

**T. C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

DENEYSEL NEFROPATİDE İRİSİNİN TERAPÖTİK ETKİSİ

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Soykan BİÇİM**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER**

**ELAZIĞ
2016**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Murad ATMACA

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Emir DÖNDER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hüseyin ÇELİKER

Danışman

Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

TEŞEKKÜR

Dört yıl süresince uzmanlık öğrenimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım Prof.Dr. Hüseyin ÇELİKER ve Fırat Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Emir DÖNDER olmak üzere saygıdeğer hocalarım; Prof.Dr. Ayhan DOĞUKAN, Prof.Dr. Yusuf ÖZKAN, Prof.Dr. İbrahim Halil BAHÇECİOĞLU, Prof.Dr. Bilge AYGEN, Prof.Dr. Mehmet YALNIZ, Prof.Dr. S. Serdar KOCA, Doç.Dr. Burak UZ, Doç.Dr. Ulvi DEMİREL, Doç.Dr. Leyla KILIÇ, Yrd.Doç.Dr. Ömür Gökmen SEVİNDİK, Yrd.Doç.Dr. Kader UĞUR, Yrd.Doç.Dr. Asude AKSOY, Yrd.Doç.Dr. Nevzat GÖZEL, Yrd.Doç.Dr. Ramazan ULU, Yrd.Doç.Dr. Mustafa CANHOROZ'a teşekkür ederim.

Tezimin baştan sona tüm aşamalarında yardımcı geçen saygıdeğer hocalarım Prof.Dr. Süleyman AYDIN ve Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, istatistikte yardımını esirgemeyen Uzm. Dr. Selçuk Yusuf ŞENER abime, hayvan deneyi safhasında başını ağrıttığım ve tüm asistanlık sürecinde desteğini gördüğüm Uzm. Dr. Abdullah Mübin ÖZERCAN abime teşekkür ederim. Bütün tez aşamalarında omuz omuza verip çalıştığım Dr. Ahmet GÜLMEZ kardeşime teşekkür ederim.

Bana öğrettikleriyle zorlu hayat denizinde yolumu bulmamı sağlayan rahmetli babama, varlıklarından güç aldığım annem ve ablama teşekkür ederim.

Her daim yanımda olan, varlığıyla huzur bulduğum eşim Tülin Biçim'e teşekkür ederim.

ÖZET

Böbrek yetmezliği böbreğin temel fonksiyonlarının kaybı olarak tanımlanır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça önemli bir sağlık sorunudur. İrisin yeni keşfedilen peptit olup insan metabolizmasında önemli etkileri olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda adriamisin ile oluşturulan nefropatide irisinin etkisi incelendi. Bu amaçla 28 adet Wistar Albino cinsi erkek rat 4 guruba ayrıldı:

1. Grup: Standart diyet verildi. Çalışma boyunca herhangi bir enjeksiyon yapılmadı.

2. Grup: İrisin ratlara intraperitoneal olarak 3 günde 1 kez 80,65 pmol/kg dozunda verildi. Toplamda 5 kez uygulandı ve 14. günde sakrifasyon uygulandı.

3. Grup: 10 mg/kg dozunda adriamisin çalışmanın ilk gününde intraperitoneal olarak 1 kez uygulandı. 14.günde sakrifasyon uygulandı.

4. Grup: 10 mg/kg dozunda adriamisin çalışmanın ilk gününde intraperitoneal olarak 1 kez uygulandı. İrisin ratlara intraperitoneal olarak 3 günde 1 kez ve 80,65 pmol/kg dozunda uygulandı. Toplamda 5 kez irisin enjeksiyonu yapıldı. Bu guruba da 14. günde sakrifasyon uygulandı.

Çalışmanın sonunda biyokimyasal değerlendirme için kan örnekleri, immunhistokimyasal değerlendirme ve TUNEL için böbrek doku örnekleri alındı. ELISA ile dokuda ve serumda irisin düzeyi çalışıldı.

Adriamisin verilen grupta böbrek dokusunda irisin düzeyinin azaldığı ELISA ve immunhistokimyasal olarak gösterildi. İrisin tedavi gurubu, adriamisin gurubu ile karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliğinde azalma saptandı.

Sonuç olarak çalışmamız, böbrek yetmezliğinde irisin düzeyinde azalma olduğunu ve dışarıdan verilen irisinin gelişen renal hasara karşı koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmüştür.

Anahtar kelimeler: nefropati, adriamisin, irisin

ABSTRACT

THE THERAPEUTIC EFFECT OF IRISIN ON EXPERIMENTAL NEPHROPATHY

Renal failure is described by the loss of basic functions of the kidney. It is an important health issue in our country as the whole world. Irisin which is a newly discovered peptide and determined it has serious effects on human metabolism. The influence of the irisin on the adriamycin induced nephropathy examined in our study. In this purpose, 28 male Wistar Albino rats were divided into 4 groups:

1. Group: Standart diet given. Any injection was made during the study.
2. Group: Irisin has been given intraperitoneally on once every three days and 80,65 pmol/kg dosage. It is administrated on 5 times totally and sacrificed at day 14.
3. Group: Adriamycin has been administrated once, intraperitoneally, 10 mg/kg dosage. Sacrificed at day 14.
4. Group: Adriamycin has been administrated once, intraperitoneally, 10 mg/kg dosage. Irisin has been given intraperitoneally on once every three days and 80,65 pmol/kg dosage. It is administrated on 5 times totally and sacrificed at day 14.

At the end of the study, blood samples for biochemical tests, renal tissue samples for immunohistochemical and TUNEL tests, were taken. Serum and tissue irisin levels are examined with ELISA.

It is revealed with ELISA and immunohistochemically that the irisin levels of the kidney tissue of adriamycin given group was decreased. When compared with adriamycin given group, a decrement was detected on TUNEL positivity on irisin treatment group.

In conclusion, our data revealed that the irisin levels decrease in renal failure and it can be thought that exogenous irisin can have a protective effect against developing renal injury.

Key words: nephropathy, adriamycin, irisin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	2
1.1.1. Böbrek	2
1.1.1.1. Böbreğin Yapısı	2
1.1.1.2. Böbreğin Vasküler Yapıları, Lenfatikleri ve İnervasyonu	2
1.1.1.3. Nefronun Yapısı	3
1.1.1.4. Nefronu Etkileyen Hastalıklar	4
1.1.1.5. Nefrotoksisite	4
1.1.1.5.1. İlaça Bağlı İntersitisyel Nefritis	7
1.1.1.5.2. İlaça Bağlı Akut Tübüler Nekroz	8
1.1.2. Adriamisin (Doksorubisin)	8
1.1.2.1. Adriamisinin Etki Mekanizması	9
1.1.2.2. Adriamisinin Farmakokinetiği	10
1.1.2.3. Adriamisinin Yan Etkileri	11
1.1.2.3.1. Adriamisin Kardiyotoksitesisi	12
1.1.2.3.2. Adriamisin Nefrotoksitesisi	14
1.1.2.4. Deneysel Model Olarak Adriamisin	16
1.1.3. İrisin	19
1.1.3.1. İrisin Nedir?	19
1.1.3.2. Metabolizma, Egzersiz ve İrisin	23
1.1.3.3. İrisin ile İlgili Bazı Çalışmalar	24
1.1.3.3. İrisinin Sentezlendiği Dokular ve Etkileri	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM	30
2.1. Deney Hayvanları	30
2.2. Çalışma grupları	30

2.3. Nefropati İndüksiyonu	31
2.4. İrisinin Uygulanması	31
2.5. Sakrifiyon	31
2.6. Örneklerin Hazırlanması Ve Saklanması	31
2.7. Dokuların Homojenizasyonu	31
2.8. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü	32
2.9. ELISA (Enzyme-Linked Immunsorbent Assay) Yönteminin Temel Prensipli Ve Örneklerin Değerlendirilmesi	32
2.10. İmmünohistokimya	33
2.11. TUNEL Metodu	34
2.12. İstatistiksel Analiz Yöntemleri	36
3. BULGULAR	37
3.1. Ağırlık değişimi	37
3.2. Böbrek Ağırlıkları	40
3.3. ELISA İle Değerlendirilen Serum İrisin Düzeyleri Ortalamaları	41
3.4. ELISA İle Değerlendirilen Doku İrisin Düzeyleri Ortalamaları	42
3.5. Serum Üre Düzeyleri	43
3.6. Serum Kreatinin Düzeyleri	44
3.7. İmmünohistokimyasal Bulgular (İrisin İmmünreaktivitesi)	45
3.8. TUNEL Bulgular	48
4. TARTIŞMA	51
5. KAYNAKLAR	55
6. ÖZGEÇMİŞ	65

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Nefrotoksik Ajanlar Ve Böbrekteki Toksisite Mekanizmaları	7
Tablo 2.	Bazı Hastalıklar ve Ksenobiyotik İlişkili Hayvan Modelleri	17
Tablo 3.	Böbrekte İlaç İlişkili Tübuler Epitelyal Apoptoz Ve Etkilenen Organeller	18
Tablo 4.	TUNEL boyama prosedürü	35
Tablo 5.	Adriamisin ile nefropati oluşturulan ratlarda irisinin hayvan ağırlıkları üzerine tkisi	38
Tablo 6.	İrisin histoskor	45
Tablo 7.	Apoptotik indeks (%)	48

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	DNA ile interkale olmuş 2 adet adriamisin molekülü	9
Şekil 2.	İrisin hormonunun temsili aminoasit dizilimi	21
Şekil 3.	İrisin'in sentezlendiği başlıca dokular ve muhtemel biyokimyasal ve fizyolojik etkileri	29
Şekil 4.	Grupların ortalama ağırlık değişiminin çizgi grafik ile gösterimi	39
Şekil 5.	Grupların ortalama böbrek ağırlıkları	40
Şekil 6.	ELISA ile değerlendirilen serum irisin düzeyleri ortalamaları	41
Şekil 7.	ELISA ile değerlendirilen doku irisin düzeyleri ortalamaları	42
Şekil 8.	Gurupların serum üre düzeyleri	43
Şekil 9.	Gurupların serum kreatinin düzeyleri	44
Şekil 10.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi	46
Şekil 11.	İrisin grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi	46
Şekil 12.	Adriamisin grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi	47
Şekil 13.	Adriamisin+İrisin grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi	47
Şekil 14.	Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	49
Şekil 15.	İrisin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	49
Şekil 16.	Adriamisin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	50
Şekil 17.	Adriamisin+İrisin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler	50

KISALTMALAR LİSTESİ

ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AML	: Akut Miyelositer Lösemi
ALL	: Akut Lenfoblastik Lösemi
AI	: Apoptotik İndeks
ATN	: Akut Tübüler Nekroz
ATP	: Adenozintrifosfat
BUN	: Kan üre nitrojeni
CK	:Kreatin kinaz
COX-2	: Cyclooxygenase-2
CYP	: Sitokrom P
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme-Linked Immunsorbent Assay
FNDC5	: Fibronektin tip III bölgesi içeren protein 5
FSGS	: Fokal Segmental Glomerüloskleroz
GN	: Glomerülonefrit
FDA	: Food and Drug Administration
ICAM-1	: Hücre İçi Adezyon Molekülü-1
İL	: İnterlokin
KBY	: Kronik Böbrek Yetmezliği
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
Lrg1	: Lösin-zengin alfa-2-glikoprotein 1
NSAİİ	: Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar
PGC1 α	: PPAR γ koaktivatör α
PPAR γ	: Peroksizom proliferatör-aktive reseptör γ
RNA	: Ribonükleik asit
SDBY	: Son dönem böbrek yetmezliği
TIMP4	: Metalloproteinaz doku inhibitörü 4
TSH	: Tiroid stimulan hormon
UCP-1	: Uncoupling Protein-1
VEGFβ	: Vasküler endotelial büyüme faktörü β

1. GİRİŞ

Böbrek yetmezliği böbreğin temel fonksiyonlarının kaybı olarak tanımlanır. Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de oldukça önemli bir sağlık sorunudur. Zamanlama açısından oldukça katastrofik seyredebilen akut böbrek yetmezliği ile uzun dönemde hasta sağlığı ve yaşam kalitesi açısından zorlu tedaviler gerektiren kronik böbrek yetmezliği olarak ikiye ayrılabilir. Ülkemizde 2003 yılsonu itibarıyla renal replasman tedavisi gerektiren son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) hasta sayısı önceki yıllara göre artmıştır. 2003 yılında SDBY'nin insidansı milyon nüfus başına 118 iken nokta prevelansı 432'yi bulunmuştur. Tüm prevelant SDBY hastalarının ortalama yaşı 49 yıl iken diabetik hastaların yaş ortalaması 53.1 yıl bulunmuştur. Prevelant olgularda son dönem böbrek yetmezliğine götüren başlıca nedenler diabetes mellitus (%22,8), hipertansiyon (%18,1) ve kronik glomerüler hastalıklardır (%16,6). Ülkemizdeki primer renal replasman tedavisi hemodiyalizdir (%77,4). Bunu sırasıyla böbrek transplantasyonu (%12,1) ve periton diyalizi (%10,7) izlemektedir (1). Glisemik kontrol bozukluğu, hipertansiyon, obezite, insülin rezistansı, hiperlipidemi, diyetle yüksek protein alımı, albüminüri varlığı, sigara kullanımı böbrek yetmezliğinde prognozu kötüleştirmektedir (2). Böbrek yetmezliğinin tedavisi, hastaların yaşam kalitesi ve süresi, sağlık giderleri, hastaneye başvuru sayısı ve hatta böbrek yetmezliğine bağlı gelişen komplikasyonlar açısından önemlidir.

İrisin, termojenik (ısı üreten) bir protein olup; beyaz yağ dokusunu kahverengi yağ dokusuna dönüştürerek enerji tüketimine neden olur (3). Beyaz yağ dokunun insan vücudunda insülin direnci gelişimine yol açtığı tespit edilmiştir (4). İnsülin direnci de tip 2 diyabetin patofizyolojisinde yer almaktadır. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, non-enzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır (5-8). Belirtilen biyokimyasal olaylar böbrek yetmezliğinin patofizyolojisinde de yer almaktadır. İrisin ilk kez 2012 yılında Boström ve ark. (3) tarafından kas dokusundan izole edilmiştir. Plazma irisin konsantrasyonunun egzersizle arttığı keşfedilmiştir (9). Ayrıca irisinin böbrek,

adipoz doku, kalp kası, intrakranial arterler, karaciğer, miyelin kılıf, sinir hücreleri, tükürük bezi, mide, dil, testisler gibi pek çok organda ve dokuda immünreaktivitesi tespit edilmiştir (10). Bununla beraber kronik böbrek hastalığında dolaşımdaki irisin seviyelerinin düştüğünü bildiren çalışmalar vardır (11-14). Yapılan bazı çalışmalarda ise Tip 2 diyabetli ve böbrek yetmezliği olan hastaların serum irisin seviyeleri ölçülmüş ve irisin seviyelerinin düşük olduğu saptanmıştır (12).

1.1. Genel Bilgiler

1.1.1. Böbrek

1.1.1.1. Böbreğin Yapısı

Böbrekler retroperitoneal alanda vertebral kolonun her iki yanında bulunurlar. Etrafı yağ dokusu ve gevşek bağ dokusu ile çevrilidir. Üst kutupları 12.toraksik vertebra, alt kutupları 3.lomber vertebra hizasındadır. Sol böbreğe göre sağ böbrek, karaciğer basısı nedeniyle (yaklaşık 1 kosta kadar) daha aşağıdadır. Erişkin bir erkekte böbrek ortalama 125-170 gram ağırlığında olup kadınlarda 115-155 gram kadardır (15). Yetişkin bir insandaki böbreğin boyutları: uzunluğu 12-13 cm, eni 6-7 cm, derinliği ise 3 cm civarında olup bu büyüklük kişinin vücut yüzeyi ile ilgilidir. Her bir böbreğin konkav olan medial yüzünde renal hilus vardır. Renal hilustan böbreğin arterleri, venleri, lenfatikleri, üreter, nöral yapılar ve renal pelvis geçer. Renal pelvis başlangıçta 3 majör kalikse, majör kaliksler ise 8 veya daha fazla minör kalikse bölünür. Böbreğin uzunlamasına kesitinde bakılacak olursa korteks ve medulla adı verilen iki farklı bölge görülür. Renal medulla, genellikle 12-18 adet koni şeklinde piramitten oluşur. Piramitlerin uç kısımları renal pelvis içine doğru uzanır (papilla) ve tabanı kortikomedüller sınıra komşudur. Her bir papillaya 15 veya daha fazla terminal toplayıcı (kollektör) kanal (Bellini) açılır. Yaklaşık 1 cm kalınlığındaki renal korteks hem piramidlerin tabanını örter hem de aralarından içeriye doğru ilerler (Bertin'in böbrek kolonları) (16).

1.1.1.2. Böbreğin Vasküler Yapıları, Lenfatikleri ve İnervasyonu

Böbrekler abdominal aortanın dalları (renal arterler) tarafından beslenir. Varyasyonlar göstermekle beraber sağ renal arter vena kava inferiorun altından geçerek sağ böbreğe ulaşır. Her iki renal arter benzer isimli venleri ile birlikte seyreder (17). Renal arter çoğunlukla anterior ve posterior olarak iki dala ayrılır ve

bu dallar da daha sonra üst, orta ve alt lobar dallara ayrılır. Böbrek parankimine girince interlobar arter adını alır, meduller piramitlerin kenarlarından kortekse doğru ilerleyerek piramidlerin tabanındaki arkuat arterler ile devam ederler. Arkuat arterlerden dik olarak çıkan interlobuler arterler korteks içinden periferde doğru ilerler. Bu arterden glomerüle giden afferent arterioller çıkar. Özelleşmiş kapiller bir yumak olan glomerülün kanı, vasküler polden çıkan afferent arteriol ile taşınır. Efferent arterioller hemen dallanarak korteksteği tübülüslerin çevresini saran peritübüler kapiller ağını oluşturur. Jukstamedüller glomerüllerin arteriollerinden çıkan kapiller (vasa recta olarak adlandırılır) medullanın derinliklerine doğru inerler. Venöz sistem de arteriyel sisteme benzer tarzda bir yol izler. Kapillerlerden gelen kan sırasıyla interlobüler, arkuat, interlobar ve lobar venlerden geçerek renal venlere oradan da inferior vena kava'ya drene olur (18).

Sol böbrek paraaortik lenf nodlarına drene olurken sağ böbrek parakaval ve interaortakaval lenf nodlarına drene olur. İnnervasyonuna bakıldığında ise sempatik sinir sisteminin postgangliyonik liflerini içeren renal pleksus renal arter çevresinde yer alır (Torakal 10 ile lomber 2 arası). Pleksustan çıkan sinir lifleri böbreğe renal arterlerle birlikte girerek vasküler tonus ve renin salınımını düzenlerler (17).

1.1.1.3. Nefronun Yapısı

Böbrekteki en küçük fonksiyonel fizyolojik birim nefrondur. Her böbrekte bir milyon nefron vardır. Her bir nefron 5 bölüm içermektedir.

Glomerül, proksimal tübülüs, Henle kulpu (loop), distal tübülüs, ve kollektör (toplayıcı kanallar) olarak sayılabilir. Glomerül, proksimal ve distal tübüller kortekste; kollektör kanallar ve Henle kulpunun bir kısmı da medullada bulunmaktadır (18).

Glomerül, anatomik olarak doğru ismi (renal corpuscle) böbrek cisimciğidir. Glomerül, glomerüler yumak ve Bowman kapsülünü içerir. Bowman kapsülü renal tübülün genişlemiş son kısmıdır. Glomerüler yumak 3 adet özelleşmiş hücre içerir. Bazal membran, destekleyici yapı ve mezengium (19). Glomerüler yumak ve mezenşiyum, podosit (ayaksı çıkıntı) denilen epitelyal hücrelerce sarılmıştır. Bowman kapsülünün parietal ve viseral katları arasında yer alıp proksimal tübülüse açılan bölge ise, idrar boşluğu veya Bowman boşluğu olarak adlandırılır. Açıldığı kutbun tam karşısında ise vasküler yapılar bulunur. İdrar oluşumunun başlangıcı olan

süzülme (ultrafiltrasyon) süreci ile glomerüler filtrasyon bariyerinde başlar. Glomerüler filtrasyon bariyeri üç tabakadan oluşur; fenestrasyonlu (delikli) endotel hücreleri, periferik glomerüler bazal membran ve podosit olarak bilinen viseral epitel hücreleri (20). Ultrafiltrasyonda önemli rolü bulunan glomerüler bazal membran (GBM) podosit ve endotelyal hücrelerden sentezlenir. Yapısında Tip 4 ve Tip 5 kollajen laminin, heparan sülfat ve entaktin gibi moleküller bulunur. GBM hem charge selektivite (yüksek seçicilik) hem de size selektivite (boyutsal seçicilik) gösterir. Heparan sülfat gibi polianyonik glikoproteinlerin rol oynadığı düşünülen yüksek seçicilikte bariyer negatif yüklüdür. Bu sebeple aynı yüklü molekülleri iter. Boyut seçiciliği ise ortalama makromolekül çapının 2nm'nin üstüne çıkması ile başlar. Oluşan ultrafiltrat Bowman aralığından geçip proksimal tübülüse ulaşır (19).

Proksimal tubulus ultrafiltratın hacmini ve iyonik kompozisyonunu değiştirdiği ilk kısımdır. Yapısında bulunan Na⁺/K⁺-ATP'az sürücü kuvveti oluşturur. Solutlerin ve iyonların büyük kısmı burada emilir. Henle kulpu ise idrarın konsantrasyon ve dilüsyonunda görevlidir. Emilim fonksiyonu da vardır. Distal tubule ulaşan idrar kollektör kanalları ve toplayıcı kanallardan geçerek papilla yoluyla kalikslere ulaşır (18).

1.1.1.4. Nefronu Etkileyen Hastalıklar

Oldukça geniş bir çerçeveden incelediğimizde nefronu etkileyen hastalıkları; primer glomerüler hastalıklar (membranöz glomerülonefrit [GN], lipoid nefroz, fokal segmental glomerüloskleroz [FSGS], membranoproliferatif GN), sistemik hastalıklara bağlı gelişen nefrotik sendrom olguları (diabetes mellitus, amiloidozis, sistemik lupus eritematozus, maligniteler, malarya, AIDS, sifiliz, hepatit B gibi enfeksiyonlar), ilaca bağlı nefropatiler (altın, penisilamin) ile bu gruplara dahil edemediğimiz herediter nefrit, arı sokması allerjisi olarak sayabiliriz. Ayrıca bu hastalıklara nefritik sendrom üyelerini (akut proliferatif GN, hızla ilerleyen GN, IgA nefropatisi) ve tüm tübülointerstisyumu etkileyen hastalıkları dahil edebiliriz (21).

1.1.1.5. Nefrotoksisite

Böbrekler yüksek kan perfüzyonuna sahip olmaları ve nefron boyunca dolaşan toksik içeriklerin konsantrasyonlarının fazla olması sebebiyle nefrotoksisiteye oldukça yatkındırlar. Genel anlamda nefrotoksisiteyi etkileyen

faktörler ileri yaş, kronik böbrek yetmezliği (KBY) varlığı ve prerenal azotemi olarak sıralayabiliriz. Hipoalbuminemi de dolaşan serbest ilaç-toksin konsantrasyonunu arttırdığı için riski arttırabilir (22).

Kontrast ajanlar böbrek için toksik olan maddelerden sadece biridir. Bilgisayarlı tomografi ve kardiyovasküler görüntülemelerde kullanılan iyotlu kontrast maddelerin yol açabileceği kontrast nefropati riski normal renal fonksiyona sahip kişilerde önemsenmeyebilir. Ancak örneğin diyabetik nefropatiye sekonde hafif düzeyli bir KBY’de bile risk anlamlı derecede yüksektir. Maruziyetten 24-48 saat sonra serum kreatinin değerleri yükselmeye başlar. 3-5 gün içinde pik değere ulaşır. Uygun tedavi ile çoğunlukla 1 hafta içinde normal serum değerlerine düşer. Eşlik eden KBY, konjestif kalp yetmezliği yada iskemiye yatkınlık oluşturan bir durum olmaması halinde çoğunlukla diyaliz ihtiyacı olmaz. Kontrast nefropatisinin renal mikrosirkülasyon ve küçük damar oklüzyonu, serbest oksijen radikallerinin veya türevlerinin yarattığı sitotoksik hasar veya kontrast ajan presipitatlarının renal tübüllerde sebep olduğu oklüzyon gibi faktörlerin kombinasyonu ile oluştuğu düşünülür. Manyetik rezonans görüntülemelerde kullanılan gadolinyum ve barsak görüntüleme tetkiklerinde kullanılan sodyum fosfat solüsyonları ise toksik nefropatiye yol açan diğer tanı ajanlardır.

Antibiyotikler ise bir diğer nefrotoksik grup olup aminoglikozidler, vankomisin ve amfoterisin B antibiyotiklere örnek olarak verilebilir. Asiklovir, foskarnet, sidofovir ve adefovir ise antiviral nefrotoksik ajanlara örnektir.

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar yine oldukça sık görülen nefrotoksisite nedenlerinden biridir. Bunun sebebi bu grupta ilaçların toplumda sık kullanılıyor ve hekimler tarafından da sık tercih ediliyor olmasıdır (23). Bu ilaç grubundaki tüm gelişmelere rağmen yeni COX-2 spesifik NSAİİ’lerde, nonselektif NSAİİ’ler ile benzer renal yan etkiye sahiptir. Bu tip NSAİİ ilişkili ABY sıklıkla yaşlılarda görülen atherosklerotik kardiyovasküler hastalık, hafif KBY, renal hipoperfüzyon (hipotansiyon, diüretik kullanımı, sodyum deplesyonu gibi durumları içeren) ve sodyum açıklığını arttıran siroz, nefrotik sendrom, konjestif kalp yetmezliği gibi hemodinami ilişkili GFR azalması yapan klinik durumlarda görülür. Sağlıklı erişkinlerde NSAİİ’lerin renal fonksiyon bozukluğu yaptığına dair kanıtlar az sayıda kanıt bulunmaktadır. Bu şekilde gelişen ABY çoğunlukla ilacın kesilmesini takip

eden 2-7 gün içinde kendiliğinden düzelmektedir. NSAİİ ilişkili tübüler nekroz daha nadir görülür. Papiller nekroz ise çok daha nadirdir (23). NSAİİ'lerin diğer yan etkileri ise hipertansiyonu arttıran sodyum retansiyonu, hiponatremi, hiperkalemi gibi sıvı elektrolit bozukluklarıdır. Bazı nefrotoksik ajanlar ve toksisite mekanizmaları Tablo 1'de verilmiştir.

Kemoterapötik ajanlar günümüz dünyasında sıklığı gittikçe artan kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır. Bu ilaçlardan sisplatin en çok tanınanı olup nonoligürik renal yetmezlikle ilişkilidir (24). Sisplatinin oluşturduğu nefrotoksik hasar hem proksimal hem de distal tübülü etkiler. Bu klinik magnezyum kaybı ile ilişkilendirilmiş olup idrar konsantrasyon bozukluğu ve nadiren tuz kaybının eşlik ettiği volüm deplesyonu görülür. Cis pozisyonundaki klorid iyonları su ile yer değiştirerek toksik hidroksil radikali salınımına yol açar. Profilakside volüm yükleme ve mümkün oldukça düşük doz kullanımı önerilir. Alternatif ajan olan karboplatin kısmen daha az nefrotoksiktir. Renal fonksiyon kaybı geliştikten sonra geri dönüşü zordur ve magnezyum kaybı kalıcıdır. Bir siklofosfamid analogu olan ifosfamid kloroasetaldehit metaboliti ile nefrotoksik olup, proksimal tübüler fonksiyon bozukluğu (Fankoni sendromu) ve hipokalemi kalıcı olabilir. Yüksek dozda metotreksat da renal epitel üzerine direkt toksik etki ve renal tübüllerde presipitasyon ile nefrotoksisiteye sahiptir. Adriamisin de nefrotoksisitesi bulunan bir diğer kemoterapötik ajandır.

Tablo 1. Nefrotoksik Ajanlar Ve Böbrekteki Toksisite Mekanizmaları (25).

TOKSİSİTE MEKANİZMASI	NEFROTOKSİK AJAN
Pre-renal Azotemi	Antihipertansif Ajanlar, Diüretikler
Küçük Damar Hastalığı	
A-Renal Vazokonstriksiyon	NSAİİ, Anjiyotensin-converting enzyme inhibitörleri, Angiotensin reseptör blokerleri, Radyokontrast ajanlar, Siklosporin, Takrolimus, Norepinefrin, Kokain
B-Trombotik mikroanjiyopati	Siklosporin, Takrolimus, Mitomisin C, Klopidoğrel, Kinin, Oral kontraseptifler
Glomerüler Hastalık (Rapidly progressive glomerulonefrit)	D-penisilamin, Hidralazin, Propiltiourasil, Organik çözücüler
Akut Tübüler Nekroz	Amfoterisin, Aminoglikozidler, Foskarnet, Tenofovir, Sidofovir, Adefovir, Sisplatin, Ifosfamide, Asetaminofen, Ağır metaller Bitkisel tedaviler, Radyokontrast ajanlar, Pentamidine, Organik çözücüler, Herbisitler(paraquat), İntravenöz immunoglobulin
Akut İnterstisyel Nefritis	Antibiyotikler (penisilinler, sefalosporinler, rifampisin, sulfametoksazol, siprofloksazin), NSAİİ, Loop ve tiyazid diüretikleri, Allopurinol, Simetidin, Mesalazin, Omeprazol, Fenitoin
Intratübüler obstrüksiyon (Kristal Birikimi)	Asiklovir, Indinavir, Etilen glikol, Metotreksat, Triamteren, Sülfonamid grubu antibiyotikler, Yüksek dozda oral fosfat,
Post-renal obstrüksiyon	Papiller nekroz (NSAİİ) Üriner retansiyon (antikolinerjikler, trisiklik antidepresanlar)

1.1.1.5.1. İlaça Bağlı İnteristisyel Nefritis

İlaça bağlı sebeplere baktığımızda karşımıza daha çok akut ilaca bağlı interstisyel nefrit çıkmaktadır. Antibiyotik ve analjezikler çağında yaşıyor olmamızdan ötürü akut böbrek yetmezliği etyolojisinde ilaçları daha sık görmekteyiz. Sıklıkla sentetik penisilinlere (metisilin, ampisilin), rifampine, diüretiklere (özellikle tiyazid grubu), non-steroid antiinflamatuvar ilaçlara (NSAİD), kanser tedavisinde kullanılan bazı kemöterapötiklere (adriamisin gibi) bağlı gelişir.

İlacın alımından sonra yaklaşık 15 gün içinde klinik başlar. Hastada ateş, cilt döküntüsü, geçici eozinofili görülebilir. Hematüri, hafif proteinüri, eozinofil içeren lökositüri kliniğin renal bulgularıdır. Hastaların %50 gibi yüksek bir oranında ve

özellikle yaşlı hastalarda serum kreatinin düzeylerinde yükselme ve oligüri ile klinik prezente olur (21).

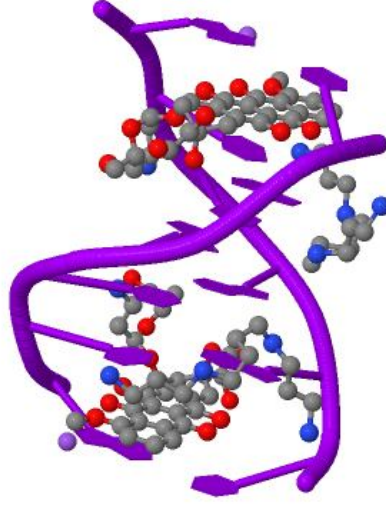
Hastalığın seyri, semptom ve bulgular patogeneizde immünolojik mekanizmaların varlığını düşündürür. Latent eozinofili periyodu, kütanöz döküntüler, nefropati-doz ilişkisinin çoğunlukla olmaması, benzer yada aynı ilaçla kliniğin tekrarlayabilmesi hipersensitiviteyi düşündürür. Hastalığın klinik özellikleri Tip 1 ile Tip 4 aşırı duyarlılık reaksiyonlarına benzemektedir.

1.1.1.5.2. İlaça Bağlı Akut Tübüler Nekroz

Akut tübüler nekroz (ATN) morfolojik olarak tübüler epitel hücrelerinin yıkımı ve klinik olarak böbrek fonksiyonlarının baskılanması ile karakterize bir klinikopatolojik antitedir. Nefrotoksik ajanlara bağlı akut tübüler nekroz da akut böbrek yetmezliği (ABY) kliniğinin sık rastlanan sebeplerindendir. Civa gibi ağır metaller, karbontetraklorür gibi kuru temizlemede bir dönem kullanılan maddeler ATN yapabilen ajanlardır. Böbrek mikroskopik olarak incelendiğinde toksik ATN’de nekroz proksimal tübüler yapıda en belirgin iken tübül bazal membranı çoğunlukla korunmuştur. Bazal membran hasarı gelişmemişse rejenerasyon genellikle tamdır (21).

1.1.2. Adriamisin (Doksorubisin)

Adriamisin antrasiklin türevi bir antibiyotik olup doksorubisin ya da hidroksidaunorubisin olarak da adlandırılır. Doksorubisinin, daunorubisinden farkı kendisine ekli bir adet hidroksil grubudur. Hematolojik ve solid tümörlerin tedavisinde kullanılır. Klinik çalışmalar sırasında pek çok kanser tedavisinde kullanılabileceği saptanmıştır. Meme, over, prostat, mide, tiroit, akciğer ve karaciğer kanserleri, sarkomlar, lenfomalar ve ALL (Akut Lenfoblastik Lösemi), AML (Akut Miyelositer Lösemi) gibi lösemiler kullanım alanlarını oluşturmaktadır (26). *Streptomyces peucetius var caesius* mantar kültürünün doğal ürünüdür (27). Son 20 yılda bazı solid tümörlerin tedavisinde devrim yapan doksorubisinin en etkili tekli kemoterapi ajanlarından biri olduğu düşünülür. Pekçok farklı tümöre karşı aktivite göstermesi ve değişken dozlarda uygulanabilmesi de kemoterapi kombinasyonlarında kullanılmasını sağlar. FDA (Food and Drug Administration) onayını 1974 yılında almıştır.



Şekil 1. DNA ile interkale olmuş 2 adet adriamisin molekülü (28)

1.1.2.1. Adriamisinin Etki Mekanizması

Adriamisin ve diğer antrasiklinlerin farklı mekanizmalarla sitotoksisiteyi indüklerler. Etki mekanizması karmaşık ve hâlâ tamamen anlaşılmamış olmakla beraber interkalasyon yoluyla DNA ile etkileştiği düşünülmektedir (28). DNA replikasyonu sonrasında ayrılan DNA sarmallarına bağlanarak bu sarmalların birleşmesini engeller ve replikasyonu durdurur (Şekil 1). Heliksin şekil değiştirmesine neden olur. DNA'da şekil değişikliğine yol açan bu basit etki RNA polimerazı etkileyerek protein sentezini ve iplikçik uzamasına etkileyerek DNA polimerazı inhibe eder (26).

Ayrıca adriamisin demir ve bakır ile kompleks oluşturur. Kompleks oluşumu sırasında artan redoks (oksidasyon-redüksiyon) sikluslarına bağlı olarak adriamisin lipid peroksidasyonunda artışa ve kalp kasında oksidatif hasara yol açar. Serbest oksijen radikalleri, kardiyak DNA ve membran hasarları adriamisin ilişkili kardiyotoksisitenin majör yönüdür (29).

Bununla beraber doksorubisin transkripsiyonda DNA ipliklerini kıran topoizomera 2 enzimini inhibe eder. Doksorubisin DNA-topoizomera 2 enzimlerine bağlanarak kompleks oluşturur. DNA replikasyonu durur (30).

Doksorubisin maksimum etkisini hücre bölünmesinin S fazında göstermesine rağmen hücre siklusu açısından non-spesifik olarak değerlendirilir. G₁ fazından S fazına geçen hücreler bu fazda bloke olurlar ve G₂ fazında ölürlər (31).

Doksorubisin rezistans birkaç farklı mekanizma ile gelişir. Bunlardan en önemlisi P170 glikoproteininin aşırı ekspresyonuna bağlı çoklu ilaç direncidir. Bu membran proteini dirençli hücrelerde enerji bağımlı ilaç efflux pompası gibi çalışır. Siklosporin, siklosporin analogları ve verapamil bu proteini bloke ederek direnci engeller. Bunun dışında topoizomera2 ve glutatyon aktivitelerindeki değişiklikler diğer direnç mekanizmalarıdır (26).

1.1.2.2. Adriamisin'in Farmakokinetiği

Doksorubisin kemoterapötik olarak intravenöz yolla uygulanır, gastrointestinal yoldan emilmez. Vücutta dokulara dağılımını dokunun DNA içeriği belirler. DNA'ya güçlü bir şekilde bağlanır. Karaciğer, lenf nodları, kas, kemik iliği, yağ dokusu ve ciltte yüksek konsantrasyonda saptanırken; kan beyin bariyerini geçmez. Plazma proteinlerine (konsantrasyondan bağımsız olarak) %75 oranında bağlanır. Plasentayı geçmez ancak süte geçer. Çoğunlukla karaciğerde glukronide ve hidroksile konjugatlarına parçalanır. Doksorubisinol primer metaboliti olup doksorubisin'in kardiyotoksitesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (32). Adriamisin'in plazma klirensi 24-35 L/h/m² olup yarılanma ömrü 12 ile 18,5 saat arasında değişmektedir (33). İlaç kalıntıları ve metabolitleri primer olarak safra (%50) ve feçes ile ekskrete edilir. Az miktarda metabolit ise (%10'dan az) idrarla atılır. DNA'ya şiddetli bağlanmanın uzamış yarılanma zamanına, genişlemiş dağılım hacmine (700-1214 L/m²) ve idrar ile safradan kısmi atılıma neden olduğu düşünülür (34) (35). Adriamisin sitokrom P450 izoenzimleri olan CYP₂D₆, CYP₃A₄ ve çoklu ilaç direnç proteini olan P-glikoprotein için majör substrattır (36).

Doksorubisin primer olarak karaciğerde metabolize edilir ve safra ile atılır. Serum bilirubin değerleri yükselen hastalarda adriamisin klirensi azalmıştır. Serum bilirubin değerleri 1.2 mg/dl üstüne çıkan hastalarda doz %50 azaltılmalıdır. Serum bilirubin değerleri 3-5 mg/dl arasında olan hastada tedavi için önerilen dozun %75 azaltılması gerekir. Ciddi karaciğer yetmezliği olan hastalarda (Child Pugh Sınıf C ya da serum bilirubin değeri 5 mg/dl üzerinde olan hastalar) adriamisin kontraendikedir (35). Geriatrik hastalarda klirensi azaldığından plazma pik

konsantrasyonu artabilir. Obez kişilerde yarılanma ömrü 20 saate kadar uzayabilir. Renal yetmezlik ile ilgili spesifik kılavuz bilgisi bulunamamıştır.

1.1.2.3. Adriamisinin Yan Etkileri

Hızlı intravenöz uygulanması fasyal flusing ve damar trasesinde eriteme neden olabilir. Doz bağımlı olarak kemik iliği supresyonu yaparak nötropeniye yol açabilir. Nötrofil değeri $1500/\text{mm}^3$ 'ün üstüne çıkmadıkça kullanımı önerilmez (26). Viral enfeksiyonlara yol açabilir, geçirilmiş varicella zoster ya da herpes enfeksiyonlarının reaktivasyonuna yol açabilir. Fotosensitiviteye, tırnak yatağında hiperpigmentasyona, alopesiye (çoğunlukla reversible) yol açabilir (37). Sık karşılaşılan yan etkileri mukozit (stomatit ve özefajit), bulantı, kusma, kemik iliği supresyonu, damar dışına ekstrevasyon, gastrointestinal toksisite, nefrotoksisite ve kardiyotoksisitedir (38).

Doz bağımlı olarak ciddi myelosupresyon (pansitopeni), geri dönüşlü lökopeni veya granülositopeni (nötropeni), trombositopeni ve anemi intravenöz doksorubisin kullanımında görülebilir. Kemik iliği supresyonuna sekonder lökopeni çoğunlukla ikinci haftada görülür. Beraberinde trombositopeni ve anemi de sık rastlanılır ve yirmibirinci günde çoğunlukla düzelir (39). Akut miyelositer lösemi (AML) ve miyelodisplastik sendrom (MDS) gibi sekonder malignite sıklığı artmıştır. Özellikle yüksek doz siklofosfamid alan, radyoterapi tedavisi alan, 50 yaş ve üstü kişilerde sekonder AML ve MDS riski daha yüksektir (26). Ciddi myelosupresyona sekonder ateş, enfeksiyon, sepsis/septisemi, septik sok, kanama, doku hipoksisi ve ölüm görülebilir. Erken meme kanseri tanısı olan kadınlarda yapılan bir çalışmada 4 kürlük adriamisin ve siklofosfamid adjuvan kemoterapisinden sonra %1.5 oranında sepsis/şok, %2.4 oranında sistemik enfeksiyon sıklığı belirtilmiştir (40).

Adriamisine bağlı hipersensitivite sıklığı %3-21 arasında bildirilmiştir (41). Pek çok kemoterapötik gibi adriamisin de gonadları baskılayabilir. Erkeklerde oligospermi, azospermi, kadınlarda amenoreye yol açabilir. Bulantı ve ishal gastrointestinal yan etkileri arasında olup, uzamış gastrointestinal yan etkilere bağlı iştah kaybı ve anoreksiye yol açabilir. Kolonda nekroz ve ülserasyona yol açabilir (37).

Ekstravazasyon denilen ilacın damar dışına kaçıışı yanma, ağrı ve hassasiyetten başlayıp ülserasyon ve nekroza varabilen geri dönüşü olmayan doku değişikliklerine sebep olabilir. Bu durum oluşması halinde farkedilir edilmez infüzyonun kesilmesi gerekir. Sonrasında ekstremitenin elevasyonu ve soğuk uygulama önerilir. Tedavinin başka bir damardan devamı gerekir. Ekstravazasyondan sonraki ilk 6 saatte deksrazoksan uygulaması düşünülebilir (26). Soğuk uygulamanın doksorubisin ekstravazasyonu ilişkili cilt lezyonlarının tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Topikal soğuk uygulama adriamisinin ciltteki konsantrasyonunu düşürmez ancak hücrel emilimini azaltarak sitotoksik etkisini azaltmaktadır (42).

İdrar renginde kırmızı renk değişikliği görülebilir. İlacın tatbikinden 1-2 gün sonrasına kadar devam edebilir. Adriamisin gebelik kategorisi D olan bir ilaçtır. Gebelikte kullanımı önerilmez teratojenik ve embriyotoksiktir. Özefageal ve intestinal atrezi, trakea-özefageal fistül mesane hipoplazisi ve kardiyovasküler anomaliler hayvan deneylerinde tespit edilmiş olan anomalilerdir. Süte geçtiği için emzirme önerilmez. İlacın alımından 72 saat sonra dahi anne sütünde tespit edilmiştir. Adriamisin tedavisi alan erkek hastalarda adriamisinin kromozomal hasara yol açması sebebiyle etkili kontrasepsiyon yöntemleri önerilir (40).

1.1.2.3.1. Adriamisin Kardiyotoksitesi

Kardiyotoksite adriamisin kullanımını sınırlayan yan etkilerden biridir. Doksorubisinin tetiklediği serbest radikal oluşumu kardiyotoksiteye neden olur. Doksorubisinin kardiyak hücrelere girişinden sonra antrasiklin serbest radikale indirgenir. Antrasiklin serbest radikali hızla oksijen ile reaksiyona girerek süperoksit anyon ve aktif ilaç formuna dönüşür. Normalde bu süperoksit radikaller glutatyon peroksidaz ile oksijene geri dönüştürülür. Ancak kalp dokusu bu enzimden yoksundur. Adriamisin tatbikinden sonra kalp hücreleri hasar görür. Ayrıca bir diğer reaktif oksijen türevi olan H_2O_2 (hidrojen peroksit) ferröz (Fe^{+2}) iyonlar ile reaksiyona girerek oldukça toksik süperhidroksit serbest radikaller oluşturur. Bu radikaller de ciddi lipid peroksidasyonuna yol açarak mitokondrial hasara yol açar. Hem kardiyak hücreler hem de malign hücreler mitokondriden yana zengindirler. Buna ek olarak bu serbest radikaller kalsiyum kanallarının sülfidril grupları ile bağ kurarak Ca-ATPaz'ın inhibisyonuna yol açarlar (26).

Konjestif kalp yetmezliği ve/veya kardiyak aritmiler adriamisin tedavisini alırken ya da tedaviden aylar hatta yıllar sonra bile görülebilmektedir. Yakın zamanda (4-6 hafta içinde) miyokardiyal infarktüs ve/veya ciddi miyokardiyal yetmezlik öyküsü olan hastalarda kullanımı kontraendikedir. Kalp yetmezliği riski doz ile ilişkili olup total kümülatif doz 400 mg/m²'yi geçtiğinde risk artar. Üç haftada bir verilen yüksek doz adriamisin tedavisine göre; dozun bölünerek haftalık uygulanmasında kalp yetmezliği riskinde azalma saptanmıştır (43). Ayrıca dozun bolus olarak verilmesine göre 48-96 saatten uzun süren sürekli infüzyonun kardiyotoksisiteyi azaltabileceği ile ilişkili çalışmalar mevcuttur (44). Kardiyotoksisitenin araştırıldığı bir rat çalışmasında ise tek doz 10 mg/kg intraperitoneal adriamisin uygulanan ratlarda çalışmanın 28. gününün sonunda mortalitenin %80 düzeyinde olduğu; yine aynı çalışmada 10 gün boyunca günlük 1 mg/kg adriamisin verilen hayvanlarda aynı düzeydeki mortaliteye ancak 107 günde ulaşıldığı bildirilmiştir. Tek doz uygulanan hayvanlarda deneyin ikinci haftasında ejeksiyon fraksiyonunda %30'luk bir azalma tespit edilmiştir (45).

Verilecek dozun uzun sürede yavaş infüzyon ile verilmesi dışında antioksidanlar ve demir şelatörlerinin tatbiki de diğer kardiyotoksisite önleyici stratejiler arasında yer alır (45). Probukol bu ajanlardan biridir (46). Yapılan bir hayvan çalışmasında ardışık 6 kez verilen kümülatif 15 mg/kg adriamisin tedavisine bağlı gelişen kardiyotoksisitenin probukol uygulaması ile önlenebileceği belirtilmiştir (47). Bir demir şelatörü olan deksrazoksan ise -şimdilik- onaylanan tek ilaçtır (48). Deferroksamin adlı başka bir demir şelatörünün de benzer etkiye sahip olduğunu hatta hepatik ve renal yan etkileri de azaltabileceğini belirten bir araştırma da literatürde mevcuttur (49).

Kardiyak hastalık öyküsü, antrasiklinlerle daha önceden tedavi öyküsü ve diğer kardiyotoksik ilaçların konkomitant kullanımı (trastuzumab gibi) doksorubisin ilişkili kardiyotoksisite riskini arttırabilir. Ekokardiyografi ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun başlangıçta ve adriamisin tedavisi süresince takibi 300 mg/m²'den fazla doz alan hastalarda önerilmektedir. Deksrazoksan antrasiklinlerin kardiyotoksisitesinde kullanılabilen bir ajandır. 300 mg/m²'den fazla doz alan hastalarda önerilebilmektedir. Kardiyak fonksiyon bozukluğu gelişen hastalarda kar zarar hesabı yapılarak devam kararı alınmalıdır (26). Total kümülatif dozun 550

mg/m²'den fazla olamaması; mediastinal radyasyon öyküsü olan hastalarda 400 mg/m²'den fazla olamaması önerilir (39). Antrasiklin verilen hastalarda konjestif kalp yetmezliği gelişme riski; toplam dozun 500-550 mg/m² arasında olması durumunda % 4, 551-600 mg/m² dozda % 18 ve 601 mg/m²'nin üzerindeki dozlarda ise % 36'ya çıkmaktadır (50).

1.1.2.3.2. Adriamisin Nefrotoksitesisi

Adriamisin genellikle belirgin bir renal fonksiyon bozukluğuna yol açmadan histopatolojik düzeyde renal yetmezlik oluşturur. Hiperkalemi, hiperfosfatemi, hiperürisemi, hipokalsemi ve idrar çıkışında azalma doksorubisin ilişkili tümör lizis sendromunu düşündürür. Renal fonksiyonlara destek olmak amacıyla yapılan agresif hidrasyon ve allopurinol kullanımında da ciddi elektrolit imbalansı gelişebilir. Lösemi lenfoma küçük hücreli akciğer kanseri tanısı olan hastalarda tümör lizis sendromuna karşı dikkatli olunması, tedavide adriamisin kullanan hastalarda yakın renal fonksiyon, idrar miktarı ve serum elektrolit takibi gereklidir (26).

Adriamisine bağlı nefrotoksitesiyi inceleyen çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunlardan birinde adriamisin uygulamasından sonra ortaya çıkan serbest radikal ürünlerinin nefrotoksitesite patogenezinde yer aldığı ileri sürülmektedir. 5 mg/kg dozda verilen adriamisinin, glomerüler ATP'az aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir. Adriamisin verilen hayvanların karaciğer böbrek ve kalp dokusunda bulunan ve bir antioksidan olan glutatyon düzeylerinin azaldığı oksidatif stres kaynağı olan lipid peroksit düzeyinin ise arttığı tespit edilmiştir (51).

Adriamisin ilişkili nefropatinin ilk bulguları glomerulde epitelyal hasar ve proteinüridir. Daha ileri evrelerde tübüler birikim oluşur. Bu birikim ise tübüler obstrüksiyon ve tübül basal membran hasarı ile karakterize interstitial hasara sebep olur. Bunun ardından ise interstitial inflamasyon görülür. Bertani ve ark. yaptığı çalışmada uzun süren şiddetli proteinüriye rağmen fokal segmental glomerüloskleroz gelişimi oldukça düşük saptanmıştır. Tübülointerstisyel hasarın adriamisin nefrotoksitesisinde önemli bir determinant olduğu belirtilmiştir (52).

Adriamisinin nefrotik sendroma yol açtığı bilinmektedir. Adriamisin verilen ratlarda 4-5. günlerde proteinürinin başladığı ve 13-15. günlerde ise nefrotik sendromun tamamen geliştiği gözlemlenmiştir. Işık mikroskopisinde minimal değişiklikler, negatif immünfloresans ve elektron mikroskopunda ise podositlerde

fokal füzyon adriamisinin enjeksiyonundan 28 saat sonra gözlemlenen bazı değişikliklerdir. On üçüncü gün sonunda ise epitelyal sitoplazmadaki değişikliklerle podosit mimarisinde kayıp saptanır. Renal biyopsilerde ise adriamisin enjeksiyonunda sonraki 3. saatte glomerüler polianyon kaybı gözlemlenir. On üçüncü günde ise polianyonların total kaybı görülür. Sonuçta ise şarj bariyer kaybı gözlemlenir (53). Adriamisinin, glomerüler bariyerin sadece yük (şarj) değil aynı zamanda boyut (size) seçiciliğinin kaybına neden olduğu tespit edilmiştir. Hayvan modellerindeki bu değişiklikler, insanlarda görülen podosit füzyonunun eşlik ettiği fokal segmental glomerüloskleroz, global glomerüloskleroz, tübülointersitisyel inflamasyon ve fibrozis ile benzerdir (54). Normal hayvanların renal dokusu ile karşılaştırıldığında adriamisine maruz kalan hayvanların, glomerüler endotelyal yüzey tabakası veya glikokaliksinin normal hayvanların ancak % 20'si kadar kaldığı saptanmıştır. Adriamisinin, proteoglikan sentezini azaltarak glomerüler glikokaliksin kalınlığını ve glomerüler seçiciliği değiştirdiği belirtilmiştir. Bu bulgular eşliğinde proteinürik renal hastalıkların patogenezinde glomerüler endotelin rol oynadığı ifade edilmiştir. Adriamisin, glomerüler endotelyumun incelmeye neden olurken, podositlerin yok olması ile plazma proteinlerinin süzülmesini engelleyecek olan boyut ve yük seçici bariyerlerin kaybı da bu duruma eşlik etmektedir. Ratlarda kreatinin klirensindeki düşüş, serum kreatininindeki artış, serum albümininde düşme, dislipidemi ve proteinüri ile görülen renal fonksiyon kaybının, kronik böbrek hastalığı ve nefrotik sendromla tutarlı olduğu bulunmuştur (55).

Glikokaliks kalınlığı azaldığında, glomerüler endotelyal hücre por genişliği arttığında; glomerüler şarj selektivite azalır ve podosit ayakları çıkıntılar birleşir. Bu değişiklikler glomerüler endotelyal hücreler tarafından üretilen, glikokaliksin içerdiği, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanların glomerüler hücrede üretiminde azalması ile ilişkilidir (55).

Ayrıca adriamisinin, hepatotoksisite ve kardiyotoksisite gibi diğer organlara olan etkisi de nefropatiye katkıda bulunur. Sağlam glomerüllerde hücresel değişim hızı oldukça düşüktür. Baker ve ark. yaptıkları bir çalışmada rat böbrek glomerüllerinde %0,01 oranında apoptotik hücrelerin bulunduğu gösterilmiştir (56). Böbreklerin hasarlanması sürecinde apoptoz glomerüler hücre ve lökositlerin kaybına katkıda bulunmaktadır (57). Renal ve hepatik dokularda doksorubisinin

oluşturduğu apoptozisi azaltmada antioksidan maddelerin etkili olduğu gösterilmiştir (58). Adriamisin verilen ratların renal dokularını incelendiğinde, antioksidan tedavi öncesi lipid peroksidasyonunda artış olduğu, antioksidan tedavi sonrasında ise oksidatif hasarın gerilediği göstermiştir (59).

Gebelikte kullanılan adriamisin annenin renal dokularına zarar verdiği kadar fetus renal yapılarına da zarar verir. Gebelikten 4 hafta önce verilen adriamisin fetusun renal dokularında PAS pozitif mesengiyal matriks artışı, glomerüloskleroz, tübüler hasar ve dilatasyona sebep olur (60). Gebelikten 2 hafta önce adriamisin verilen ratlarda gebelikte daha ciddi proteinüri ve daha yüksek kan basıncı değerleri elde edilmiştir. Bu durum insanda görülen preeklampsiye benzer şekilde tromboksan B2 (vazokonstriktör) ve prostaglandin F1a (vazodilatör) sentezindeki değişikliklere bağlanmıştır (61, 62). Erken gestasyonel dönemde (rat gebeliğinin 7-9. gününde) adriamisin uygulaması üriner traktus gelişiminde anomalilere neden olur. Bu anomalilerin en çok bilineni ise hipoplastik mesane ile beraber gözlemlenen bilateral megaüreter oluşumudur.

İnsan fokal segmental glomerulosklerozise benzer oluşturulan rodent modelinde, adriamisin nefropatisi, glomerul filtrasyon hızında azalma, proteinüri, glomerul filtrasyon bariyerinde değişimle ilişkili glomeruloskleroz ve tubulointertisyel fibrozisle karakterizedir (63). Ratlarda, adriamisinin indüklediği nefrozis sırasında, renal anjiyotensin II, muhtemelen anjiyotensin I reseptör aracılığıyla hücre içi adhezyon molekülü-1 (ICAM-1) ekspresyonunda artış, monosit/makrofaj infiltrasyonu, oksidatif stres ve proteinüri ile önemli proinflatuar etkilere sahiptir (64).

1.1.2.4. Deneysel Model Olarak Adriamisin

Adriamisin ilk defa 1969 yılında *Streptomyces peucetius* var. *caesius* ATCC27952 suşundan izole edilmiştir (65). Antrasiklinlerin renal hasara sebep olduğunu bildiren ilk yayın 1970 yılında Sternberg tarafından yayımlanmıştır (66). Kemoterapötik bir ajan olan adriamisin hafif derecede renal yetmezlikle birlikte seyreden nefrotik sendroma benzer bir tabloya neden olmaktadır (53, 67). Renal fonksiyonların korunduğu, uzun süren proteinürinin etkisi ile FSGS tablosu oluşmasına yol açar (68, 69). Adriamisin ya da diğer adıyla doksorubisin nefropati oluşumu ve sonrasında tedavisi için kullanılan ajanların böbrek üzerindeki etkilerini

ortaya koymak için ideal bir deney modeli oluşturur. Bir ksenobiyotik (vücut için yabancı madde) olan adriamisin renel glomerülde podosit hasarı oluşturunca etkisi vardır. Tablo-2’de bazı ksenobiyotikler ve etki mekanizmaları gösterilmiştir (70).

Tablo 2. Bazı Hastalıklar ve Ksenobiyotik İlişkili Hayvan Modelleri

İNDÜKLEYİCİ AJAN	BÖBREK HASTALIK MODELİ
2-Amino-4, 5-difenil tiazol	Polikistik böbrek hastalığı
2-Bromoetilamin hidrobromit	Renal papiller nekroz
Adriamisin	Podositopati
Anti-glomerular endotel antikoru	Hemolitik üremik sendrom, mesenjiolizis
Hidralazin	Lupus eritematozus
Maleik asid	Tübüler proteinüri
Polivinil alkol	Mesengiyal mikrogranülomlar

Podositopatilerde glomerüler hücrelerde pek çok molekül ve proteinin karşılıklı etkileşimi söz konusudur. Bu sayede başlangıçtaki lokal podosit hasarı sağlıklı podositlere yayılır ve hem endotelial hem de mezengial hücrelere etki ederek kısmi podosit hasarından şiddetli glomerüler hasara yol açar. Hasarlı podositlerde ayaksı çıkıntılarda silinme, slit diyafram değişiklikleri etkilenmenin erken dönem manifestasyonu olup; sonrasında ise hücrelerde ayrılma, apoptoz ve diferansiasyon kaybı görülür (70).

Kronik böbrek yetmezliğinin (KBY) pek çok türü glomerüloskleroz, tübülointerstisyel inflamasyon ve fibrozis gelişimi ile karakterizedir. Rodentlerde iyi bir renal hasar indükleyici olarak bilinen adriamisin insanda primer fokal segmental glomerüloskleroza bağlı gelişen KBY’yi taklit eder (63).

Adriamisin ayrıca apoptozu indükleyerek sitotoksik etki gösteren bir kemoterapötiktir. Tüm hücrelerde olduğu gibi renal hücrelerde de apoptozu arttırdığı gösterilmiştir (71). Artmış tübüler apoptoz, kronik böbrek hastalıklarında tübüler atrofinin önemli bir göstergesidir (70). Apoptozun 2 farklı fazda gerçekleştiğine inanılır. Bunlardan biri intrinsik yol olup mitokondri, lizozom yada endoplazmik retikulum gibi organelleri etkiler. Ekstensek yol ise ölüm reseptör yolu adı ile anılır. Bu yol ölüm reseptörünün ligant bağlanması ile aktifleşmesi ile çalışır. Her iki yolda sonuçta kaspaz-3, kaspaz-7 gibi spesifik proteaz aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu

proteazlar ise membran şişmesi, hücre büzüşmesi, DNA fragmentasyonuna yol açar. Bazı nefrotoksik ajanlar ve etkiledikleri hücre organelleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (70).

Tablo 3. Böbrekte İlaç İlişkili Tübuler Epitelyal Apoptoz Ve Etkilenen Organeller

PRİMER ETKİLENEN ORGANEL	TERAPÖTİK AJAN
Mitokondri	Adriamisin, Sisplatin, Siklosporin A, Gentamisin
Lizozom	Gentamisin, iyotlu contrast maddeler
Endoplazmik Retikulum	Sisplatin, Siklosporin A, Tunikamisin, Asetaminofen

Adriamisin nefropatisi böbrek yetmezliği deneysel modelinde pek çok avantaja sahiptir. Ciddi doku hasarına yol açması ile güçlü bir model oluşturmaktadır. İlaç verilmesinden günler sonra renal hasarın görülmesi ile hasarlanma zamanı tutarlı ve tahmin edilebilir düzeydedir. Yapısal ve fonksiyonel hasar insandaki kronik proteinürik renal hastalıkla benzerdir. Pek çok rat türü adriamisinin renal etkilerine tamamiyle sensitiftir. Bazı kaynaklarda erkek Wistar türü rat için verilen adriamisin doz aralığı 1.5 ile 7.5mg/kg arasındadır (63). On miligram/kilogram'a (72) hatta 20 mg/kg'a kadar verilen yayınlar mevcuttur (73). Veriliş yolu olarak seçilen intravenöz yolda görülebilen cilt nekrozu, substernal, intrakardiyak ve renal yolun ise uygulamadaki invazifliği ve tecrübe gerektirmesi sebebiyle daha çok tercih edilen yol intraperitoneal yoldur (63). İntraperitoneal yolun intravenöz ya da intrakardiyak yola göre uygulamadaki kolaylığı (özellikle farede) bu metodun uygulanabilirliğini de arttırmaktadır.

Erkek ratlar dişi ratlara göre renal hasar gelişimi yönünden daha sensitiftirler. Sham operasyonu geçiren ratlarla karşılaştırıldığında kastrasyon yapılan erkek ratların daha az duyarlı olması, adriamisinin yol açtığı renal hasarın patogeneze cinsiyet hormonlarının katkıda bulunduğunun göstergesidir. Adriamisin nefrotoksitesisi ile ilgili deneylerde cinsiyet seçimi önemlidir. Çünkü renal hasar şiddetinde fark oluşmaktadır (74).

Deneysel model olarak adriamisin nefropatisinin kullanılmasının bazı dezavantajları da mevcuttur. Bazı ratlarda diğerlerinden daha düşük şiddette renal

hasar meydana geldiğinden grup içinde ve gruplar arasında değişkenlikler oluşabilir. Adriamisin dar bir terapötik indekse sahiptir, bu nedenle ideal dozdan daha az verilmesi renal hasarın oluşmamasına yani deney modelin gerçekleşmemesine bununla birlikte daha fazla verilmesi ise ölümlle sonuçlanan yüksek toksisiteye yol açabilir. Tutarlı ve kolay üretilebilen bir model olmasına rağmen, ilaca verilen cevapta bazı bireysel değişiklikler aynı tür kemiricilerde dahi oluşabilir (75).

Bu deneysel modelde boyut (size) ve yük (şarj) seçiciliği (selektivite) üzerine etkiler konusunda literatürde çelişkili bilgiler bildirilmektedir. Ancak çoğunluk boyut seçici bariyerdeki kayba bağlı olduğunu kabul etmektedir (76). Morfolojik incelemelerde ise heparan sülfatta azalma olmaksızın epiteliyal ayrışmanın olması dikkati çekmektedir (77). Proteinden yana fakir diyet ve ACE (anjiyotensin dönüştürücü enzim) inhibitörü kullanımı bu modelde glomerüler hasarın progresyonunu engelleyebilmektedir (78).

1.1.3. İrisin

1.1.3.1. İrisin Nedir?

İrisin, 112 aminoasitten oluşan 12,5 kilodalton'luk kütleyle sahip, enerji metabolizmasını regüle eden, yeni keşfedilmiş bir proteindir (Şekil 2). Temel olarak kalp kası gibi kas dokulardan sentezlenmekle birlikte tükrük bezi, böbrek karaciğer gibi periferik dokularda da bulunur. İrisin bir anti-diyabetik ve anti-obezitik hormon olup bu etkisini adipoz doku metabolizması üzerine etki ederek ve glukoz homeostazı sağlayarak gerçekleştirir. Adipoz dokuda beyaz adipoz dokuyu kahverengi adipoz dokuya çevirerek etki eder (79).

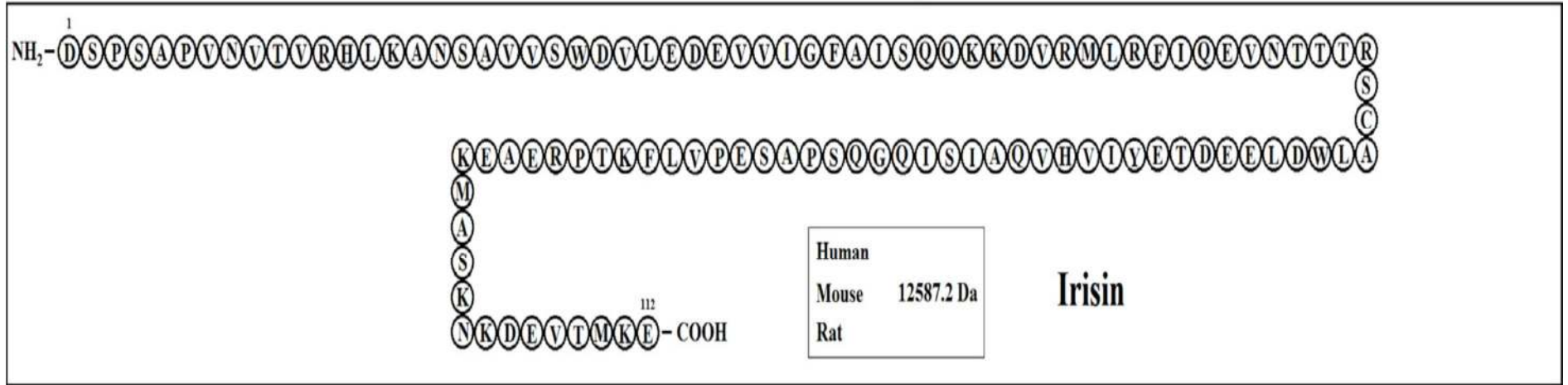
Enerji homeostazı kavramı olarak enerji harcanması, sindirim durumu ve enerjinin adipoz dokuda depolanması olaylarının bütünüdür (80). Organizmada enerji homeostazının idamesi oreksijenik (iştah arttırıcı örneğin nöropeptit y, ghrelin, galanin gibi) ve anoreksijenik (iştah baskılayıcı örneğin leptin, nesfatin gibi) pek çok molekülün dengesini içerir (79).

Yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlara göre iskelet kası metabolik işlevleri düzenleyebilen sitokin ve benzeri başka peptitleri sekrete edebilir. Bununla beraber iskelet kası endokrin, parakrin, otokrin organ gibi davranıp diğer organlarda hormon benzeri etki göstererek spesifik endokrin etkiler ortaya çıkarabildiği

belirtilmiştir (81). Miyokin olarak adlandırılan bu peptit molekülleri lokal etki edebilir yada uzak organları hedef olarak alabilir (82).

Bu moleküllerden biri olan irisin molekölü, Boström ve ark. tarafından 2012 yılında kas hücrelerinden izole edilmiştir. Bu molekül enerji dengesini beyaz adipoz dokuyu kahverengi adipoz dokuya dönüştürerek etkiler. İrisin kelimesi İris adından köken alır (3). Yunan mitolojisinde İris, Thamus ve Electra'nın kızı olup gökkuşağını sembolize eder ve tanrılardan insanlara iyi haber getirdiğine inanılır (83).





Şekil 2. İrisin Hormonunun temsili aminoasit dizilimi (79)
(İnsan, fare ve rat irisini %100 benzerdir.)

Çağımızın önemli sağlık problemlerinden biri olan obezitede irisinin rolü ve obezitenin engellenmesindeki etkisini araştıran çok sayıda yayın literatürde mevcuttur. İrisin beyaz adipoz dokuyu kahverengi yağ dokusuna çevirirken ısı açığa çıkartır (84).

Termojenik etkisini memelilerdeki enerji deposu olan beyaz yağ dokusunda gösteren irisin trigliserid ve yağdan zengin, mitokondri sayısı açısından fakir olan beyaz adipoz dokuyu (85), bol miktarda lipid damlacık ve mitokondri içeren kahverengi adipoz dokuya dönüştürür (86).

Adipoz dokunun mitokondrial iç membranı Uncoupling Protein-1(UCP-1) adı verilen protein pompa içerir. Bu pompa protonları intermembran boşluktan mitokondrial matrikse pompalar. UCP-1 aktifleştğinde mitokondride protonların oluşturduğu potansiyel fark ile üretilen ATP (adenozintrifosfat) potansiyel fark ortadan kalktığı için üretilemez. Bu durumda mitokondride sadece ısı üretimi gerçekleşir (87).

İrisin, insan ve fare kas dokusundaki Fibronektin tip III bölgesi içeren protein 5'in (FNDC5- fibronectin type III domain-containing 5) bilinmeyen bir proteaz ile parçalanması ile oluşur (3). Faredeki FNDC5 üç bölümden meydana gelir. 29 aminoasit dizisi içeren sinyal peptidi, 94 aminoasitlik tekli fibronektin III fibronektin bölgesi ve C-terminal bölgesi (88). Otuziki kilodaltonluk transmembranöz FNDC5, hücre içi FNDC5'den daha büyüktür. Bu farklılığa bağlı olarak FNDC5'in hücreden sekrete edilmeden önce C-terminal bölgesinden parçalandığı düşünülmektedir (3) (88).

İrisin yapıca bazı hormonlarla da benzerdir. Örneğin irisinin yapısı %85 oranında insüline, %90 oranında glukagona ve %83 oranında leptine benzermektedir. Ayrıca insan ve fare dokularından izole edilen irisin molekülleri de %100 oranında özdeştir (Şekil-2) (3).

Fibronektin tip III bölgesi içeren protein 5 geni ekspresyonu, kas dokusunda egzersizle indüklenen ve enerji tüketimine yol açan peroksizom proliferatör-aktif reseptör γ (peroksisome proliferator –activated receptor γ [PPAR γ]) ve PPAR γ koaktivatör α (PGC1 α) aracılığıyla artar. PGC1 α biyolojik sistemlerdeki enerji metabolizmasının programlanmasına aracılık eder. Ayrıca PGC1 α pek çok hücre türünde mitokondrial biyogenezi ve oksidatif metabolizmayı kontrol eder. Kas

dokusu PGC1 α ekspresyonu ile ilişkili 5 farklı protein ihtiva eder. Bunlar FNDC5, IL-15(İnterlökin-15), VEGF β (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör β), Lrg1 (Lösingenin alfa-2-glikoprotein 1) ve TIMP4 (Metalloproteinaz Doku İnhibitörü 4) olup muhtemelen PGC1 α sekresyonu ile ilişkilidirler. Yirmi nanomolar FNDC5, UCP1 mRNA (mesajcı ribonükleik asit) ekspresyonunu 7-1500 kat arttırmaktadır. Artan UCP1 düzeyi ATP sentezini engelleyerek ısı üretiminde artışa ve enerji tüketimine neden olur (3). Tüm bu bilgiler ışığında kahverengi adipoz dokudaki termogenez artışının FNDC5 düzeyi ile ilişkili olduğu sonucuna varılır.

1.1.3.2. Metabolizma, Egzersiz ve İrisin

Yapılan bir çalışmada fare ve insan kas dokusunda egzersizden sonra FNDC5 mRNA düzeyinde artış saptanmıştır. Bu çalışmada yağ destrüksiyonu sonucu ortaya ATP çıkması beklenirken ısı açığa çıktığı saptanmıştır (3). Bu öncü çalışmadan sonra irisin ve egzersiz arasındaki ilişki irdelenmiş olup 24 sedanter genç erkeğin katıldığı bir çalışmada denekler 6 haftalık yoğun egzersiz programı boyunca incelenmiştir. Timmons ve ark. yaptığı bu çalışmada iskelet kası biyopsilerinde FNDC5 mRNA düzeyinde artış saptanmamıştır. Yine aynı araştırmacının çalışmasında 10 genç ve 10 yaşlı denekte dayanıklılık egzersizi yaptırılarak elde edilen egzersiz sonrası FNDC5 mRNA düzeyinde %30'luk bir artış saptanmıştır (89). Bununla birlikte 3 hafta boyunca serbest tekerlek koşu bandında koşan farelerde egzersiz sonrası irisin konsantrasyonunda %65 oranında artış saptanmıştır (90).

Yapılan bir diğer çalışmada ısı ve egzersizin irisin üzerine etkileri incelenmiştir. Obez ve sağlıklı yetişkinler gruplara ayrılıp bir grup 45 dakika boyunca koşturuldu. Diğer grup ise 50 oC sıcaklıkta Türk hamamında 45 dakikalık duş aldı. Araştırmacı tarafından elde edilen sonuçlarda her iki grupta irisin miktarında artış tespit edilmiştir. Ayrıca dolaşıma salınan ve tükürükte tespit edilen irisin miktarı Türk hamamındaki grupta daha fazla olduğu tespit edilmiştir (91).

Tam tersi durumda yani soğuk maruziyeti değerlendirildiğinde soğukun irisin sekresyonu için bir afferent sinyal olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada irisin aracılı kas- adipoz doku etkileşiminin termojenik etkiye sahip olduğu ve soğukun tetiklediği endokrin aksın obezite tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür (92).

Akut egzersize verilen hızlı irisin cevabı yanı sıra irisinin fare kas dokusunda ve serumunda egzersizden bağımsız olarak bulunduğu tespit edilmiştir (93). Bir diğer araştırmada genç ve yaşlı farelerde yüzme egzersizi sonrasında dolaşımdaki irisin seviyelerinin artmış olduğu tespit edilmiştir. Genç ve yaşlı fareler karşılaştırıldığında genç farelerin dokularında daha fazla irisin tespit edilmiştir. Genç jenerasyondaki bu farklılığın sebebi hızlanmış adipoz doku yıkımından olduğu düşünülmüştür. Bununla birlikte yine aynı çalışmada dinlenim anında iskelet kas dokusunun perimisyumunda immünohistokimyasal olarak irisin tespit edilmiş olup egzersizle birlikte arttığı tespit edilmiştir. Yani irisin varlığı için egzersiz şart olmamakta ancak dinlenimde de dokular arasında irisin farklı düzeylerde bulunmaktadır. Bu çalışmada elde edilen ilginç bir bilgi de iskelet kaslarının periferik sinirlerinde yoğun irisin immünreaktivitesinin varlığıdır. Hatta bu immünreaktivite kasın kendi dokusundan daha fazla saptanmıştır (94).

1.1.3.3. İrisin ile İlgili Bazı Çalışmalar

Yeni keşfedilmiş bir protein olan irisin hakkında literatürde pek çok çalışma mevcuttur. Bunların bir kısmı irisinin organizmadaki etkilerini incelerken, bir kısmı hastalıklarla olan ilişkisini, bir kısmı ise organizmadaki irisin miktarının tayinini konu almıştır.

Organizmadaki irisin düzeyini saptamaya yönelik bir çalışmada obez yetişkinlerde irisin seviyeleri $353.1 \pm 18,6$ ng/ml saptanmıştır. Aynı çalışmada kontrol deneklerinde $198,4 \pm 7,8$ ng/ml saptanmıştır. İrisin seviyeleri erkeklerde $353,1 \pm 18,6$ ng/ml olarak, kadınlarda ise $267,6 \pm 12$ ng/ml saptanmıştır. Bu sonuçlara göre irisin düzeyleri cinsiyete bağımlı olarak değişebilmektedir. Aynı çalışmada dolaşımdaki irisin seviyesinin obezitedeki hiperglisemiye kompensatuar olarak arttığı bildirilmiştir (95). Kilo kaybı ile birlikte irisin seviyeleri düştüğünden dolaşımdaki irisin düzeyinin vücut yağ kütlesinin indikatörü olabileceği belirtilmiştir (96). Bariatrik cerrahi sonrası 6. ayda iskelet kası biyosisi ve kan örnekleri alınan hastalarda iskelet kasında FNDC5 mRNA ve kan örneklerinde dolaşan irisin seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir. Enerji kısıtlamasının ve kilo kaybının irisin düzeyini düşürdüğü saptanmıştır. Vücut kitle indeksi ile irisin arasında pozitif korelasyonun saptandığı bu çalışmada ayrıca kas kitlesinin genç sağlıklı yetişkinlerde irisin seviyesinin prediktörü olabileceği belirtilmiştir (97).

Yapılan başka bir araştırmada metabolik sendromlu obez kişilerde glukoz homeostazı ile irisin seviyeleri arasında ilişki saptanmıştır. Etkili diyetle bağlı kilo kaybı olan obez kişilerde glukoz metabolizmasındaki düzelmeye, irisin seviyesinde düşmenin eşlik ettiği saptanmıştır (98).

Vücut kitle indeksi ile irisin arasında net bir ilişki saptanamamıştır. Bazı çalışmalarda pozitif korelasyon saptanırken bazılarında ise negatif korelasyon saptanmıştır (96,99).

Bununla beraber irisin total enerji tüketimini arttırır, vücut ağırlığını azaltır, diyet aracılıklı insülin rezistansını azaltır. Bu sayede obeziteye engel olur (3). Choi ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada irisin ve HbA1c arasında negatif korelasyon saptanmıştır (100).

İrisinin hipoglisemik etkisi ve potansiyel antidiyabetik etkisi ile ilgili yapılan bir çalışmada streptozotosin ile diyabetin indüklendiği farelere rekombinant irisin verilmiş ve farelerde yiyecek ve su alımının azaldığı tespit edilmiştir. Yine bu çalışmada intraperitoneal olarak verilen irisinin farelerde kan glukoz düzeyini düşürdüğü, glukoz toleransının arttığı tespit edilmiştir. Diyabetik farelere oral yolla uygulanan irisinin kan glukoz düzeyini azalttığı saptanmıştır (101).

İrisinin metabolizmaya olan etkileri incelendiğinde metabolizmanın hızını belirleyen önemli bir hormon olan tiroid hormonu ile olan ilişkisi irdelenmiştir. Samy ve ark. yapmış oldukları bir araştırmada sedanter hipotiroidik ve hipertiroidik ratlar, ötiroid kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında serum irisin düzeyi bu iki grupta daha yüksek saptanmıştır. Bu ilginç bilgiyle birlikte akut egzersizin serum irisin düzeyini arttırdığı ancak kronik egzersiz için aynı durumun söz konusu olmadığı bilgisi elde edilmiştir. Bir kas enzimi olarak tanımlanabilen serum CK (kreatin kinaz) düzeyi ile irisin korelasyonunu değerlendiren bu araştırmada pozitif korelasyon saptanmış olup; serum irisin düzeyi ile kas kitlesi, lipit düzeyleri, TSH (tiroid stimulan hormon) düzeyleri arasında ilişki saptanamamıştır (102).

Serum irisin seviyeleri ve tiroid fonksiyon testleri arasındaki ilişkiyi araştıran 2014 yılında yayınlanan bir diğer çalışmada ise 20 kişilik küçük bir grupta değerlendirme yapılmıştır. Tiroid hormon düzeylerine göre 10 hipotiroidik ve 10 hipertiroidik hastada serbest T4 düzeyi ile irisin düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Serum TSH ve serum CK düzeyleri ile serum irisin düzeyi arasında ise

negatif korelasyon tespit edilmiştir. Görünen o ki tiroid hormonu ile irisinin ilişkisinin aydınlatılması için daha büyük guruplarda daha çok çalışma yapılması gerekmektedir (103).

Kronik böbrek yetmezliğinde dolaşımdaki irisin seviyesinin düştüğü belirtilmiştir (11-14). 532 hastada yapılan bir çalışmada hastalar KBY evrelerine göre sınıflandırılmış olup KBY evreleri arttıkça serum irisin seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. En düşük irisin düzeyi ise evre 5 kronik böbrek yetmezlikli hastalarda tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu çalışmada KBY'li hastalarda plazma irisin seviyesinin sigara içimi ve eşlik eden diyabetes mellitus varlığı ile ilişkisinin olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada kronik böbrek yetmezliğinde irisin seviyesinin düşmesinin bir nedeninin de bu hastalarda görülen sarkopeninin olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca diyaliz öncesi ve sonrasında karşılaştırıldığında serum irisin seviyelerinde %23 düşüş tespit edilmiş olup bu sonuca göre irisinin diyaliz edilebilir bir madde olabileceği düşünülmüştür (11).

Otuz sekiz son dönem böbrek yetmezlikli hasta ve 19 sağlıklı erişkinde yapılan başka bir çalışmada yine renal fonksiyon kaybı olan hastalarda plazma irisin düzeyinin düştüğü tespit edilmiştir. BUN (kan üre nitrojeni), kreatinin düzeyi ile irisin düzeyleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır (14). İndoksil sülfat bir üremik toksin olup renal fonksiyon bozukluğunda düzeyi artar (104). Yine yukarıda belirtilen KBY-irisin ilişkisini irdeleyen çalışmada insan kas hücrelerine verilen farklı konsantrasyonlarda indoksil sülfata bağlı olarak irisin konsantrasyonunda negatif korelasyon tespit edilmiştir. Bununla birlikte KBY'li hastalarda bakılan HDL düzeyi ile irisin düzeyi arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu tespit edilmiş bunun terapötik potansiyeli olabileceği belirtilmiştir (14).

Ayrıca non-alkolik yağlı karaciğer hastalığında (105) ve tip 2 diabetes mellitusta da irisin seviyelerinin düştüğü gözlemlenmiştir. 104 tip 2 diyabetli ve 104 kontrol deneğin oluşturduğu bir çalışmada irisin düzeyinin diyabetik grupta belirgin bir şekilde düştüğü tespit edilmiştir (100).

İrisinin hepatositteki rolünü inceleyen bir araştırmada irisinin hepatositte gerçekleşen lipogenezi azalttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada lipogenez ve oksidatif strese karşı irisinin etkisinin protein arjinin metiltransferaz-3 inhibisyonu üzerinden etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca irisinin hepatositte lipojenik genlerin

ekspresyonu üzerinde değişiklik yaparak hepatosteatozu engelleyici özelliği olabileceği belirtilmiştir (106).

Miyokard infarktüsü ile irisin arasındaki ilişkiye bakıldığında ise miyokard infarktüsü geçiren ratlarda kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında serum irisin düzeylerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir (107).

Bir başka çalışmada ise irisinin damar endoteli üzerine olan etkileri incelenmiş ve endotelde anti-apopitotik etkisi olduğu hatta aterosklerotik plak gelişimini azalttığı tespit edilmiştir (108).

Fare mezenterik arteri ile yapılan bir başka araştırmada vasküler etkileri irdelenen irisinin konsantrasyon bağımlı olarak vasküler relaksasyona yol açtığı tespit edilmiştir. Ayrıca ekstrasellüler kalsiyum girişi ve intrasellüler kalsiyum salınımına bağlı vazokonstruksiyonun da irisin tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (109).

Gebelik sürecinde bakıldığında gebe olmayan bir kadınla karşılaştırıldığında gebelik boyunca irisin seviyesinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca gebe olmayan kadınlarda ise menstrasyonun luteal fazında, folliküler faz ile karşılaştırıldığında irisin seviyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. İnsan plasentasında ise FNDC5 protein ekspresyonu immunhistokimyasal olarak gösterilmiştir (110). Başka bir çalışmada ise idiopatik intrauterin gelişme geriliği olan fetüslerin plasentasının uterin arterlerinde irisin seviyesinin normal fetüslara göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (111).

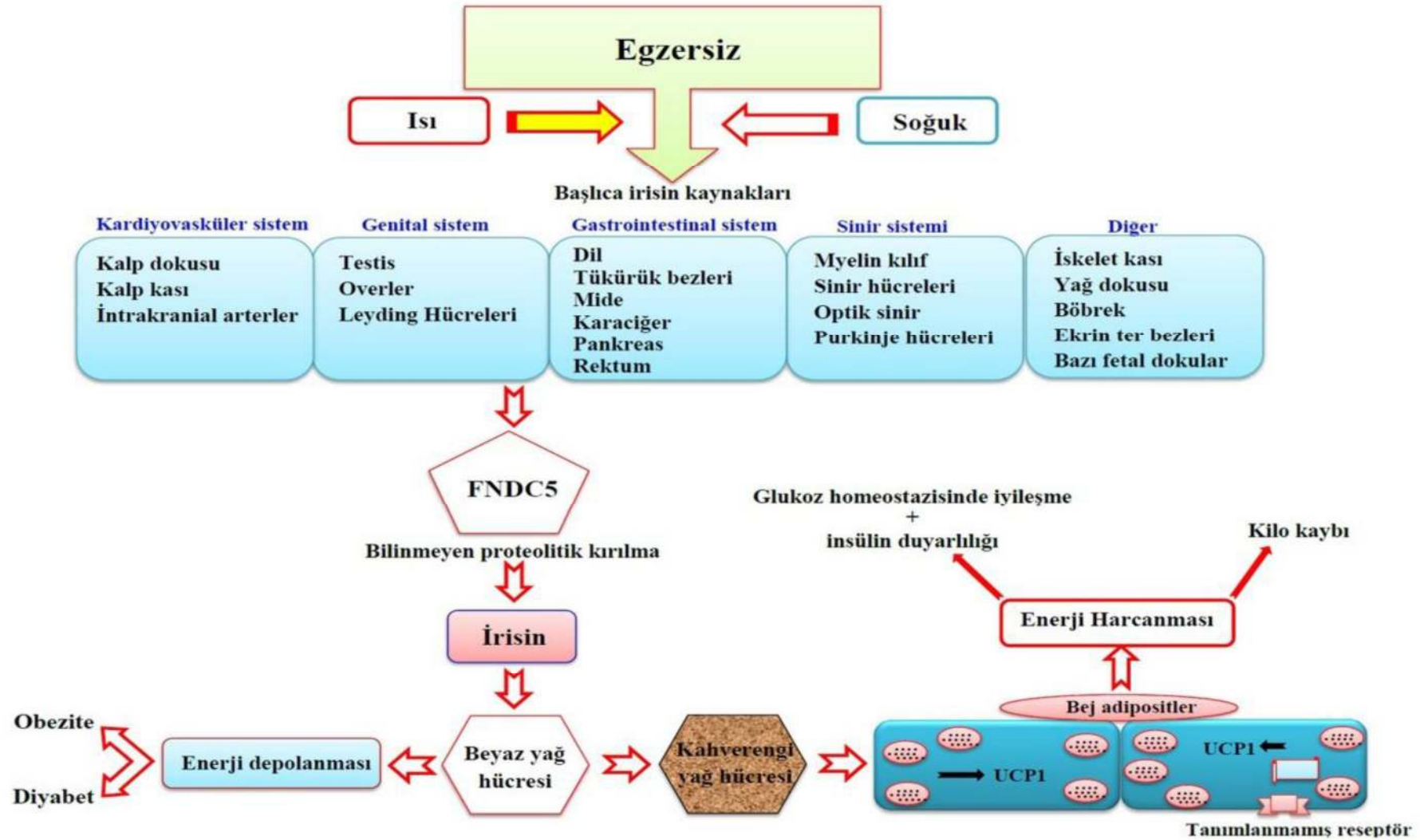
1.1.3.3. İrisinin Sentezlendiği Dokular ve Etkileri

İrisinin egzersiz sonrasında kas dokusundan sentezlendiği Boström ve arkadaşları tarafından keşfi sırasında ortaya konulmuştur (3). Kas dokusunun görevi organizmanın hareketini sağlamak ve kimyasal enerjiyi hareket enerjisine dönüştürmekle sınırlıyken irisin gibi myokinlerin keşfinden sonra endokrin etkisi de tartışılmaya başlanmıştır.

İrisin üzerinde yapılan çalışmaların sonucunda iskelet kas dokusu dışında pekçok dokudan sentezlendiği tespit edilmiştir. Aşağıdaki şekilde (şekil 3) irisinin sentezlendiği dokular ve primer etkileri özetlenmiştir (112). İrisin immünreaktivitesine pankreas, yağ bezleri, kalp kası, perimisyum, endomisyum (94),

tükrük bezleri (91), böbrek, ovaryum, testis, rektum, kalp, intrakranial arterler, dil, optik sinir, mide (88) gibi organ ve dokularda rastlanılmıştır. Özellikle periferik sinir kılıflarında irisin antikoruna karşı yüksek immünreaktivite saptanmıştır (94).





Şekil 3. İrisin'in Sentezlendiği Başlıca Dokular ve Muhtemel Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkileri (112)

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı tarafından Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra Ekim 2015-Kasım 2015 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışma için Fırat Üniversitesi bilimsel araştırma projeleri biriminden TF.15.32 proje numarasıyla onay alınmış ve gerekli maddi destek sağlanmıştır.

2.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 182 - 290 gr ağırlığında 28 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanılmıştır. Ratlar 21 ± 2 0C oda ısısında 12 saat ışık (7: 00-19: 00) ve 12 saat karanlıkta (19: 00-7: 00) tutulup özel olarak yaptırılan kafeslerde beslenmiştir. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verilmiştir.

Bütün gruptaki hayvanlar deneye başlanmadan önce hassas terazi ile darası alınmış plastik kaptaki tartılmış olup haftalık tartımları yapılmıştır. Grupta bulunan bütün ratlar aynı ortamda gözetim altında tutulmuş olup hayvanlara ad-libitum su verilip, yiyecek alımları sağlanmış ve hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapılmıştır.

2.2. Çalışma grupları

Grup I (n=7) (kontrol grubu): Standart diyet verildi. Herhangi bir enjeksiyon yapılmadı.

Grup II (n=7) (irisin grubu): İrisin ratlara intraperitoneal olarak 3 günde 1 kez 80,65 pmol/kg dozunda olacak şekilde toplamda 5 kez uygulandı 14. günde sakrifasyon uygulandı.

Grup III (n=7) (adriamisin grubu): 10 mg/kg dozunda adriamisin çalışmanın ilk gününde intraperitoneal olarak 1 kez uygulandı. 14.günde sakrifasyon uygulandı.

Grup IV (n=7) (adriamisin+irisin grubu): 10 mg/kg dozunda adriamisin çalışmanın ilk gününde intraperitoneal olarak 1 kez uygulandı. İrisin ratlara

intraperitoneal olarak 3 günde 1 kez 80,65 pmol/kg dozunda olacak şekilde toplamda 5 kez uygulandı 14. günde sakrifasyon uygulandı.

2.3. Nefropati İndüksiyonu

Deney hayvanları tartıldıktan sonra Adriamisin (Adriablastina Deva) %0.9 luk NaCl solüsyonunda çözüldükten sonra intraperitoneal olarak uygulandı.

2.4. İrisinin Uygulanması

İrisin (Phoenix Pharmaceuticals, Inc 067-29A) soğuk zincir korunarak tedarik edildikten sonra PBS ile üretici firmanın önerdiği şekilde çözülerek ratlara 80,65 pmol/kg dozundan intraperitoneal yolla toplam beşer kez verildi.

2.5. Sakrifasyon

Deney protokolü tamamlandıktan sonra gruplardaki ratlar sakrifasyon zamanında ketamin (75mg/kg) + ksilazine (5mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Abdominal boşluğu açılan ratların böbrek dokuları çıkartılarak uygun fiksatiflerle tespit edilip ardından histopatolojik ve immünohistokimyasal incelemeler için böbrek doku örnekleri ve biyokimyasal incelemeler için kan örnekleri alındı.

2.6. Örneklerin Hazırlanması Ve Saklanması

Steril cerrahi araçlarla dekapite edilen ratlardan alınan plazma ve serum örnekleri, yapılacak olan analizler için sırasıyla aprotininli tüplere ve düz biyokimya tüplerine konuldu. Alınan kanlar 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Bu numuneler daha önceden numaralandırılmış olan eppendorf tüplere yerleştirildi. Aprotininli tüplere alınan serum örnekleri ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) çalışması için ayrıldı ve tüm numuneler çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı. ELISA çalışmalarında kullanılmak üzere ratlardan alınan böbrek dokuları fosfat tamponu içeren çözeltiden geçirilip kan artıklarından arındırıldıktan ve tartıldıktan hemen sonra hızlı bir şekilde donduruldu. Çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı.

2.7. Dokuların Homojenizasyonu

Çalışmaya başlamadan önce dört grup için toplamda 28 adet eppendorf tüpü her bir grup için ayrı ayrı numaralandırıldı. Daha sonra numaralandırılmış eppendorf

tüplerine 900 µL fosfat tamponu koyuldu. Dört gruba ait dokular -80°C'den alındıktan sonra her bir ratın böbrek dokusu 100 mg olacak şekilde tartıldı. Bu dokular steril bistüriler ile ince parçalar halinde kesildikten sonra numaralandırılmış eppendorf tüplerine yerleştirildi. Bunların üzerine de 100 µL 0,5 mm zirkonyum oksit boncukları konuldu. Hazırlanan numuneler Bullet Blender homojenizasyon cihazında cihazın hızı 8 olacak şekilde 3 dakika süre ile işleme alındı. Üç dakikanın sonunda görsel olarak bakıldığında yeterli homojenizasyon olmadığı düşünülerek, cihazın hızı 9 olacak şekilde 3 dakika daha işleme alındı. Bu sürenin sonunda cihazdan alınan örnekler +4°C'de 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatantlar sırası ile ependorflarına alındı ve ELISA çalışması için kullanıldı.

2.8. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Rutin biyokimyasal analizler Fırat Üniversitesi Hastanesi merkez laboratuvarında gerçekleştirildi. Serum üre ve serum kreatinin değerleri Siemens Advia 2400 otoanalizörü ile çalışıldı.

2.9. ELISA (Enzyme-Linked Immunsorbent Assay) Yönteminin Temel Prensipleri Ve Örneklerin Değerlendirilmesi

ELISA (Enzyme-Linked Immunsorbent Assay) serum, plazma, idrar, tükürük, perikard, periton sıvısı gibi vücut sıvılarında ve doku homojenizatlarından elde edilen süpernatantlarda antijenik yapıda olan ya da bir nedenle antijenik yapı kazandırılan biyolojik materyallerin seviyesinin tespiti için kullanılan bir yöntemdir. ELISA'nın temel çalışma prensibi, antijen-antikor etkileşimine bağlı olarak oluşabilen bir renk reaksiyonuna dayanır. Bu renk reaksiyonu ELISA okuyucusu adı verilen bir cihaz tarafından değerlendirilmektedir. Ölçülen absorpsiyon değerleri ile numunelerin içerdikleri madde konsantrasyonu otomatik olarak hesaplanmaktadır.

Ratlardan sağlanan serum ve doku süpernatantlar -80 °C'den çıkartıldıktan sonra, Phoenix Pharmaceuticals, Inc tarafından üretilen EK-067-29 katalog numaralı ELISA kiti ile kit içerisinde bulunan kullanım kılavuzuna uygun olarak çalışılmıştır.

2.10. İmmünohistokimya

Parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417, Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block , TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA-125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen Irisin primary antibody (Rabbit Irisin primary antibody, H-067-17, Phoenix Pharmaceuticals, Inc., California, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse/rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Negatif kontrol için Rabbit IgG kullanıldı. Mayer's hematoxilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). Skala bar: 20µm.

Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4:%26-50, 0.6:%51-75, 0.9:%76-100) ve şiddeti (0:yok, +0.5: çok az, +1:az, +2: orta, +3:şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu. (Histoskor= yaygınlık x şiddet)

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS for Windows version 21 (SPSS Inc, Chicago, IL) programı kullanıldı. Gruplar arası 2'li değerlendirmelerde Independent samples-T testi diğerleri için ise One-way ANOVA ve posthoc tukey testi ile yapıldı. $p<0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

2.11. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 μ m kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoza giden hücreler belirlendi. Boyama metodu aşığıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 4). Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Leica DM500) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücelere oranlanması ile Apoptotik İndeks (AI)'i hesaplandı. Skala bar: 50 μ m.

Tablo 4. TUNEL boyama prosedürü

İşlem	Süre
1 60°C etüv	Bir gece
2 Xylol	3X15 dakika
3 %100, %96, %80, %70 etil alkol	3'er dakika
4 PBS	5 dakika
5 Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6 1:500 dilüsyondaki Protinaz K solüsyonu	20 dakika
7 PBS	3X5 dakika
8 Endojen peroksidaz blokajı (% 3 H ₂ O ₂)	3 dakika
9 PBS	3X5 dakika
10 Equilibration tampon solüsyonu	10 dakika
11 Çalışma solüsyonu (%70 µl Reaction Buffer + %30 TdT Enzyme) 37°C'de	60 dakika
12 Stop/Wash Buffer (2ml) +Distile su (68ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13 Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14 PBS	3X5 dakika
15 DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16 PBS	3X5 dakika
17 Distile su	5 dakika
18 Harris hematoksilen	1-5 dakika
19 Distile su	5 dakika
20 %80, %96 ve %100 etil alkol	1'er dakika
21 Xylol	2X5 dakika
22 Kapatma medyumu kullanılarak lamel ile kapatma.	

2.12. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Çalışmamızdaki bütün istatistiksel veriler SPSS for Windows version 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) programı kullanılarak yapılmıştır. Sayısal veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edildi. Gruplar arası değerlendirme için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Post hoc değerlendirme için Tukey's testi uygulandı. Ayrıca gruplar arası ikili karşılaştırmalar Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olarak kabul edildi.



3. BULGULAR

Adriamisin ile oluşturulan deneysel nefropatide irisinin etkisini araştıran çalışmamızda hayvanların ağırlık değişimi, böbrek ağırlıkları, serum üre ve kreatinin değerleri, serum ve doku irisin düzeyleri, histopatolojik ve immunhistokimyasal inceleme sonuçları aşağıda verilmiştir:

3.1. Ağırlık değişimi

Çalışmada 182-290 gram ağırlığında 28 adet Wistar Albino cinsi erkek rat kullanılmıştır. 4 ayrı gruba ayrılan ratlarda gruplar homojen olarak dağıtılmışlardır. Çalışmamızın başlangıcındaki ortalama hayvan ağırlığı 224 gram olup, hayvanların ağırlıkları kıyaslandığında oluşturulan 4 grup arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$) (Tablo 5).

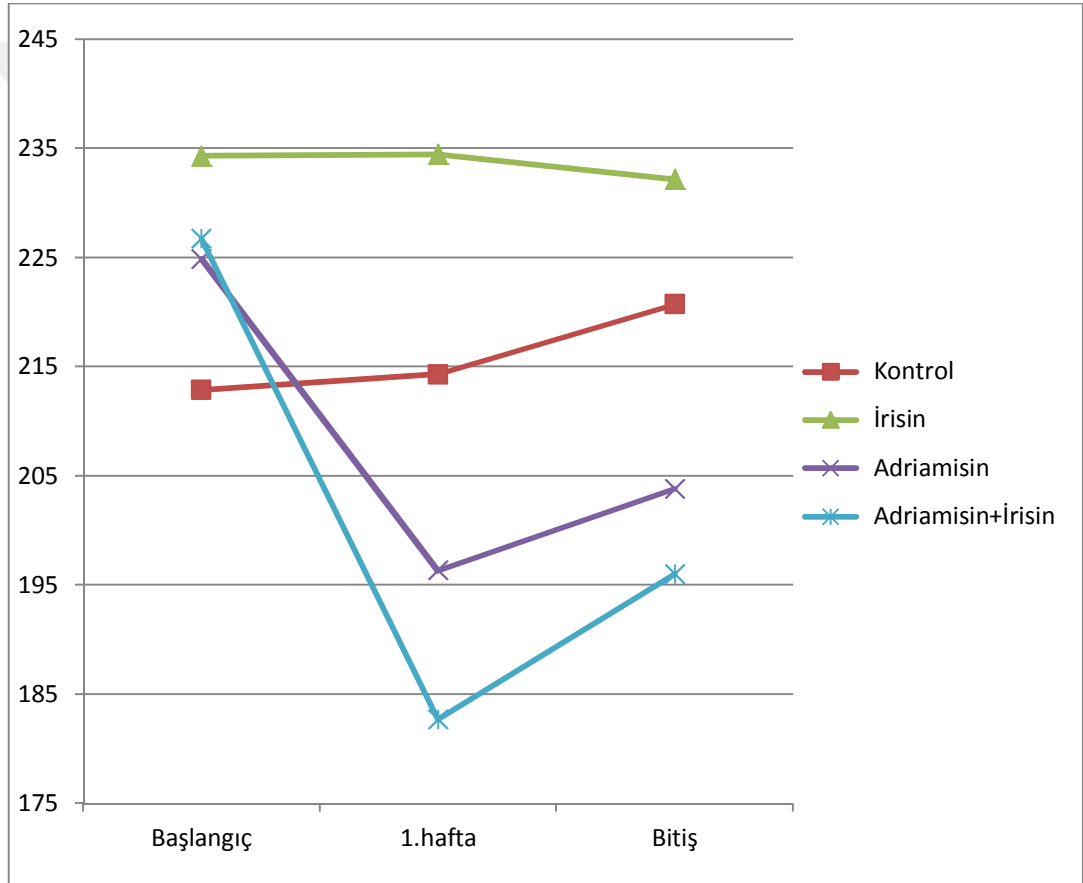
Çalışmanın devamında kontrol grubu ağırlıklarında 1. haftada ortalama 1,43 gram, 2. haftanın sonunda ise ortalama 6,42 gramlık bir ağırlık artışı oldu. Bu artış 1. ile 2. hafta arasında ve başlangıç ile 2. hafta ağırlıkları kıyaslaması yapıldığında istatistiksel anlamlılık taşımaktadır. (her iki karşılaştırma için $p<0.05$). Tablo-5 değerlendirildiğinde intraperitoneal olarak irisin verilen grupta birinci haftada belirgin bir ağırlık değişimi olmamışken birinci ile ikinci hafta arasında ise yaklaşık 2 gramlık bir ağırlık kaybı gelişmiştir. Birinci hafta ile ikinci hafta arasında olan bu ağırlık kaybı istatistiki değer taşımaktadır ($p<0.05$). Ancak çalışmanın başlangıcındaki irisin grubu ortalama ağırlığı ile sonundaki (ikinci hafta) ağırlıkları istatistiki olarak karşılaştırıldığında bu ağırlık farkının anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Tablo 5. Adriamisin ile nefropati oluşturulan ratlarda irisinin hayvan ağırlıkları üzerine etkisi

Parametreler	Gruplar				
	Kontrol	İrisin	Adriamisin	Adriamisin + İrisin	--P--
Başlangıç Ağırlığı, gr	212,86±25,84	234,29±31,42	224,86±22,59	226,71±17,47	0,459
1. Hafta Ağırlığı, gr	214,29±27,27 ^a	234,43±28,75 ^b	196,33±36,4 ^c	182,67±15,31 ^d	0,017
2. Hafta Ağırlığı, gr	220,71±25,24	232,14±27,5	203,8±35,15	196±17,80	0,125
a-d: Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır. (p < 0.05). Veriler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur.					

Sadece adriamisin verilen grupta çalışmanın 1. haftasında yaklaşık %12.6 lık bir ağırlık kaybı gelişmiş olup ($p<0.05$) 2. haftasında ise ortalama 7.5 gramlık bir ağırlık artışı gelişti. Ayrıca çalışmanın başlangıcı ile sonundaki adriamisin grubu ortalama ağırlıkları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Adriamisin uygulaması sonrasında irisin verilen grupta ise çalışmanın ilk haftasında ortalama 44.04 gramlık ağırlık kaybı tespit edildi. Kaybedilen ağırlığın 13.33 gramının ikinci haftada geri alındığı saptandı. Başlangıç-birinci hafta ve başlangıç-deney sonu arasındaki ağırlık kaybı istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (sırası ile $p<0,01$ ve $p<0,05$).



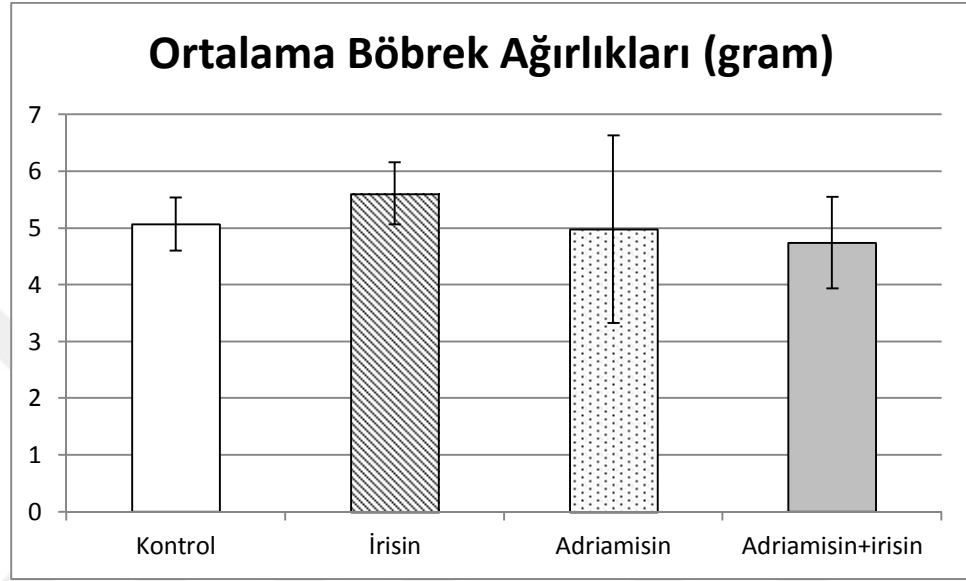
Şekil 4. Grupların ortalama ağırlık değişiminin çizgi grafik ile gösterimi

Gruplar arasındaki ağırlık farkına bakıldığında başlangıç ağırlıkları açısından tüm gruplar arasında anlamlı farklılık yokken ($p>0.05$) birinci haftadaki irisin grubu ile adriamisin+irisin grubu ağırlıkları arasında istatistiksel fark gözlemlenmiştir ($p<0.05$). Bu fark çalışmanın ikinci yani son haftasında tekrar istatistiki anlamını

kaybetmekle ($p=0.135$) birlikte çalışmanın başlangıç haftasındaki 7,58 gramlık fark çalışmanın sonunda 36.14 grama kadar yükselmiştir.

3.2. Böbrek Ağırlıkları

Çalışmada yer alan grupların böbrek ağırlıkları ortalaması ve gruplar arası farklar aşağıda gösterilmiştir (Şekil-4).

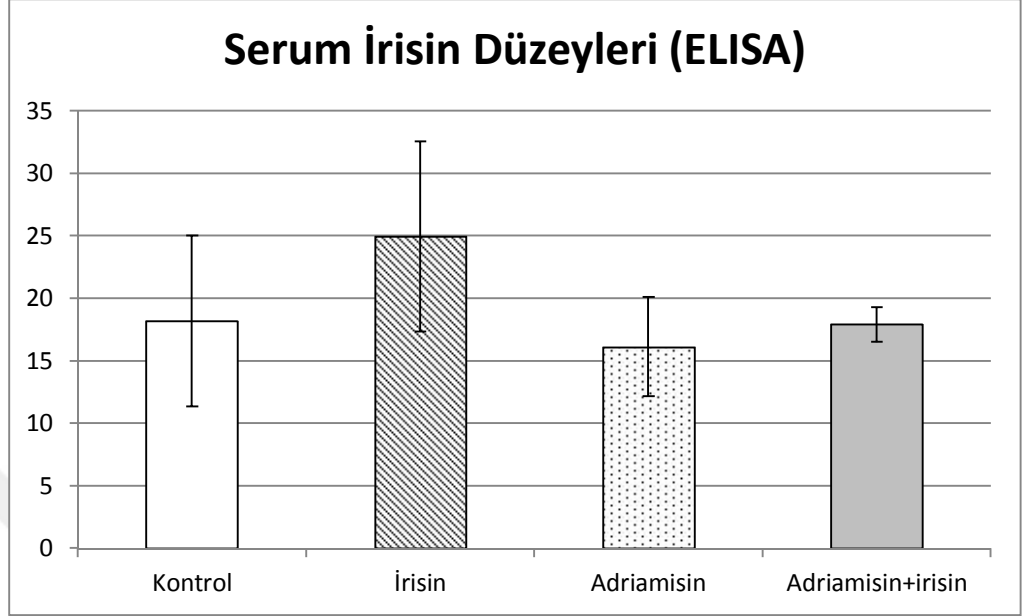


Şekil 5. Grupların ortalama böbrek ağırlıkları

Hayvanlardan çıkarılan böbreklerin ağırlıklarının ortalaması kontrol gurubunda $5,07\pm0,47$ gram, irisin gurubunda $5,61\pm0,55$ gram, adriamisin gurubunda $4,98\pm1,65$ gram, adriamisin+irisin verilen grupta ise $4,74\pm0,81$ gram olarak saptanmıştır. Böbrek ağırlıkları açısından en düşük değer adriamisin grubunda elde edilmiş olup tüm gruplar arasında ortalama böbrek ağırlığı açısından anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$)

3.3. ELISA İle Değerlendirilen Serum İrisin Düzeyleri Ortalamaları

Ratlardan elde edilen serumların ELISA ile değerlendirilmesi sonucunda elde edilen ortalama değerler standart sapmaları ile birlikte aşağıda gösterilmiştir.



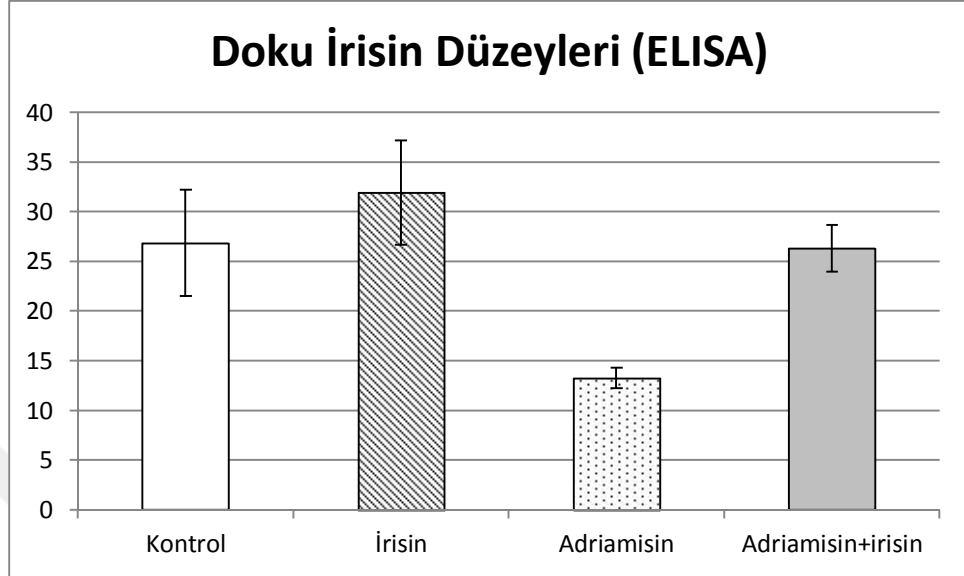
Şekil 6. ELISA İle Değerlendirilen Serum İrisin Düzeyleri Ortalamaları

Serumdaki irisin düzeylerine ELISA testi ile bakıldığında ortalama değerler kontrol grubunda $18,19 \pm 6,84$, irisin grubunda $24,94 \pm 7,6$, adriamisin grubunda $16,11 \pm 3,97$, adriamisin+irisin verilen grupta ise $17,91 \pm 1,38$ 'dir.

Serumdaki irisin düzeyleri ortalamaları tüm gruplar ikili olarak birbirleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamış olmakla beraber serumdaki en düşük irisin düzeyi adriamisin grubuna aittir. Adriamisin+irisin grubu ortalaması kontrol grubuna oldukça yakın saptanmıştır.

3.4. ELISA İle Değerlendirilen Doku İrisin Düzeyleri Ortalamaları

Homojenize edilen böbrek dokularındaki ELISA ile ölçülen irisin düzeyleri standart sapma değerleri ile aşağıda belirtilmiştir.



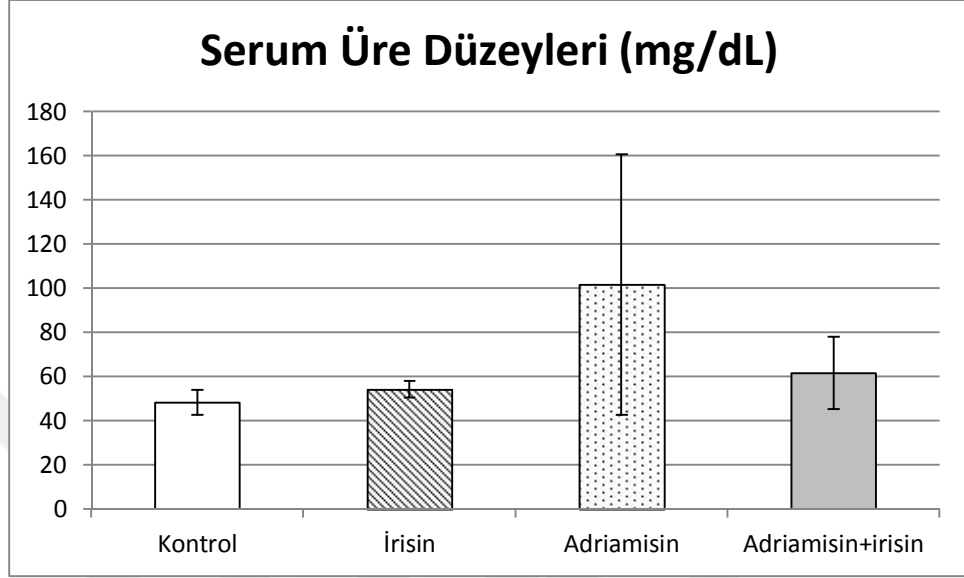
Şekil 7. ELISA İle Değerlendirilen Doku İrisin Düzeyleri Ortalamaları

Dokuda irisin düzeylerine bakıldığında kontrol gurubunun ortalaması 26,84±5,35, irisin gurubunun ortalaması 31,93±5,28, adriamisin gurubunun ortalaması 13,27±1,04, adriamisin+irisin gurubunun ortalaması ise 26,33±2,35 olarak saptanmıştır.

Kontrol gurubu ile irisin gurubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0.05$). Kontrol gurubu ile adriamisin gurubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Kontrol gurubu ile adriamisin+irisin gurubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak ilişkisizdir ($p>0.05$). İrisin ile adriamisin gurupları arasındaki doku irisin düzeyi farkı ise istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Adriamisin ve adriamisin+irisin gurupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). İrisin gurubu ile adriamisin+irisin gurubu arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0.05$).

3.5. Serum Üre Düzeyleri

Çalışmada mevcut olan 4 grubun, çalışılan biyokimyasal parametrelerinden serum üre ölçümünün (mg/dL cinsinden) ortalamaları ve gruplar arasındaki değişimini gösteren Şekil-7 aşağıda verilmiştir.



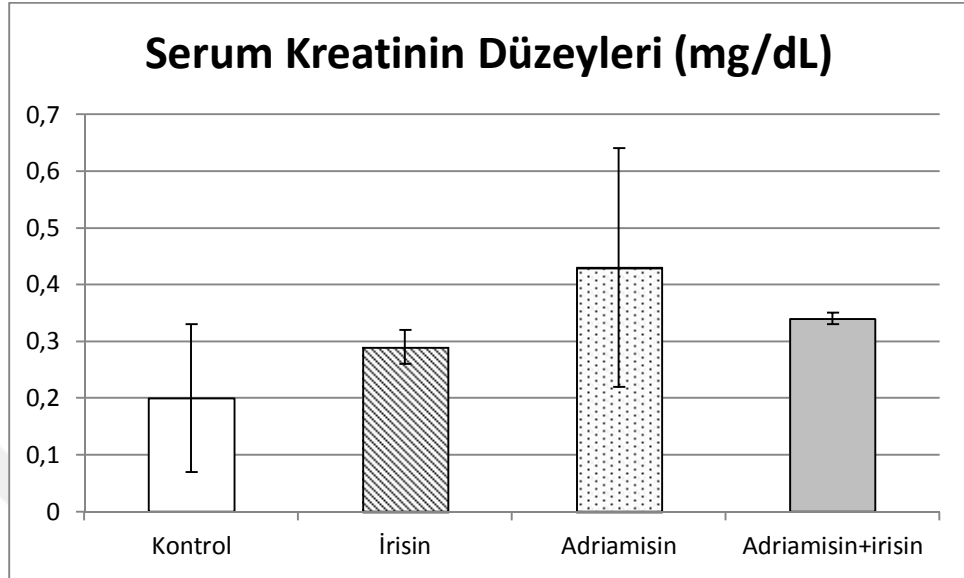
Şekil 8. Grupların Serum Üre Düzeyleri

Serum üre değerleri ortalamasında bakıldığında kontrol gurubunda 48,14±5,58 mg/dL, irisin gurubunda 54,14±3,67 mg/dL adriamisin gurubunda 101,6±58,93 mg/dL, adriamisin+irisin gurubunda ise 61,6±16,46 mg/dL olarak saptanmıştır.

Serum üre düzeyleri ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldığında kontrol gurubu ile irisin gurubu arasında istatistiksel farklılığın olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). Kontrol gurubu ile adriamisin gurubu arasında ise 2 kata yakın bir fark bulunmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Kontrol gurubu ile adriamisin+irisin gurubu karşılaştırıldığında ise aradaki farkın istatistiki anlamı olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). İrisin gurubu serum üre düzeyi ile adriamisin gurubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). İrisin ile adriamisin+irisin grupları serum üre düzeyi ortalamaları arasında istatistiksel fark yoktur ($p>0.05$). Sadece adriamisin verilen grup ile adriamisin+irisin verilen grup arasında 40 mg/dL'lik bir fark olmakla beraber bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır.

3.6. Serum Kreatinin Düzeyleri

Çalışmadaki grupların serum kreatinin değerleri ve standart sapmaları (mg/dL cinsinden) aşağıdaki şekil-8’de gösterilmiştir.



Şekil 9. Grupların Serum Kreatinin Düzeyleri

Gurupların serum kreatinin düzeyi ortalamalarına bakıldığında kontrol gurubunun serum kreatinin değeri 0.2 ± 0.13 mg/dL, irisin gurubunun 0.29 ± 0.039 mg/dL, adriamisin gurubunun 0.43 ± 0.21 mg/dL, adriamisin+irisin gurubunun ise 0.34 ± 0.01 mg/dL olarak saptanmıştır.

Bu değerler guruplar arasına karşılaştırıldığında kontrol gurubu serum kreatinin düzeyi ile irisin ve adriamisin+irisin gurupları arasındaki farkın istatistiksel anlam taşımadığı saptanmıştır ($p > 0.05$). Ancak kontrol gurubu ile adriamisin gurubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). İrisin gurubu ile adriamisin ve adriamisin+irisin gurupları arasında fark olmakla birlikte bu farklar istatistiki değer taşımamaktadır ($p > 0.05$). Bununla birlikte adriamisin gurubu serum kreatinin ortalaması ile adriamisin+irisin gurubu ortalaması arasında da istatistiki fark yoktur.

3.7. İmmünohistokimyasal Bulgular (İrisin İmmünreaktivitesi)

İrisin immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; İrisin immünreaktivitesi böbrek dokusunda tübül hücrelerinin sitoplazmalarında (kırmızı ok) gözlemlendi.

Böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi değerlendirildiğinde kontrol (Şekil 9) ve irisin (Şekil 10) gruplarında immünreaktivite benzerdi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında irisin immünreaktivitesi adriamisin grubunda (Şekil 11) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış bulundu ($p<0.05$). Adriamisin grubuyla kıyaslandığında ise irisin immünreaktivitesi adriamisin+irisin grubunda (Şekil 12) belirgin olarak artmıştı ($p<0.05$) ve kontrole yakın gözlemlendi. Tablo 6’da irisin histoskor gösterilmiştir.

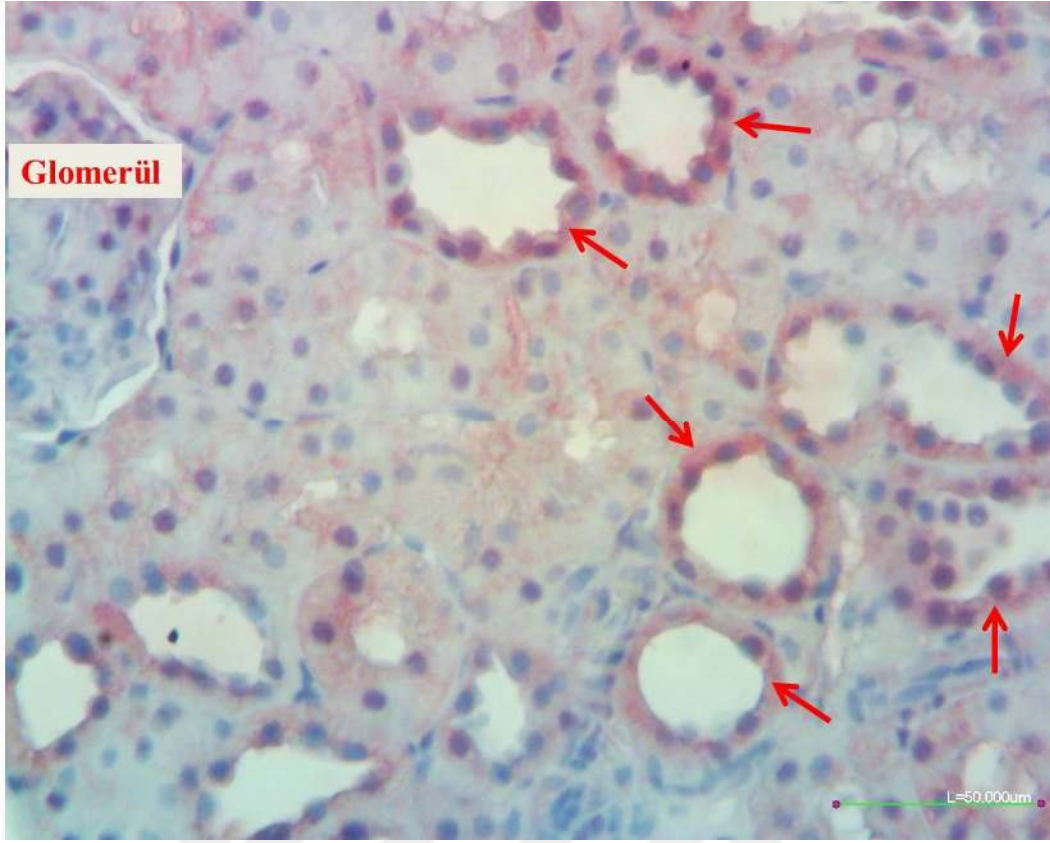
Tablo 6. İrisin histoskor

GRUP	Histoskor
Kontrol	0.98±0.18
İrisin	1.03±0.42
Adriamisin	0.41±0.32 ^a
Adriamisin +İrisin	0.90±0.15 ^b

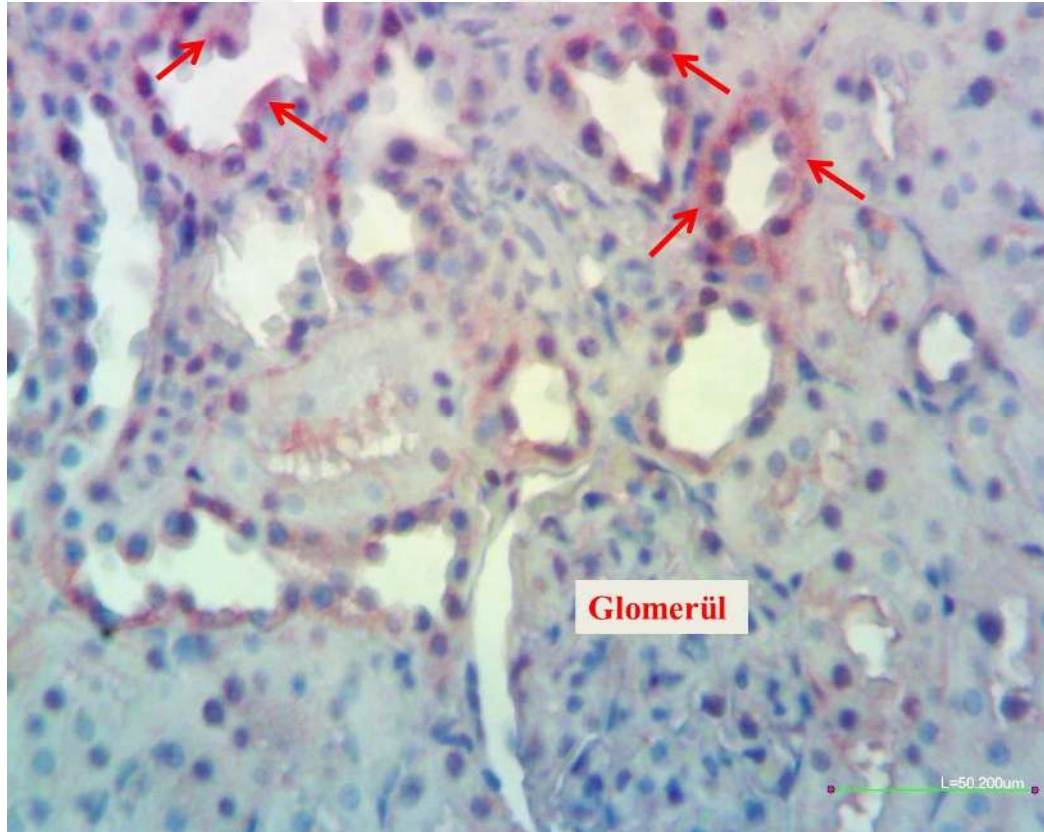
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

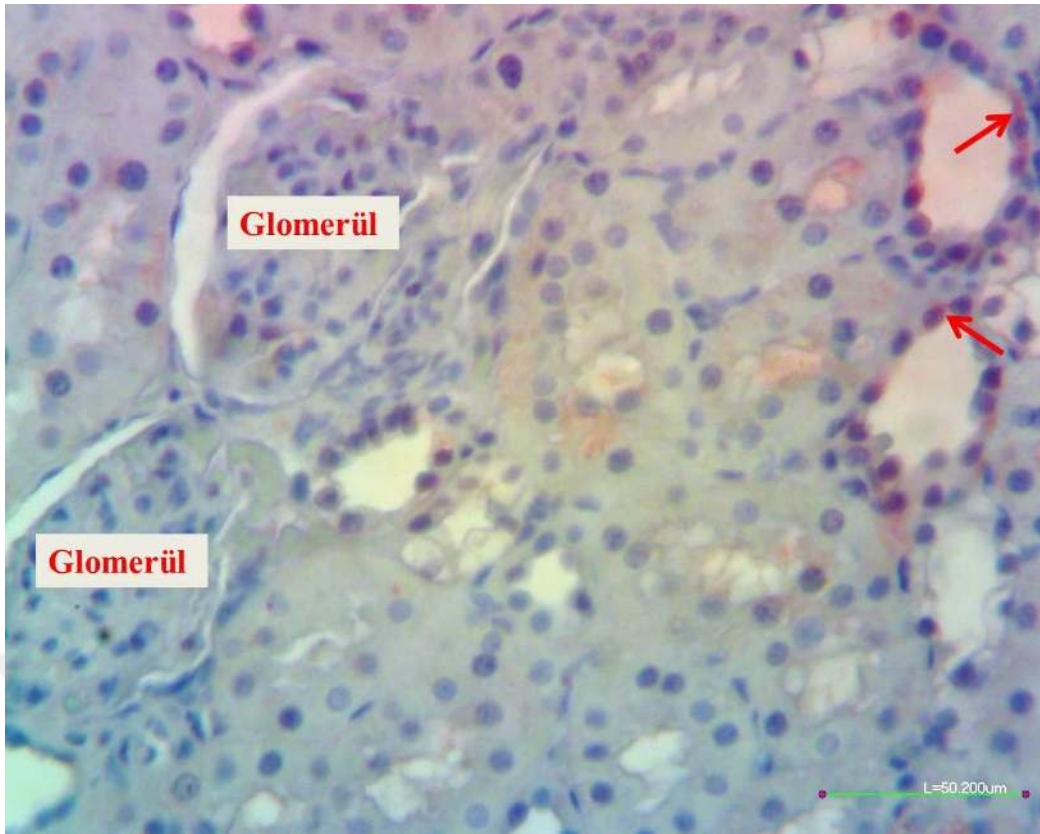
^b Adriamisin grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



Şekil 10. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi (kırmızı ok).



Şekil 11. İrisin grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi (kırmızı ok).



Şekil 12. Adriamisin grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi (kırmızı ok).



Şekil 13. Adriamisin+İrisin grubuna ait böbrek dokusunda irisin immünreaktivitesi (kırmızı ok).

3.8. TUNEL Bulgular

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği böbrekte tübül hücrelerinde (kırmızı ok) gözlemlendi.

Böbrek dokusunda TUNEL pozitifliği; kontrol (Şekil 13) ve irisin (Şekil 14) gruplarında benzerdi. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında TUNEL pozitifliği adriamisin grubunda (Şekil 15) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p<0.05$). Adriamisin grubuyla kıyaslandığında ise TUNEL pozitifliği adriamisin+irisin grubunda (Şekil 16) belirgin olarak azalmıştı ($p<0.05$) ve kontrole yakın gözlemlendi. Tablo 7 de apoptotik indeks gösterilmiştir.

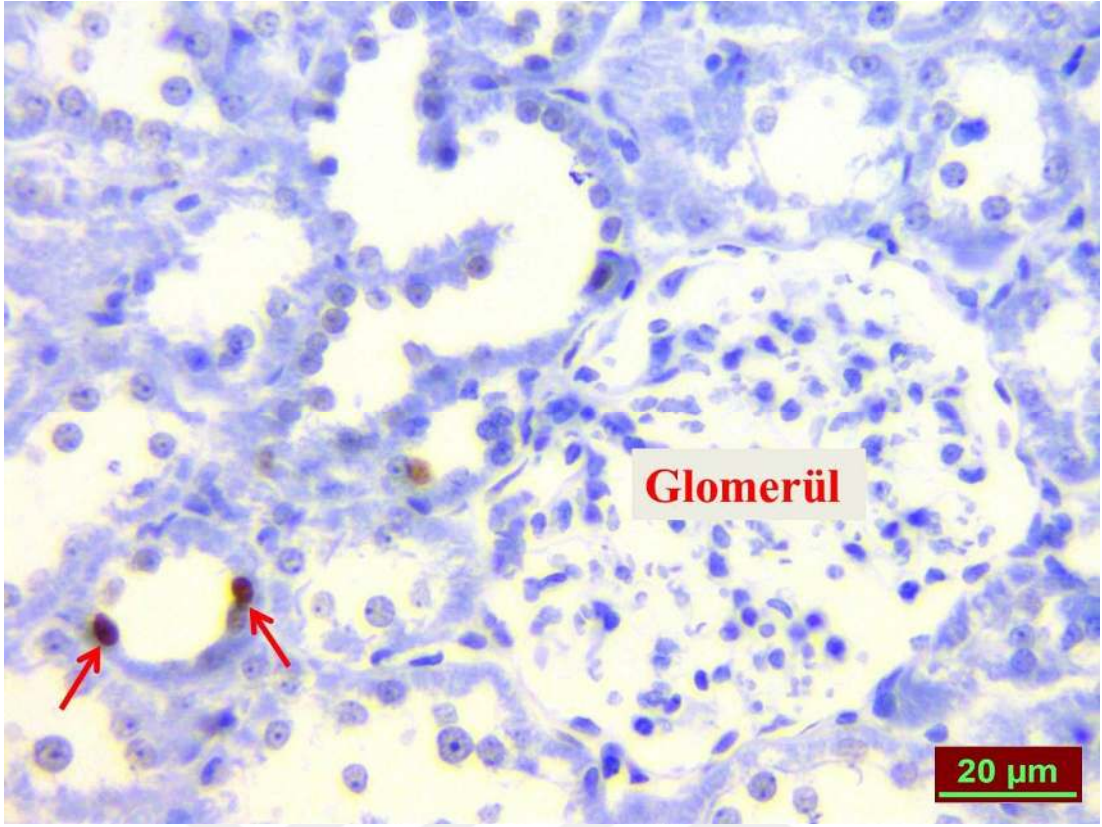
Tablo 7. Apoptotik indeks (%)

GRUP	Apoptotik indeks (%)
Kontrol	2.33±1.03
İrisin	2.83±0.75
Adriamisin	13.50±3.27 ^a
Adriamisin +İrisin	3.16±1.32 ^b

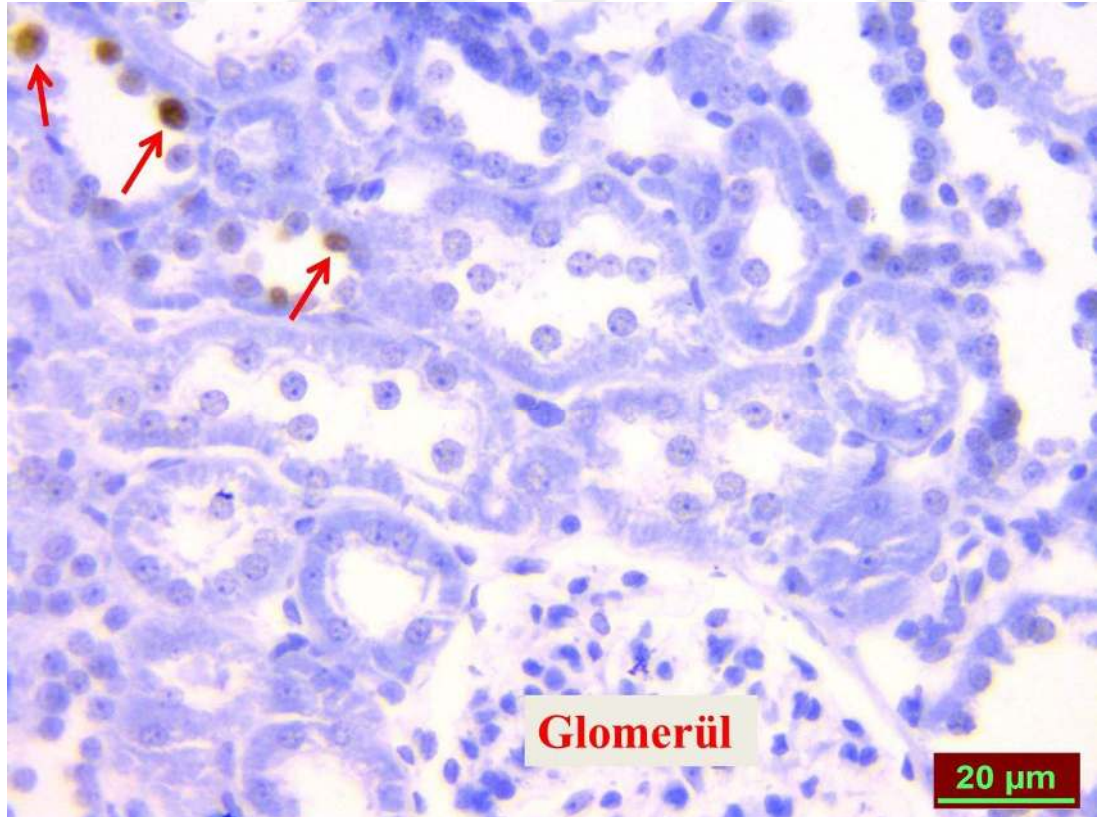
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,

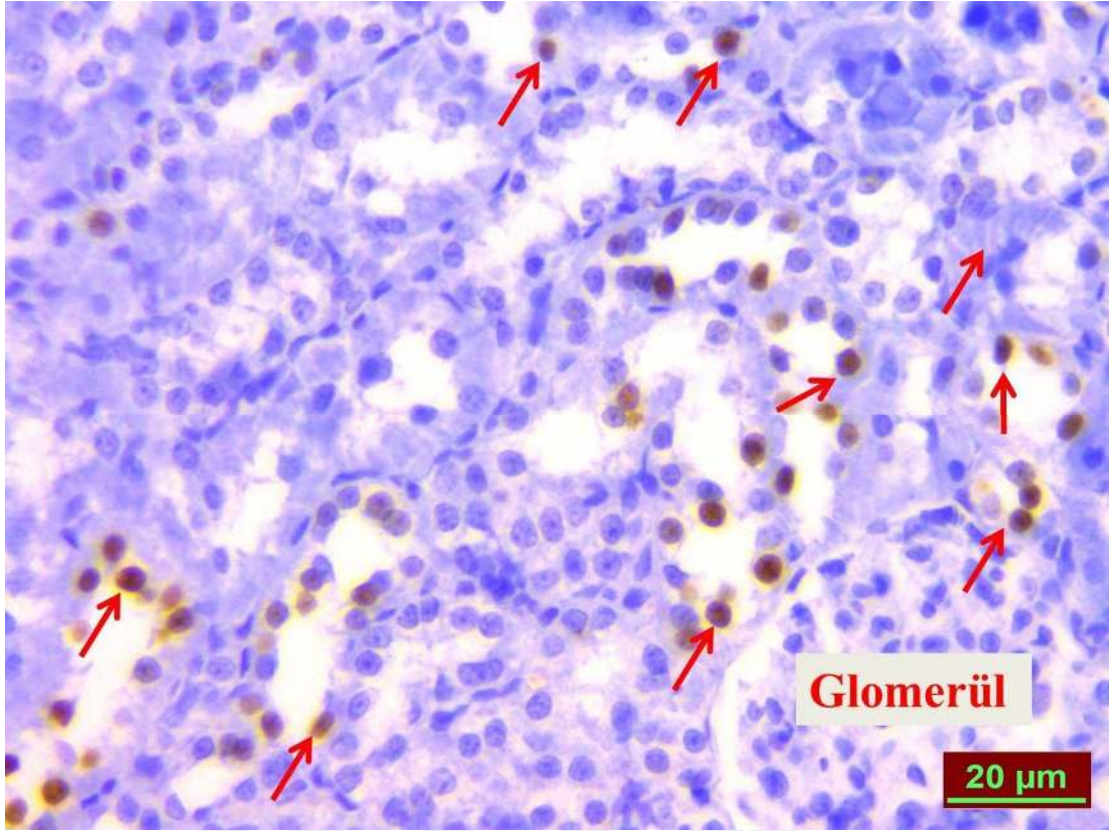
^b Adriamisin grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).



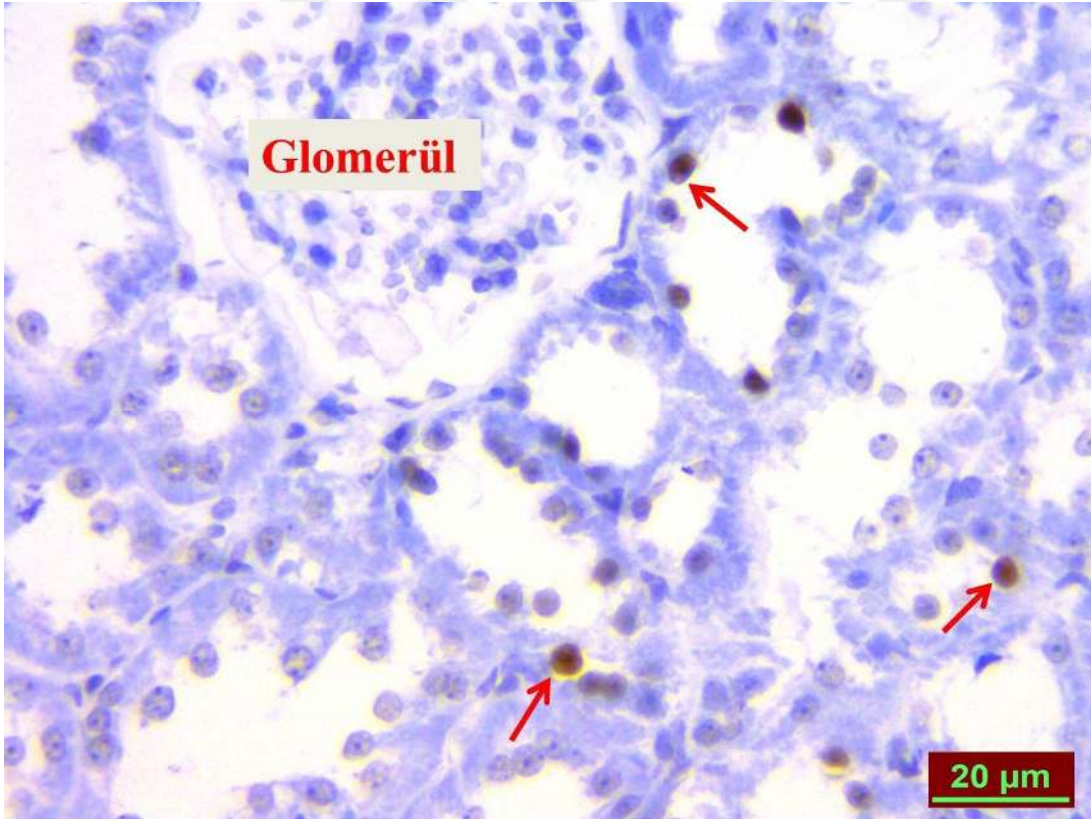
Şekil 14. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 15. İrisin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 16. Adriamisin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).



Şekil 17. Adriamisin +İrisin grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (kırmızı ok).

4. TARTIŞMA

Böbrek yetmezliği, yol açtığı mortalite ve morbiditeyle tüm dünyada ve ülkemizde önemli bir sağlık sorunudur. Böbrek yetmezliğinin sebeplerini öğrenmek, bu sebepleri ortadan kaldırmaya çalışmak, katastrofik bir süreç olan son dönem böbrek yetmezliğine olan gidişatı engellemek ve geliştikten sonra son dönem böbrek yetmezliğini tedavi edebilmek tüm dünyada yapılan çalışmaların ilgi alanlarının bir kısmını oluşturmaktadır.

Yapılan çalışmada irisin adı verilen yeni keşfedilmiş peptit yapıda bir hormonun renal fonksiyonların bozulma sürecine olan etkilerini araştırıldı. Kardiyotoksik ve nefrotoksik etkisi olduğu bilinen bir ajan olan adriamisin nefrotoksisite indüksiyonunda kullanıldı. Yapılan çalışmanın sonucunda irisin molekülünün nefrotoksisiteye karşı koruyucu etkilerinin olabileceği saptandı.

Böbrek yetmezliği ile irisinin ilişkisini araştıran çalışmalarda böbrek yetmezliğinde dolaşımdaki irisin düzeyinde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Örneğin Ebert ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada KBY'li hastalarda hastalığın evresi ilerledikçe serum irisin seviyesinin daha fazla düştüğü saptanmıştır (11).

Organizmada böbrek yetmezliği sonucunda vücutta ağırlık kaybı görülmesi beklenen bir durumdur. Doksorubisin kardiyotoksisitesini araştıran bir yayında tek seferde 10 mg/kg dozunda verilen ajanın çalışmanın ilk 2 haftasında hayvanlarda başlangıca göre %10'luk bir ağırlık kaybına yol açtığı gösterilmiştir (45). Yapılan çalışmada da çalışmanın ilk haftalık sürecinde intraperitoneal olarak 10 mg/kg adriamisin uygulanan ratlarda %12,6 lık bir ağırlık kaybı söz konusuydu. Mukayese edilen çalışmada 2. haftanın sonunda hayvan ağırlıklarında artış gözlemlenirken yapılan çalışmada ise 2. haftada rat ortalama ağırlıklarında 7,5 gramlık bir artış saptandı. İlginçtir ki yapılan çalışmanın sonunda sakrifiye edilen ratların renal dokuları çıkarılırken adriamisin gurubunda daha belirgin olmakla birlikte sadece adriamisin verilen gurup ile adriamsin ve irisin birlikte verilen guruplarda assit mayi geliştiği tespit edilmiştir. Ratlarda salt inspeksiyon ile organlara bakıldığında kontrol gurubu ile karşılaştırıldığında organların ödemli oldukları saptanmıştır. Enjektör aracılığı ile ölçülmeye çalışılan sıvı hacimleri yaklaşık olarak 20-45 cc olarak tespit edilmiştir. Dolayısı ile hayvanlardaki bu ağırlık artışının sebebinin renal ve/veya

muhtemel kardiyak yetmezliğe sekonder gelişen asit-ödemeye bağlı olabileceği düşünüldü.

Yine ağırlıkla ilgili olarak irisin gurubuna bakıldığında deneyin ilk haftasında bu grupta belğin bir ağırlık değişimi olmazken 2. haftasında ortalama 2 gramlık bir ağırlık kaybı tespit edildi. İrisin termojenik etkisi olduğu belirtilen ve anti-obezite etkisi olduğu düşünülen bir peptittir (79). Beyaz adipoz dokuyu kahverengi adipoz dokuya dönüştüren irisinin (3), bu etkisi sırasında ısı açığa çıkarttığı bilinmektedir (84). Organizmada artan irisin miktarının UCP-1 üzerinden direkt olarak mitokondriye etki ettiği; bu etki sayesinde mitokondride ATP üretiminin aksadığı bilinmektedir. Yapılan araştırmaların sonucunda irisinin aktifleştirdiği UCP-1'in mitokondride pompa görevi aldığı ve protonları intermembran boşluktan mitokondrial matrikse pompaladığı tespit edilmiştir. Bu etkiye bağlı olarak ATP sentezinde kullanılacak olan potansiyel farkın ortadan kalktığı tespit edilmiştir (3).

Bunun bir sonucu olarak obezitede tedavisinde etkili olabileceği düşünülen irisin araştırmamız sürecinde 5 kez ratlara intraperitoneal olarak verildi. Bu sürecin sonunda birinci ve ikinci haftalar arasında 2 gramlık istatistiki açıdan da anlamlı bir ağırlık kaybı tespit edildi. Bu süreçte kontrol grubunda ise ağırlık kazanç süreci devam etmekteydi. Bu yönüyle irisinin anti-obezitik etkisinin olabileceğine dair yorumda bulunuldu. İrisinin grubundaki hayvanlardaki ağırlık kaybının özellikle ikinci haftada gelişmiş olması irisinin kümülatif etkisinin tekrarlayan doz uygulamalarından sonra geliştiğini düşündürmüştür. Adriamisin ve irisin verilen grupta 1. haftadaki ağırlık kaybının daha sert fakat sonrasında ise daha hızlı bir kazancın olduğu saptandı.

Böbrek ağırlıklarına bakıldığında ise intraperitoneal irisin verilen gruptaki böbrek ağırlığının daha fazla olduğu görülmekle beraber istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. İlginçtir ki yine böbrek ağırlığı açısından en düşük değer adriamisin grubunda beklenirken adriamisin+irisin grubunda tespit edilmiştir.

Serum irisin düzeylerine bakıldığında gruplar arasında istatistiksel fark saptanmamış olmakla beraber en düşük düzey adriamisin grubunda en yüksek düzey ise beklenildiği üzere irisin grubunda elde edilmiştir. Bu konuda Wen ve ark. yaptığı bir çalışmada ise bu çalışmaya kıyasla daha net sonuçlar alınmıştır (14).

Yapılan çalışmalara bakıldığında irisinin plazmada yarılanma zamanı ile ilgili bir veriye saptanmamıştır. Yapılan çalışmanın sonucu irisinin renal klirensi hakkında sorular da doğurmaktadır. Diyaliz edilebilir bir madde olduğu ile ilgili bir araştırma (11) bulunsa da organizmadaki irisin düzeyinin tam olarak tespiti ile ilgili sıkıntılar da mevcuttur. Günümüz gelişen tıbbına rağmen insan serumundaki irisin düzeyinin normal değeri halen kesin olarak tespit edilememiştir (79).

Bu duruma bir alternatif olarak alışmamızda ELISA yöntemi ile dokulardan homojenizasyon ile elde edilen supernatantlarda irisin düzeyi çalışılmıştır. Bunun sonucunda adriamisin verilen grupta doku irisin düzeyinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Buna bağlı olarak böbrek yetmezliğinde doku düzeyinde irisin seviyesinde düşmelerin olduğu tespit edilmiştir. Renal yetmezlikte plazma irisin seviyelerinde düşüklük tespit edilmiş olmakla beraber (14) doku düzeyinde de düşmenin saptanması irisinin bu hastalıktaki rolünü destekler niteliktedir.

Serum üre ve kreatinin düzeylerine bakıldığında, serum irisin düzeyi ile negatif korelasyonun olduğu bildirilmiştir (14). Adriamisin renal fonksiyonlarda belirgin bozulma yapmaksızın nefropati yapan bir ajandır (26, 113). Çalışmada ise serum üre düzeyleri ortalamaları gruplar arasında karşılaştırıldığında kontrol grubu ile adriamisin grubu arasında 2 kata yakın bir fark bulunmaktadır ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Kontrol grubu ile adriamisin+irisin grubu karşılaştırıldığında ise aradaki farkın istatistiki anlamı olmadığı saptanmıştır. Buna bağlı olarak adriamisin ile nefropati oluşturulan ratlarda irisin desteğinin böbreğin renal fonksiyonlarını olumlu yönde etkileyebileceği düşünöldü. Serum kreatinin düzeyine bakıldığında ise adriamisin grubu ile kontrol grubu arasındaki anlamlı fark varken adriamisin grubu ile adriamisin+irisin grubu arasında istatistiksel fark saptanmamıştır.

İmmünohistokimyasal açıdan bakıldığında ise adriamisin grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir düşüklük tespit edildi. Adriamisin+irisin grubunda ise adriamisin grubuna göre immünreaktivite fazla saptandı. Buna bağlı olarak renal yetmezlikte doku düzeyinde de irisin seviyesinde azalma olduğu birkez daha tespit edildi.

Adriamisin apoptozu indükleyerek sitotoksik etki gösteren bir kemoterapötiktir. Tüm hücrelerde olduğu gibi renal hücrelerde de apoptozu arttırdığı gösterilmiştir (71). Bunlarla beraber TUNEL pozitifliğine bakıldığında irisin ve kontrol gurubunda benzerken, adriamisin gurubunda belirgin olarak artmış düzeydeydi. Adriamisin ile birlikte irisin verilen gurupta ise, sadece adriamisin verilen guruba nazaran anlamlı bir azalma olup bu azalmanın kontrol gurubu ile benzer değerlerde olması irisinin adriamisinin yol açtığı apoptotik etkiyi engelleyici özellikte olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada, böbrek yetmezliğinde irisin düzeyinde azalma olduğu saptanmış ve dışarıdan verilen irisinin gelişen renal hasara karşı koruyucu etkisinin olabileceğini düşündürmüştür.

5. KAYNAKLAR

1. Süleymanlar G, Serdengeçti K, Erek E. Türkiye'de son dönem böbrek yetmezliğinin epidemiyolojisi. *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005; 1(21): 1-8.
2. Earle KA, Porter KK, Ostberg J, Yudkin JS. Variation in the progression of diabetic nephropathy according to racial origin. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 286-290.
3. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 2012; 481: 463–468.
4. Wiedemann MS, Wueest S, Item F, Schoenle EJ, Konrad D. Adipose tissue inflammation contributes to short-term high-fat-diet-induced hepatic insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 305: E388–395.
5. Altan N, Ongun CÖ, Hasanoğlu E, Engin A, Tuncer C, Sindel P. Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Superoxide Dismutase Activity In Alloxan-Induced Diabetic Rat Hepatocytes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1994; 22(2-3): 95-98.
6. Altan N, Ongun CÖ, Elmalı E, Kılıç N, Yavuz Ö, Sancak B. Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Glutathione and Glutathione peroxidase activity in Alloxan Induced Diabetic Rat Hepatocytes. *General Pharmacology* 1994; 25(5): 875-887.
7. Saxena AK, Srivastava P, Kale RK, Baquer NZ. Impaired antioxidant status in diabetic rat liver. Effect of vanadate. *Biochemical Pharmacology* 1993; 45(3): 539-542.
8. Kılıç N, Malhatun E, Elmalı E, Altan N. An Investigation into the Effects of the Sulfonylurea Glyburide on Glutathione peroxidase activity in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Muscle Tissue. *General Pharmacology* 1988; 30(3): 399-401.
9. Besse-Patin A, Montastier E, Vinel C. Effect of endurance training on skeletal muscle myokine expression in obesemen: identification of apelin as a novel myokine. *Int J Obes (Lond)* 2014, (<http://dx.doi.org/10.1038/ijo.2013.158>).
10. Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect: an exercise hormone or a trans-membrane receptor? *Adipocyte* 2013; 2: 289–293.

11. Ebert T, Focke D, Petroff D, Wurst U, Richter J, Bachmann A. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur J Endocrinol* 2014, (<http://dx.doi.org/10.1530/EJE-13-1053>).
12. Liu JJ, Liu S, Wong MD, Tan CS, Tavintharan S, Sum CF. Relationship between circulating irisin, renal function and body composition in type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 2014, (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2013.09.011>).
13. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C. Irisinemia: a novel concept to coin in clinical medicine. *Ann Nutr Metab* 2013; 63: 60–61.
14. Wen MS, Wang CY, Lin SL, Hung KC. Decrease in irisin in patients with chronic kidney disease. *PLOS ONE* 2013; 8:e64025.
15. Gray H. *Gray's Anatomy* (<http://www.bartleby.com/107/253.html>) erişim tarihi: 14.11.2015.
16. Kriz W, Kaissling B. Structural organization of the mammalian kidney. Seldin DW, Giebisch G (eds). *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. New York: Raven Press, 1992: 707-777.
17. Benninghoff A. *Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen*. 15. Baskı, Münih 1993, (<http://www.urology-textbook.com/kidney-anatomy.html>) erişim tarihi: 14.11.2015.
18. Erek E, Süleymanlar G. Böbreğin Yapısı ve Fonksiyonları. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. (Eds). *İç Hastalıkları*. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 1211–1228.
19. Goldman L, Ausiello D. *Cecil Medicine* 23. Baskı. Ünal S Çev (Ed). Ankara, Güneş Kitabevleri, 2011.
20. Guyton AC, Hall JE. *Tıbbi Fizyoloji* 10. Baskı, Çavuşoğlu H Çev (Ed). İstanbul, Nobel Kitabevleri, 2001.
21. Kumar V, Cotran R, Robbins S. *Robbins Temel Patoloji* 7. edisyon. Çevikbaş U Çev (Ed). Nobel Tıp Kitabevleri, 2003: 509-543.
22. Longo D L, Fauci A S, Kasper D L, Hauser S L. *Harrison's principles of internal medicine* 18th ed. Acute Kidney Injury, Tinsley: McGraw&Hill 2012; 279: 2293-2308.

23. Cheng HF, Harris RC. Renal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 1795-1804.
24. Perazella MA, Moeckel GW. Nephrotoxicity from chemotherapeutic agents: Clinical manifestations, pathobiology, and prevention/therapy. *Semin Nephrol* 2010; 30: 570-581.
25. Jefferson J, Joshua A, Thurman M, Schrier R W. Pathophysiology And Etiology Of Acute Kidney Injury. Johnson, Richard J. (Ed.) *Comprehensive Clinical Nephrology* Elsevier, 2015: 802-817.
26. Doxorubicin Drug Monograph. Clinical Key web sitesi. (https://www.clinicalkey.com/#!/content/drug_monograph/6-s2.0-211) [Alıntı Tarihi: 18 Eylül 2015].
27. Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, Grein A, Orezzi P, Pol C, Spalla C. Adriamycin 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. *Biotechnol Bioeng* 1969; 11 (6): 1101–1110.
28. RCSB Protein Data Bank internet sitesi [Alıntı Tarihi: 18 Eylül 2015.] (<http://www.rcsb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=1D12&bionumber=1>)
29. Fornari FA, Randolph JK, Yalowich JC, Interference by Doxorubicin with DNA Unwinding in MCF-7 Breast Tumor Cells. *Molecular Pharmacology*, 1994;45: 649 – 656.
30. Tomas S, Matin S, Olga P, Michaela A, Anthracycline- Induced Cardiotoxicity Overview of Studies Examining the Roles of Oxidative Stress and Free Cellular Iron. *Pharmacol Rep*. 2009; 61: 154-171.
31. Barry E, Alavarez JA, Scully RE, Miller TL, Lipsultz SE. Anthracycline Induced cardiotoxicity course path physiology prevention and management. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 1039-1058.
32. Ritch PS, Occhipinti SJ, Cunningham RE. Schedule-dependent synergism of combinations of hydroxyurea with adriamycin and 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine with adriamycin. *Cancer Res* 1981; 41: 3881-3384.
33. Olson RD, Mushlin PS, Brenner DE. Doxorubicin cardiotoxicity may be caused by its metabolite, doxorubicinol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3585-3589.

34. Laginha, K.M. Determination of Doxorubicin Levels in Whole Tumor and Tumor Nuclei in Murine Breast Cancer Tumors. *Clinical Cancer Research* 2005; 11 (19). Retrieved on 19 April 2007.
35. Doxil (doxorubicin hydrochloride liposome) injection package insert. Horsham, PA: Janssen Products. 2015, April.
36. Doxorubicin hydrochloride package insert. New York, NY: Pfizer Labs; 2013.
37. Nielsen D, Skovsgaard T. P-glycoprotein as multidrug transporter: a critical review of current multidrug resistant cell lines. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1139: 169-183.
38. BC Cancer Agency Cancer Drug Manual. 2006; 1-13.
39. Bolis FM, Holcenberg JS, Poplack DG. General principles of chemotherapy. Pizzo PA, Poplack DG (eds). *Principle and Practice Pediatric Oncology*. JB. Lippincott Company, 1989: 186-189.
40. Adriamycin (doxorubicin hydrochloride) injection package insert. Bedford, OH: Bedford Laboratories. 2012, April.
41. Adriamycin (doxorubicin). Bedford, OH: Ben Venue Laboratories Inc. 2006, Oct.
42. Vargel İ, Erdem A, Ertoý D, Pınar A, Erk Y, Altundağ MK, Güllü İ. Effects of growth factors on doxorubicin-induced skin necrosis: documentation of histomorphological alterations and early treatment by GM-CSF and G-CSF. *Ann Plast Surg* 2002; 49: 646-653.
43. Lane P, Vichi P, Bain DL. Temperature dependence studies of adriamycin uptake and cytotoxicity. *Cancer Res* 1987; 47: 4038-4042.
44. Von Hoff DD, Layard MW, Basa P. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med* 1979; 91: 710–717.
45. Hortobagyi GN, Frye D, Buzdar AU. Decreased cardiac toxicity of doxorubicin administered by continuous intravenous infusion in combination chemotherapy for metastatic breast carcinoma. *Cancer* 1989; 63: 37–45.
46. Hayward R, Hydock D Doxorubicin Cardiotoxicity in the Rat: An In Vivo Characterization *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, July 2007; 46 (4): 20-27.

47. Siveski-Iliskovic N, Hill M, Chow DA, Singal PK. Probucol protects against adriamycin cardiomyopathy without interfering with its antitumor effect. *Circulation* 1995; 91: 10–15.
48. Li T, Danelisen I, Bello-Klein A, Singal PK. Effects of probucol on changes of antioxidant enzymes in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats. *Cardiovasc Res* 2000; 46: 523-530.
49. Cusack BJ, Gambliel H, Musser B, Hadjokas N, Shadle SE, Charlier H, Olson RD. Prevention of chronic anthracycline cardiotoxicity in the adult Fischer 344 rat by dexrazoxane and effects on iron metabolism. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58: 517–526.
50. Saad SY, Najjar TA, Al-Rikabi AC. The preventive role of deferoxamine against acute doxorubicin-induced cardiac, renal and hepatic toxicity in rats. *Pharmacol Res* 2001; 43: 211–218.
51. Ehrke MJ, Maccubbin D, Ryoyama K, Cohen SA, Mihich E. Correlation between adriamycin-induced augmentation of interleukin 2 production and of cell-mediated cytotoxicity in mice *Cancer Res* 1986; 46: 46-54.
52. Barbey MM, Fels LM, Soose M. Adriamycin affects glomerular renal function: Evidence for the involvement of oxygen radicals. *Free Radic Res Commun* 1989; 7: 195–203.
53. Bertani T, Cutillo F, Zoja C, Broggin M, Remuzzi G Tubulo-interstitial lesions mediate renal damage in adriamycin glomerulopathy. *Kidney Int.* 1986; 30(4): 488-496.
54. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoma Y, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest* 1982; 46(1): 16–23.
55. Wang Y, Wang YP, Tay YC, Harris DC. Progressive adriamycin nephropathy in mice: Sequence of histologic and immunohistochemical events. *Kidney Int* 2000; 58: 1797–1804.
56. Jeansson M, Bjorck K, Tenstad O, Haraldsson B. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 114–122.
57. Baker AJ, Mooney A, Hughes J, Lombardi D, Johnson RJ, Savill J. Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. *J Clin Invest* 1994; 94(5): 2105–2116.

58. Harrison DJ. Cell death in the diseased glomerulus. *Histopathology* 1988; 12(6): 679–683.
59. Qin XJ, He W, Hai CX, Liang X, Liu R. Protection of multiple antioxidants Chinese herbal medicine on the oxidative stress induced by adriamycin chemotherapy. *J Appl Toxicol* 2008; 28: 271-282.
60. Srdjenovic B, Milic-Torres V, Grujic N, Stankov K, Djordjevic A, Vasovic V. Antioxidant properties of fulleranol C60 (OH)24 in rat kidneys, testes, and lungs treated with doxorubicin. *Toxicol Mech Methods* 2010; 20: 298-305.
61. Pedrycz A, Wieczorski M, Czerny K. Histological and histochemical assessment of the effects of a single dose adriamycin on fetal rat kidney. *Acta Histochem* 2005; 107: 215–220.
62. Podjarny E, Bernheim J, Rathaus M, Pomeranz A, Tovbin D, Shapira J. Adriamycin nephropathy: A model to study effects of pregnancy on renal disease in rats. *Am J Physiol* 1992 Oct; 263 (4 Pt 2): 711–715.
63. Podjarny E, Losonczy G, Baylis C. Animal models of preeclampsia. *Semin Nephrol* 2004; 24: 596–606.
64. Vincent L, Harris D. Adriamycin nephropathy: A model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* 2011;16: 30-38.
65. Muñoz M, Rincón J, Pedrañez A, Viera N, Hernández-Fonseca JP, Mosquera J. Proinflammatory role of angiotensin II in a rat nephrosis model induced by adriamycin. *JRAAS* 2011; 12: 404–412.
66. Sternberg SS. Cross-striated fibrils and other ultrastructural alterations in glomeruli of rats with daunomycin nephrosis. *Lab Invest* 1970 Jul; 23 (1): 39–51.
67. Bertani T, Remuzzi G, Rocchi G, Delaini F, Sacchi G, Falchetti M, Donati MB. Steroids and Adriamycin nephrosis. *Appl Pathol* 1984; 2(1): 32–38.
68. Weening JJ, Rennke HG. Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rats. *Kidney Int* 1983; 24: 152-159.
69. O'Donnel MP, Michels L, Kasiske B, Raij L, Keane WF. Adriamycin-induced chronic proteinuria: a structural and functional study. *J Lab Clin Med* 1985; 106: 62-67.

70. Khan M, Hard G.C, Alden C.L, Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology (Third Edition). Kidney. Elsevier 2013; 47: 1667–1773.
71. Zhang J, Clark JR, Herman EH, Ferrans VJ. Doxorubicin-induced apoptosis in spontaneously hypertensive rats: differential effects in heart, kidney and intestine, and inhibition by ICRF-187. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 1931-1943.
72. Singh M. K, Mohd F, Ahmad A, Ankur S, Jyoti Y. Protective effect of *lagenaria siceraria* against doxorubicin induced cardiotoxicity in wistar rats. *Int. J Drug Dev & Res* 2012; 4(2): 298-305.
73. Montilla P, Túnez I, Muñoz M.C, López A. Hyperlipidemic Nephropathy Induced by Adriamycin: Effect of Melatonin Administration, *Nephron* 1997; 76: 345–350 (DOI:10.1159/000190202).
74. Sakemi T, Ohtsuka N, Tomiyoshi Y, Morito F. Sex difference in progression of adriamycin-induced nephropathy in rats. *Am J Nephrol* 1996; 16: 540–547.
75. Lee VW, Harris DC, Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* 2011; 16: 30-38.
76. Rangan GK, Wang Y, Tay YC, · Harris DCH. Cytokine Gene Expression in Adriamycin Nephropathy: Effects of Antioxidant Nuclear Factor κ B Inhibitors in Established Disease *Nephron* 2000; 86: 482–490 (DOI:10.1159/000045838).
77. Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J. Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest* 1989; 61(6): 650–660.
78. Remuzzi G, Bertani T. Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int* 1990; 38(3): 384–394.
79. Aydin S. Three new players in energy regulation: Preptin, adropin and irisin Peptides 2014; 56: 94–110.
80. Horvath TL. Synaptic plasticity in energy balance regulation. *Obesity* 2006; 14: 228–233.
81. Febbraio MA, Pedersen BK. Contraction-induced myokine production and release: is skeletal muscle an endocrine organ? *Exerc Sport Sci Rev* 2005; 33: 114–119.

82. Duzova H: Skeletal muscle, myokines and health. *Med Sci* 2012; 1: 211-231.
83. Grimal P. The dictionary of classical mythology. Wiley-Blackwell 1996.
84. Villarroya F. Irisin, turning up the heat. *Cell Metab* 2012; 15: 277–278.
85. De Naeyer H, Ouwens DM, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P, Hart LM, Kaufman JM. Combined gene and protein expression of hormone-sensitive lipase and adiposetriglyceride lipase, mitochondrial content, and adipocyte size in subcutaneous and visceral adipose tissue of morbidly obese men. *Obes Facts* 2011; 4: 407–416.
86. Fain JN, Company JM, Booth FW, Laughlin MH, Padilla J, Jenkins NT. Exercise training does not increase muscle FNDC5 protein or mRNA expression in pigs. *Metabolism* 2013; 62: 1503–1511.
87. Jastroch M, Divakaruni AS, Mookerjee S, Treberg JR, Brand MD. Mitochondrial proton and electron leaks. *Essays Biochem* 2010; 47: 53–67.
88. Erickson HP. Irisin and FNDC5 in retrospect: an exercise hormone or a transmembrane receptor? *Adipocyte* 2013; 2: 289–293.
89. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene. *Nature* 2012; 488: 9–10.
90. Castillo-Quan JI. From white to brown fat through the PGC-1 α dependent myokine irisin: implications for diabetes and obesity. *Dis Model Mech* 2012; 5: 293–295.
91. Aydin S, Aydin S, Kuloglu T, Yilmaz M, Kalayci M, Sahin I. Alterations of irisin concentrations in saliva and serum of obese and normal-weight subjects, before and after 45 min of a Turkish bath or running. *Peptides* 2013; 50: 13–18.
92. Lee P, Linderman JD, Smith S, Brychta RJ, Wang J, Idelson C. Irisin and FGF21 are cold-induced endocrine activators of brown fat function in humans. *Cell Metab* 2014; 19: 302–309.
93. Brenmoehl J, Albrecht E, Komolka K, Schering L, Langhammer M, Hoeflich A. Irisin is elevated in skeletal muscle and serum of mice immediately after acute exercise. *Int J Biol Sci* 2014; 10: 338–349.

94. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Celik A, Yilmaz M. Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. *Peptides* 2013; 52C: 68-73.
95. Crujeiras AB, Pardo M, Arturo RR, Santiago NC, Zulet MA, Martínez JA. Longitudinal variation of circulating irisin after an energy restriction-induced weight loss and following weight regain in obese men and women. *Am J Hum Biol* 2014; 26: 198-207.
96. Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Elbelt U, Kobelt P, Klapp BF. Circulating levels of irisin in patients with anorexia nervosa and different stages of obesity—correlation with body mass index. *Peptides* 2013; 39: 125-130.
97. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE. FNDC5 and irisin in humans. I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism* 2012; 61: 1725-1738.
98. Lopez-Legarrea P, de la Iglesia R, Crujeiras AB, Pardo M, Casanueva FF, Zulet MA. Higher baseline irisin concentrations are associated with greater reductions in glycemia and insulinemia after weight loss in obese subjects. *Nutr Diabetes* 2014, (<http://dx.doi.org/10.1038/nutd.2014.7>).
99. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 769–778.
100. Choi YK, Kim MK, Bae KH, Seo HA, Jeong JY, Lee WK, et al. Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2013; 100: 96–101.
101. Duan H, Ma B, Ma X, Wang H, Ni Z, Wang B, et al. Anti-diabetic activity of recombinant irisin in STZ-induced insulin-deficient diabetic mice. *Int Journ of Biol Macromolecules* 2016; 84: 457–463.
102. Samy DM, Ismail CA, Nassra RA. Circulating irisin concentrations in rat models of thyroid dysfunction-effect of exercise. *Metabolism* 2015; 64: 804–813.
103. Ruchala M, Zybek A, Szczepanek-Parulska E. Serum irisin levels and thyroid function-Newly discovered association. *Peptides* 2014; 60: 51–55.

104. Lekawanvijit S, Kompa AR, Wang BH, Kelly DJ, Krum H. Cardiorenal syndrome: the emerging role of protein-bound uremic toxins. *Circ Res* 2012; 111: 1470–1483. (doi:10.1161/CIRCRESAHA.112.278457).
105. Zhang HJ, Zhang XF, Ma ZM, Pan LL, Chen Z, Han HW. Irisin is inversely associated with intrahepatic triglyceride contents in obese adults. *J Hepatol* 2013; 59: 557–562.
106. Park MJ, Kim DI, Choi JH, Heo YR, Park SH. New role of irisin in hepatocytes: The protective effect of hepatic steatosis in vitro. *Cellular Signalling* 2015; 27: 1831–1839 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2015.04.010>).
107. Kuloglu T, Aydin S, Eren MN, Yilmaz M, Sahin İ, Kalayci M, et al. Irisin: A potentially candidate marker for myocardial infarction. *Peptides* 2014; 55: 85–91.
108. Lu J, Xiang G, Liu M, Mei W, Xiang L, Dong J. Irisin protects against endothelial injury and ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-Null diabetic mice. *Atherosclerosis* 2015; 243: 438–448.
109. Jiang M, Wan F, Wang F, Wu Q. Irisin relaxes mouse mesenteric arteries through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2015 Dec 25; 468(4): 832–836.
110. Garcés MF, Peralta JJ, Ruiz-Linares CE, Lozano AR, Poveda NE, Torres-Sierra AL. Irisin levels during pregnancy and changes associated with the development of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 (<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2013-4127>).
111. Caglar M, Goksu M, Isenlik BS, Yavuzcan A, Yilmaz M, Ustun Y. İrisin in idiopathic fetal growth restriction. *J Endocrinol Invest* 2014 (<http://dx.doi.org/10.1007/s40618-014-0078-5>).
112. Aydın S, Ögetürk M, Kuloğlu T, Kalaycı M, Yılmaz M, Karabektaş H, et al. Karaciğerin ve Akciğerlerin Anatomisine, Embriyolojisine, Histolojisine, Formaldehite, Serbest Radikallere, Antioksidanlara, Karnozine ve İrisine Genel Bakış. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2013; 8(24): 101–146.
113. Okuda S, Oh Y, Tsuruda H, Onoyama K, Fujimi S, Fujishima M. Adriamycin-induced nephropathy as a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney International* 1986; 29: 502–510.

6. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimimi 1992-2003 yılları arasında Elazığ'da tamamladım. 2003-2010 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde tıp eğitimimi aldım. 2010-2011 yılları arasında Kahramanmaraş 112 Acil Ambulans Hizmetlerini biriminde doktor olarak çalıştım. 2012 yılından bu yana İç Hastalıkları Tıpta Uzmanlık Eğitimimi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda sürdürmekteyim. Orta düzeyde İngilizce bilmekteyim. Evliyim.

