. K., & Kanwar, Y. S. (2010). Pathobiology of renal-specific oxidoreductase/myo-inositol oxygenase in diabetic nephropathy: its implications in tubulointerstitial fibrosis. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 298(6), F1393–F1404. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00137.2010>
- Yang, B., Hodgkinson, A., Millward, B. A., & Demaine, A. G. (2010). Polymorphisms of myo-inositol oxygenase gene are associated with Type 1 diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 24(6), 404–408. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2009.09.005>
- Yang, Q., Dixit, B., Wada, J., Tian, Y., Wallner, E. I., Srivastva, S. K., & Kanwar, Y. S. (2000). Identification of a renal-specific oxido-reductase in newborn diabetic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(18), 9896–9901. <https://doi.org/10.1073/pnas.160266197>
- Zang, X. J., An, S. X., Feng, Z., Xia, Y. P., Song, Y., & Yu, Q. (2014). In vivo mechanism study of NGAL in rat renal ischemia-reperfusion injury, 13(4), 8740–8748.
- Zhang, A., Cai, Y., Wang, P.-F., Qu, J.-N., Luo, Z.-C., Chen, X.-D., Yin, Y.-H. (2016). Diagnosis and prognosis of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury with sepsis: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*, 20(1), 41. <https://doi.org/10.1186/s13054-016-1212-x>
- Zhou, X., Ma, B., Lin, Z., Qu, Z., Huo, Y., Wang, J., & Li, B. (2014). Evaluation of the usefulness of novel biomarkers for drug-induced acute kidney injury in beagle dogs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 280(1), 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.07.002>

ÖZGEÇMİŞ

Adı- Soyadı: **Cuma MERTOĞLU**

Doğum Tarihi ve Yeri: 1985 / Darende

Görev Yeri ve Akademik Ünvanı: Erzincan Üniv. Tıp Fakültesi / Dr. Öğr. Üyesi

Mezun Olduğu Lise/ Üniversite / Fakülte ve Mezuniyet Tarihi:

- Lise: Akçadağ Anadolu Öğretmen Lisesi 2001

- Lisans: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi 2007

- Tıpta Uzmanlık: Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı 2013

- Doktora: Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı 2019

e - mail: drcumamert@hotmail.com

Başlıca Yayınları:

1. Mertoğlu Cuma, Günay Murat, Güngör Mehmet, Kulhan Mehmet, Kulhan Nur Gözde (2018). A Study Of Inflammatory Markers In Gestational Diabetes Mellitus. Gynecology Obstetrics Reproductive Medicine, 1, Doi: 10.21613/Gorm.2018.775

2. Mertoğlu Cuma, Günay Murat, Şiranlı Gülşah, Kulhan Mehmet, Gök Gamze, Erel Özcan (2018). The Effect Of The 50 G Glucose Challenge Test On The Thiol/Disulfide Homeostasis İn Pregnancy. Fetal And Pediatric Pathology, 1-10., Doi: 10.1080/15513815.2018.1453002

3. Mertoğlu Cuma, Bozkurt Aliseydi, Keskin Ercüment, Günay Murat (2018). Evaluation Of The Effect Of Retrograde Intrarenal Surgery With Myo-Inositol Oxygenase. Pakistan Journal Of Medical Sciences, 34(1), Doi: 10.12669/Pjms.341.14094

4. Mertoğlu Cuma, Günay Murat, Gürel Ali, Güngör Mehmet, Gül Vahdet (2018). Ischemic Modified Albumin İncrases İn Acute Kidney İnjury. Revista Romana De Medicina De Laborator, 26(1), 37-43., Doi: 10.2478/Rrlm-2018-0002

5. Mertoğlu Cuma, Günay Murat, Gül Vahdet, Kulhan Mehmet, Aktaş Mehmet, Çoban Taha Abdulkadir (2017). Does Myo-İnositol Oxygenase, The Only Enzyme to

Catalyze Myo-İnositol İn Vivo, Play A Role İn Theetiology Of Polycystic Ovarian Syndrome?.Gynecological Endocrinology, 1- 4., Doi: 10.1080/09513590.2017.1409710

6. Mertoğlu Cuma, Günay Murat, Yerligök Onur (2017). Could Endocan, A Markerof Inflammation And Endothelial Dysfunction, Be A New Diagnostic Marker For Fibromyalgia?. Clinical Laboratory, Doi: 10.7754/Clin.Lab.2017.171024

7. Mertoğlu Cuma, Arslan Naykı Ümit, Naykı Cenk, Günay Murat (2017). The Relationship Between Vitamın Dand Human Papilloma Virus Infection. Journal Of Clinical And Analytical Medicine, Doi: 10.4328/Jcam.5400

8. Kulhan Mehmet, Kulhan Nur Gözde, Arslan Naykı Ümit, Ata Nahit,Uluğ Paşa,Mertoğlu Cuma (2017). Assessment Of The Relationship Between Serum Vitamin (A, B 12 , C, D, Folate) And Zinc Levels And Polycystic Ovary Syndrome. Archives Of Medical Science - Civilization Diseases, 1, 62-69., Doi: 10.5114/Amscd.2017.66840

9. Mertoğlu Cuma, Günay Murat, Gürel Ali, Güngör Mehmet (2017). Myo-Inositol Oxygenase As A Novel Marker İn The Diagnosis Of Acute Kidney Injury. Journal Of Medical Biochemistry, 37(1), 1- 6., Doi: 10.1515/Jomb-2017-0027

10. Altuntaş Emine, Bengü Aydın Şükrü, Küskü Kiraz Zeynep, Mertoğlu Cuma, Dalar Levent, Usalp Songül, Çiftçi Çavlan (2017). Yeni Tespit Esansiyel Hipertansiyon İle Sigara, Asimetrik Dimetil Arginin Ve İskemik Modifiye Albumin Arasındaki İlişki. İstanbul Tıp Dergisi, 18(2), 86-90., Doi: 10.5152/İmj.2017.76258

11. Mertoğlu Cuma, Günay Murat (2016). Neutrophil Lymphocyte Ratio And Platelet Lymphocyte Ratio As Useful Predictive Markers Of Prediabetes And Diabetes Mellitus. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, Doi: 10.1016/J.Dsx.2016.12.021

12. Mertoğlu Cuma, Şenel Ufuk, Çaylı Sevil, Taş Ufuk, Küskü Kiraz Zeynep, Özyurt Hüseyin (2015). Protective Role Of Methylprednisolone And Heparin İn İschaemic Reperfusion İnjury Of The Rat Testicle. Andrologia, Doi: 10.1111/And.12503

13. Mertoğlu Cuma, Küskü Kiraz Zeynep, Söğüt Erkan, Özyurt Hüseyin (2015). Melatonin And A Single High Dose Methylprednisolone Effect On The Oxidantantioxidant System İn The Rabbit Heart Tissue Melatonin Ve Tek Yüksek Doz Metilprednizolonun Tavşan Kalp Dokusunda Oksidan Antioksidan Sistem Üzerine

Etkisi. Turkish Journal Of Biochemistry-Turk Biyokimya Dergisi, 40(4), Doi: 10.1515/Tjb-2015-0019

14. Söğüt Erkan, Kadı Hasan, Karayakalı Metin, Mertoğlu Cuma (2015). The Association Of Plasma Vitamin A And E Levels With Coronary Collateral Circulation. *Atherosclerosis*, 239(2), 547- 551., Doi: 10.1016/J.Atherosclerosis.2015.02.029

15. Alaçam Hasan, Avcı Bahattin, Şalış Osman, Dilek Ahmet, Kozan Ahmet, Mertoğlu Cuma, Şahin Mehmet, Okuyucu Ali (2013). Does Adma Effect The Oxidant Antioxidant Balance İn Rats. *Turkish Journal Of Medical Sciences*, Doi: 10.3906/Sag-1206-11

16. Alaçam Hasan, Karlı Rıfat, Alıcı Ömer, Avcı Bahattin, Güzel Ahmet, Kozan Ahmet, Mertoğlu Cuma, Murat Naci, Salış Osman, Güzel Ahmet, Şahin Mehmet (2012). The Effects Of α -Tocopherol On Oxidative Damage And Serum Levels Of Clara Cell Protein 16 In Aspiration Pneumonitis Induced By Bile Acids. *Human Experimental Toxicology*, 32(1), 53-61., Doi: 10.1177/0960327112459531

03.01.2019