

ORİJİNAL ARAŞTIRMA ORIGINAL RESEARCH

DOI: 10.5336/anesthe.2023-100662

Farklı Dozlarda Uygulanan Apelin-13'ün Analjezik Minimum Etkin Dozu ve Böbrek Dokusu Üzerine Etkisi: Deneysel Çalışma

The Effect of Different Doses Apelin-13 on Kidney Tissue and Minimum Effective Dose of Analgesic in Rats: Experimental Study

¹ Ali Doğan DURSUN^a, ² Çağrı ÖZDEMİR^b, ³ Ayşegül KÜÇÜK^c, ⁴ Şaban Cem SEZEN^d, ⁵ Mustafa ARSLAN^e

^aAtılım Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Ankara, Türkiye

^bAnkara Mamak Devlet Hastanesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Kliniği, Ankara, Türkiye

^cKütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji AD, Kütahya, Türkiye

^dKırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Kırıkkale, Türkiye

^eGazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, Ankara, Türkiye

ÖZET Amaç: Apelin ve APJ sinyal yolu; kalp, böbrek ve akciğer dâhil çeşitli dokularda eksprese edilmektedir. Bu yol kan basıncı, kardiyak kontraktile, kalp hızı, nosisepsiyon, apoptozis ve inflamasyon üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Mekanizması hâlen anlaşılamamasına rağmen Apelin-13'ün analjezik etkinliği gösterilmiştir. Gelecekte koruyucu ve tedavi edici bir ajan olarak kullanılabilecek olması insan sağlığına önemli katkılar sağlayacaktır. Bu sebeple ratlarda Apelin-13'ün minimum analjezik etkin dozunu ve böbrek üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntemler:** 30 adet Wistar Albino erkek rat, randomize olarak 5 gruba ayrıldı. Ratlar kontrol, Apelin-25, Apelin-50, Apelin-100 ve Apelin-200 grupları olarak isimlendirildi. Apelin-13 intraperitoneal olarak 25, 50, 100 ve 200 µg/kg uygulandı. Kontrol grubuna intraperitoneal olarak aynı hacimde salin uygulandı. Apelin uygulanmasından sonra 30. dk, 1. ve 2. saatlerde Hot Plate testi ile analjezik etkinlik değerlendirildi. 24 saat sonra histolojik ve biyokimyasal değerlendirmeler için tüm ratlardan kan ve doku örnekleri alındı. **Bulgular:** Hot Plate sonuçlarına bakıldığında 50 µg/kg ve üzeri Apelin-13'ün analjezik etkinlik gösterdiği tespit edildi. 25 µg/kg dozda analjezik etki görülmedi. 100 ve 200 µg/kg Apelin-13 uygulanan ratların böbrek dokusunda vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi, Bowman aralık dilatasyonu ve tübüler hücre dökülmesi anlamlı olarak artmış bulundu. 200 µg/kg Apelin-13 uygulanan ratlarda doku oksidatif stres belirteçleri daha yüksekti. **Sonuç:** Literatürde Apelin-13'ün farklı dozlarda analjezik etkileri ile ilgili çalışmalara rastlamadık. 200 µg/kg Apelin-13 uygulamasının böbrek dokusunu olumsuz etkilediğini bulduk. Apelin-13'ün minimum analjezik etkin dozunun intraperitoneal olarak uygulanan 50 µg/kg olduğunu tespit ettik.

ABSTRACT Objective: Apelin and APJ signaling pathway are expressed in various tissues including heart, kidney and lung. It has various effects on blood pressure, cardiac contractility, heart rate, nociception, apoptosis and inflammation. Although its mechanism is still not understood, the analgesic effectiveness of Apelin-13 has been demonstrated. The fact that it can be used as a preventive and therapeutic agent in the future will make significant contributions to human health. For this reason, we aimed to investigate the minimum analgesic effective dose of Apelin-13 and its effects on the kidney in rats. **Material and Methods:** 30 Wistar Albino male rats were randomly divided into 5 groups. Rats were named as Control, Apelin-25, Apelin-50, Apelin-100 and Apelin-200 groups. Apelin-13 was administered intraperitoneally at 25, 50, 100 and 200 µg/kg. The same volume of saline was administered intraperitoneally to the control group. Analgesic effectiveness was evaluated with the Hot Plate test at the 30th minute, 1st and 2nd hours after Apelin application. After 24 hours, blood and tissue samples were taken from all rats for histological and biochemical evaluations. **Results:** According to the Hot Plate results, it was determined that Apelin-13 at 50 µg/kg and above showed analgesic activity. No analgesic effect was observed at the dose of 25 µg/kg. Vascular vacuolization and hypertrophy, Bowman space dilation and tubular cell shedding were found to be significantly increased in the kidney tissue of rats administered 100 and 200 µg/kg Apelin-13. Tissue oxidative stress markers were higher in rats administered 200 µg/kg Apelin-13. **Conclusion:** We did not find any studies in the literature regarding the analgesic effects of Apelin-13 at different doses. We found that the application of 200 µg/kg Apelin-13 negatively affected the kidney tissue. We found that the minimum analgesic effective dose of Apelin-13 is 50 µg/kg administered intraperitoneally.

Anahtar Kelimeler: Apelin-13; Hot Plate; böbrek; rat; analjezi

Keywords: Apelin-13; Hot Plate; kidney; rat; analgesia

Correspondence: Mustafa ARSLAN

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD, Ankara, Türkiye

E-mail: mustafaarslan@gazi.edu.tr

Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Anesthesiology Reanimation.

Received: 21 Dec 2023

Received in revised form: 29 Feb 2024

Accepted: 07 Mar 2024

Available online: 14 Mar 2024

2146-894X / Copyright © 2024 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Ağrı, mevcut veya potansiyel doku hasarı nedeniyle hoş olmayan, duyuşsal ve emosyonel olarak kişiselleştirilmiş bir deneyimdir.¹ Süresi, şiddeti ve etiolojisine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Nosiseptif uyaran bireyin tolere edebildiği fizyolojik eşğin üzerine çıktığında ağrı periferik veya santral etkili antinoseptif ilaçlarla tedavi edilmelidir.

Apelin, G proteinine bağlı bir reseptör olan apelin reseptörünün endojen ligandıdır.² APJ ilk olarak O'Dowd ve ark. tarafından tanımlandı.³ Reseptörün sekansı anjiyotensin II Tip 1 reseptörüne oldukça benzerdir. Ancak anjiyotensin II APJ'ye bağlanmaz. Apelin, ilk kez sıgır mide ekstraktlarından izole edilen endojen bir peptiddir. Prepropeptini preproapelin olarak bilinir ve enzimatik olarak hidrolize edildiğinde Apelin-36, Apelin-19, Apelin-17, Apelin-13 ve Apelin-12 dâhil olmak üzere çeşitli biyoaktif parçalar üretilir.⁴ Apelin-13 insan plazmasındaki ana apelin izoformudur.⁵

Apelin/APJ genleri insanların ve kemirgenlerin çeşitli organlarında eksprese edilmiş olup en yüksek ekspresyon akciğer, kalp, yağ dokusu, beyin, gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrek ve kardiyovasküler sistemdedir.⁶ Apelin ve APJ, inen ağrı modülasyon yollarının anatomik bölgeleri olan amigdala, hipotalamus, dorsal rafe çekirdeği ve omurilikte tespit edilmiştir.⁷ Fare viseral ağrı modelinde, antinoseptif bir etki oluşturması bu bilgiyi destekler.⁸ Periferik Apelin-13'ün ağrıdaki rolü henüz netlike kazanmamıştır.

Bu çalışma, intraperitoneal (İP) olarak uygulanan Apelin-13'ün Hot Plate testinin neden olduğu ağrı üzerindeki etkisini değerlendirmek için tasarlanmıştır. Analjezi oluşturan doz ve bu dozda renal doku üzerine etkisi araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hayvanlar ve Etik Kurul İzni: Bu araştırma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulunun etik onayı alınarak (tarih: 22 Nisan 2019, no: 66332047-604.01.02) gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın tüm aşamaları Guide for the Care and Use of Laboratory Animals standartlarına ve 1986 tarihli Birleşik Krallık Hayvanlar (Bilimsel Prosedürler) Yasasına, ARRIVE yönergeleri ve hayvan testlerine ilişkin AB Direktifine uygun olarak gerçekleştirildi. Gazi Üni-

versitesi Deneysel Araştırma Merkezinden temin edilen 250-350 g ağırlığında 30 adet erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar, 12/12 aydınlık-karanlık döngüsünde tutulan, sıcaklık kontrollü (21 ± 1 °C) ve nem kontrollü (%45-55) bir odada tutuldu. Hayvanlar standart pelet ile beslendi ve su ad libitum verildi. Her birinde 6 rat bulunan 5 grup oluşturuldu; Kontrol (K), Grup 25, Grup 50, Grup 100 ve Grup 200. Tüm ratlara çalışmanın başlangıcında Hot Plate testi yapılarak giriş değerleri kaydedildi.

Apelin-13 uygulanması: Grup 25, 50, 100 ve 200'de bulunan ratlara İP olarak Apelin-13 verildi. Gruplara isimleriyle uygun şekilde 1 cc distile su içerisinde çözünmüş hâlde sırayla Grup 25'e 25 mcg/kg, Grup 50'ye 50 mcg/kg, Grup 100'e 100 mcg/kg, Grup 200'e 200 mcg/kg Apelin-13 uygulandı. Kontrol grubuna 1 cc distile su İP olarak enjekte edildi.

Hot Plate testi: Apelin-13'ün akut termal uyarana karşı potansiyel antinoseptif etkilerini ölçmek için yapılmıştır. Isı uyarısına yanıt vermenin gecikmesi, ratın arka ayaklarından birini yalaması için geçen süre ile ölçüldü. Bu testte ratlar genellikle ayaklarını, genellikle ilk olarak ön ayaklarını yalarlar. Puanlama için yanıt verme gecikmesi, ratın yerleştirilmesi ile arka ayaklarından birini ilk kez yalaması arasında geçen süre olarak ölçüldü. Ön ayak yalama yaygın bir bakım tepkisidir ve rahatsızlıkla hiçbir ilgisi olmayabilir. Bu nedenle arka ayak yalama rahatsızlığın daha güvenilir bir ölçüsü olarak kabul edildi.

Apelin-13 enjeksiyonundan 30 dk sonra Hot Plate 52,5 °C'ye ayarlandı. Tek bir rat yerleştirildi ve kronometre başlatıldı. Rat bir tepki gösterene kadar gözlemlendi. Rat Hot Plate'ten çıkarıldı ve yanıt verme süresi kaydedildi. Aynı prosedür 1. saat ve 2. saatte tekrarlandı.⁹ Çalışmanın bitiminde tüm ratlar İP olarak uygulanan 50 mg/kg ketamin (500 mg/10 mL Ketalar®, Parke-Davis, Pfizer, Inc) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazyne® 2%, Ege Vet, Ltd.) anestezisi altında intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Alınan böbrek dokuları üzerinde histopatolojik ve biyokimyasal analizler yapıldı.

Histopatolojik Analiz: Histopatolojik inceleme, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD'de yapıldı. Rutin tespit işlemleri yapılan böbrek parafin bloklara alınıp 5 µ'luk kesitleri yapıl-

dıktan sonra hematoksilin eozin ile boyanıp ışık mikroskopu ile incelendi. Tüm örnekler deney gruplarından habersiz olan aynı histolog tarafından değerlendirildi. Böbrek hasarı; kesitlerde saptanan, interstisyel fibrozis, fokal glomerüler nekroz, Bowman kapsül dilatasyonu, tübüler epitelyal dejenerasyon, tübüler epitelyal nekroz, tübüler dilatasyon, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon ve konjesyona göre aşağıdaki skalaya uygun olarak semikantitatif olarak skorlandı: (-) değişiklik yok; (+) fokal, hafif değişiklikler, (++) multifokal belirgin değişiklikler ve (+++) yaygın belirgin değişiklikler açısından değerlendirildi.¹⁰

Biyokimyasal Değerlendirmeler: Doku homojenizasyonunu takiben alınan süpernatandan total oksidan status (TOS) ve total antioksidan status (TAS) değerleri tam otomatik spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Ölçümde Rel Assay Diagnostics kitleri (Rel Assay Diagnostic®, Türkiye) kullanıldı. Kitlerde belirtilen formüller kullanılarak hesaplanan TAS ve TOS değerleri sırasıyla mmol troloks Eq/L ve $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eş değeri/L olarak ifade edildi.

Oksidatif Stres İndeks (OSİ), TOS seviyesinin TAS seviyesine oranıdır. Spesifik olarak, OSİ [Arbitrary Unit (AU)=TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eş değeri/L)/TAS (mmol troloks eş değeri/L)*100] olarak ifade edildi. Sonuçlar AU olarak ifade edildi.¹¹

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için SPSS 20 (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) yazılımı kullanıldı. Tüm değişkenler ortalama±standart hata olarak sunuldu. Gruplar arasında farklılığı araştırmak için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Farklılık olması durumunda Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hot Plate Test: Ratların nosiseptif yanıtları istatistiksel açıdan değerlendirildi ve ortalama±standart hata olarak sunuldu. Grupların başlangıç Hot Plate değerleri birbirleriyle benzerdi. Apelin-13 uygulamasından 30 dk sonra yapılan Hot Plate testinde Grup 50, 100 ve 200'deki ratların nosiseptif yanıtları Kontrol ve Grup 25'e göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalmıştı ($p<0,05$). 1. saat ve 2. saatte yapılan Hot Plate testinde de Grup 50, 100 ve 200'ün Kontrol ve Grup 25'e göre nosiseptif yanıtları azalmıştı ($p<0,05$) Grup 25'te bulunan ratların yanıtları Kontrol grubu ile benzerdi. Grup 50, 100 ve 200 arasında 30. dk, 1. saat ve 2. saat sonuçları arasında anlamlı farklılık görülmüdü (Tablo 1).

Renal Histopatoloji: Renal dokuda glomerüler vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi, tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz, Bowman space dilatasyon, tübüler hyalin silindirler, lenfosit infiltrasyonu, tübüler hücre dökülmesi incelendi (ortalama±standart hata). Histopatolojik değerlendirmede gruplar arasında glomerüler vakuolizasyon, tübüler dilatasyon, tübüler hücre dejenerasyonu, tübüler hyalin silindirler, lenfosit infiltrasyonu açısından gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu (Tablo 2, Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5). Grup 100 ve 200'de Kontrol, Grup 25 ve Grup 50 ye göre vasküler vakuolizasyon ve hipertrofinin arttığı, Bowman boşluğunda dilatasyonun büyüdüğü ve tübüler hücrelerde dökülmeler olduğu görüldü. Bu görülen farklılıklar istatistiksel değerlendirmede anlamlı bulundu ($p<0,05$) (Tablo 2, Şekil 1, Şekil 2, Şekil 3, Şekil 4, Şekil 5).

Biyokimyasal Parametreler: Böbrekteki biyokimyasal belirteçlerin düzeyleri ortalama±standart

TABLO 1: Ratlarda Hot Plate verileri (ortalama±standart hata).

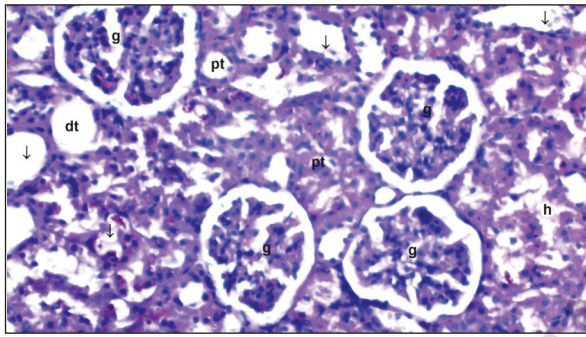
	Grup K (n=6)	Grup 25 (n=6)	Grup 50 (n=6)	Grup 100 (n=6)	Grup 200 (n=6)
Kontrol	8,83±1,64	8,25±1,40	10,62±1,69	7,83±0,57	10,81±1,72
30. dk	9,37±0,76	17,47±3,02	24,08±2,17*	26,10±4,50*	28,11±3,81*
1. saat	8,27±0,91	17,53±2,43	21,42±3,84*	24,34±2,85*	21,47±3,85*
2. saat	7,95±0,60	13,73±1,95	19,40±1,64*	18,05±4,73*	19,03±3,55*

P** Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi $p<0,05$; * $p<0,05$: Grup K ile karşılaştırıldığında.

TABLO 2: Böbrek dokusu histopatolojik bulguları (ortalama±standart hata).

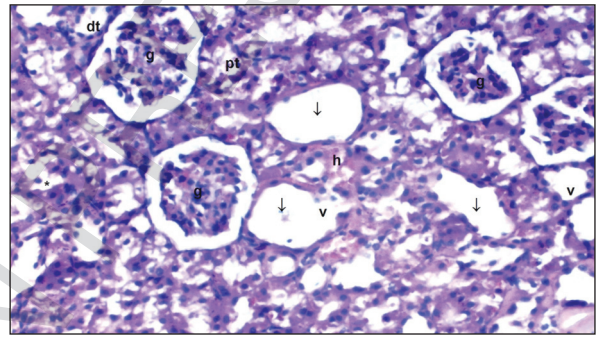
	Grup K (n=6)	Grup 25 (n=6)	Grup 50 (n=6)	Grup 100 (n=6)	Grup 200 (n=6)	p**
Glomerüler vakuolizasyon	0,33±0,21	0,50±0,22	0,50±0,22	0,50±0,22	0,67±0,21	0,881
Tübüler dilatasyon	0,50±0,22	0,50±0,22	0,50±0,22	0,50±0,22	0,67±0,21	0,977
Vasküler vakuolizasyon ve hipertrofi	0,17±0,17 ^s	0,33±0,21 ^s	0,33±0,21 ^s	0,50±0,22	1,17±0,31	0,034
Tübüler hücre dejenerasyonu ve nekroz	0,17±0,17	0,33±0,21	0,33±0,21	0,50±0,22	0,83±0,17	0,195
Bowman space dilatasyon	0,17±0,17 ^s	0,33±0,21 ^s	0,33±0,21 ^s	0,67±0,21	1,17±0,17	0,013
Tübüler hyalin silindirler	0,33±0,21	0,50±0,22	0,67±0,21	0,67±0,21	0,67±0,21	0,745
Lenfosit infiltrasyonu	0,33±0,21	0,33±0,21	0,50±0,22	0,50±0,22	0,67±0,21	0,795
Tübüler hücre dökülmesi	0,17±0,17 ^s	0,33±0,21 ^s	0,33±0,21 ^s	0,83±0,17	1,17±0,17	0,013

p**: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p<0,05; ^sp<0,05: Grup 200 ile karşılaştırıldığında.



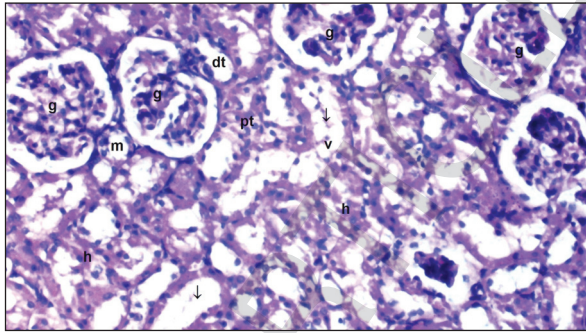
ŞEKİL 1: Kontrol grubu.

g: Glomerül; dt: Distal tübül; pt: Proksimal tübül; ↓: Dilate tübüller; h: Hyalin silindirler.



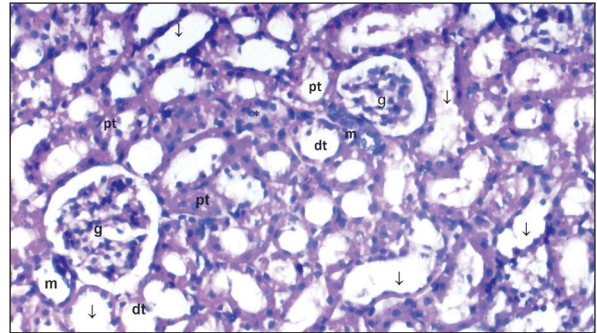
ŞEKİL 2: Apelin 25 grubu.

g: Glomerül; dt: Distal tübül; pt: Proksimal tübül; ↓: Dilate tübüller; v: Vakuolizasyon; h: Hyalin silindirler.



ŞEKİL 3: Apelin 50 grubu

g: Glomerül; dt: Distal tübül; pt: Proksimal tübül; ↓: Dilate tübüller; v: Vakuolizasyon; m: Makula densa; h: Hyalin silindirler.



ŞEKİL 4: Apelin 100 grubu.

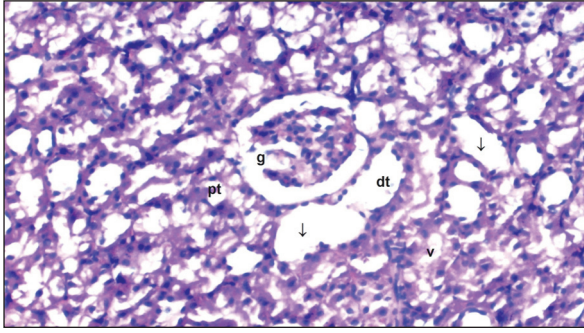
g: Glomerül; dt: Distal tübül; pt: Proksimal tübül; ↓: Dilate tübüller; m: Makula densa.

hata olarak sunuldu (Tablo 3). Grup 200’de bulunan ratların renal oksidatif stres düzeyini gösteren TOS düzeyi diğer gruplara kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Diğer 4 grupta TOS düzeyleri benzerdi ($p>0,05$). Renal dokuda antioksidan durumu gösteren TAS düzeyi, TOS ile uyumlu olup, Grup 200’de antioksidan düzeyin anlamlı olarak azaldığını gösterdi ($p<0,05$). Diğer dört grupta TAS düzeyleri

benzerdi ($p>0,05$). Grup 200’deki ratlarda OSI anlamlı düzeyde yüksekti ($p<0,05$).

TARTIŞMA

Apelin, G proteinine bağlı APJ reseptörlerine bağlanan endojen bir ligandır.¹² Apelin-13, apelin ailesinin insanlarda en yaygın biyoaktif alt tipidir.¹³ Hipotalamus, hipokampus, striatum, hipofiz bezi,



ŞEKİL 5: Apelin 200 grubu.

g: Glomerül; dt: Distal tübül; pt: Proksimal tübül; ↓: Dilate tübüller; v: Vakuolizasyon.

substantia nigra, merkezi gri madde, dorsal raphe çekirdeği, amigdala, beyincik ve omurilik dâhil olmak üzere santral sinir sisteminde yüksek oranda eksprese edilir.^{14,15} Yakın zamanlı çalışmalar Apelin-13'ün analjezik potansiyeline odaklanmıştır.¹⁶⁻¹⁹ Fakat analjezik potansiyeli hakkında henüz bir kanıya varılamamıştır. Bu sebeple, deneysel modelde Apelin-13'ün etkin analjezik etkinliğini, dozunu ve bu dozda böbrek dokusu üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Ana bulgumuz, Hot Plate testinde 30 dk önce enjekte edilen 50 µg/kg üzeri İP Apelin-13'ün anlamlı bir antinoseptif etki oluşturmasıydı. Beklentilerimizin aksine, doz artırıldığında analjezik etkinlikte doza paralel artış olmadı.

Diğer çalışmalarda da benzer dozlarda analjezik etkinlik rapor edilmiştir. Turtay ve ark İP 100 µg/kg Apelin-13'ün ratlarda Hot Plate testinde analjezik etki gösterdiğini bildirmiştir.¹⁸ Apelinin analjezik potansiyeli farklı uygulama yöntemleriyle de araştırılmıştır. İntraserebroventriküler 0,3-3 µg/fare veya intratekal (İT) 0,3-3 nmol/fare uygulanması, Tail Flick testinde belirgin bir antinosepsiyonla sonuçlandı.^{20,21} Bu bilgilere rağmen apelinin hangi yolak-

lar üzerinden bu etkiyi oluşturduğu netlike kazanmamıştır. Kanıtlar APJ ile opioid reseptörleri arasında karşılıklı iletişim olduğunu göstermektedir. Apelin-13'ün antinoseptif aktivitesine µ-opioid reseptörlerinin aracılık ettiği ileri sürülmüştür; Tail Flick testinde ve viseral ağrı modelinde morfinin analjezik etkisini belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir.⁸⁻²⁰ Diğer bir çalışmada, morfin bağımlı farelerin lateral hipotalamusunda apelin mRNA ekspresyonu azalmıştır.²² Serotonerjik sistem apelin sistemiyle ilişkilendirilen diğer ağrı yolağıdır. Apelin-13'ün Hot Plate ve Tail Flick testlerinde ortaya çıkan analjezik etkinliğinin ondansetron ile sonlanması bunun önemli bir kanıtıdır.¹⁸ Diğer muhtemel mekanizmalar prefrontal korteksindeki *Aplnr* ve *Adcy2* gen ekspresyonunun up-regülasyonu ve Fos gen ekspresyonunun down-regülasyonudur.

Bu sonuçların aksine apelinin nouseptif etkisini gösteren çalışmalarda bildirilmiştir. Siyatik sinir de kronik daralma hasarı olan ratlarda Apelin-13 (İT, 10 µg/rat), nöropatik nouseptif yanıt üzerinde hiçbir etki göstermedi. Bununla birlikte, APJ antagonisti ML221 uygulanması hiperaljeziyi azalttı.¹⁹ Tonik inflamatuvar ağrı modelinde İT olarak uygulanan Apelin-13, formalin testi sırasında hiperaljeziyi indükledi, ancak Tail Flick testinde oluşan akut ağrıda antinoseptif etki oluşturdu.²¹ İlginç bir diğer sonuç kronik Apelin-13 uygulanan ratlarda toleransla gelişmesiydi.²³ Apelinin ağrı düzenlemesi üzerindeki bu tutarsız sonuçlarını açıklamak zordur. Ağrının farklı hayvan modeli, dozlar, hayvan türleri, uygulama yolları, enjeksiyon zamanı, apelin formları vb. nedeniyle olabilir.

Çalışmamızda elde edilen diğer bir önemli sonuç, 100 µg/kg ve üzeri Apelin-13'ün renal dokuda vasküler vakuolizasyon ve hipertrofiyi artırması,

TABLO 3: Rat böbrek dokusu TOS, TAS, OSİ düzeyleri (ortalama±standart hata).

	Grup K (n=6)	Grup 25 (n=6)	Grup 50 (n=6)	Grup 100 (n=6)	Grup 200 (n=6)	p**
TOS (µmol/L)	10,72±0,97	11,46±1,10	13,79±0,62	14,63±0,55	15,25±1,80*	0,033
TAS (mmol/L)	1,44±0,05	1,39±0,07	1,32±0,05	1,31±0,03	1,17±0,10*	0,046
OSİ	0,80±0,04	0,86±0,08	0,99±0,07	1,07±0,05	1,18±0,08*	0,004

p**: Kruskal-Wallis testi ile anlamlılık düzeyi p<0,05; *p<0,05: Grup K ile karşılaştırıldığında; TOS: Total oksidan status; TAS: Total antioksidan status; OSİ: Oksidatif Stres İndeks.

Bowman boşluğunda dilatasyonun büyümesi ve tübüler hücrelerde dökülmelere neden olmasıydı. Doz 200 µg/kg'a çıkıldığında hasar daha da arttı. Renal dokuda oksidatif stres belirteçlerine bakıldığında da 200 µg/kg da oksidatif stresin arttığı, antioksidan savunmanın azaldığı görülmüştür. Fakat ilginçtir ki görülen oksidatif stres artışı 100 µg/kg dozunda oksidatif stresi anlamlı olarak artırmadı. Bu sonuçlar Apelin-13'ün antioksidan özelliğinin vurgulandığı çalışmalarla çelişmektedir.^{24,25} 100 µg/kg dozunda oksidatif stres olmayıp histopatolojik hasarın görülmesi oksidatif stres dışında başka bir yolağın bu hasara neden olabileceğini düşündürmektedir. Apelin-13'ün renal dokuda etkisinin araştırıldığı çalışmalarda genellikle protektif etkinlik bildirilmiştir.²⁶⁻²⁹ Fakat nosisepsiyona benzer şekilde bu konuda da çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Diyabetik nefropatide (DN) serum ve böbrekte apelin konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir.³⁰ Bir diğer çalışmada, DN'li hastalarda ve farelerde glomerüllerde APLNR seviyesinin arttığı, apelinin farelerde glomerüler bazal membran kalınlaşmasını şiddetlendirdiği ve aşırı apelin/ APLNR'nin DN'de böbrek fonksiyon bozukluğuna katkıda bulunduğu gösterildi.³¹ Apelin tedavisiyle kötüleşen mikroalbuminüri ve histopatolojik hasar, apelin antagonisti uygulanmasıyla düzeldi.

Çalışmamızda bazı kısıtlamalar bulunmaktadır; Birincisi, çalışma süresince hemodinamik monitörizasyonu yapılmamıştır. İkincisi apelinin renal yet-

mezliğe spesifik α1-mikroglobulin, β2- mikroglobulin, sistatin-C gibi biyobelirteçleri nasıl etkilediği araştırılmamıştır.

SONUÇ

Sonuçlarımız 200 µg/kg Apelin-13'ün renal dokuda hasar oluşturduğunu ve 50 µg/kg Apelin-13 için minimum analjezik etkin doz olduğunu gösterdi. Bu sonuçların daha detaylı ve geniş serilerde yapılacak klinik ve deneysel çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Finansal Kaynak

Bu araştırma, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından (Proje no:01/2019-44) desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Ali Doğan Dursun; **Tasarım:** Mustafa Arslan; **Denetleme/Danışmanlık:** Çağrı Özdemir; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Çağrı Özdemir; **Analiz ve/veya Yorum:** Mustafa Arslan; **Kaynak Taraması:** Ali Doğan Dursun; **Makalenin Yazımı:** Ali Doğan Dursun; **Eleştirel İnceleme:** Ayşegül Küçük; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Çağrı Özdemir; **Malzemeler:** Şaban Cem Sezen.

KAYNAKLAR

1. Merskey H, Bogduk N. Classification of Chronic Pain. 2nd ed. Seattle: IASP Press; 1994.
2. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. Biochem Biophys Res Commun. 1998;251(2):471-6. PMID: 9792798.
3. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, Shi X, Petronis A, George SR, Nguyen T. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. Gene. 1993;136(1-2):355-60. PMID: 8294032.
4. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. J Biol Chem. 2000;275(28):21061-7. PMID: 10777510.
5. Zhen EY, Higgs RE, Gutierrez JA. Pyroglutamyl apelin-13 identified as the major apelin isoform in human plasma. Anal Biochem. 2013;442(1):1-9. PMID: 23872001.
6. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. J Neurochem. 2003;84(5):1162-72. PMID: 12603839.
7. Reaux A, De Mota N, Skultetyova I, Lenkei Z, El Messari S, Gallatz K, et al. Physiological role of a novel neuropeptide, apelin, and its receptor in the rat brain. J Neurochem. 2001;77(4):1085-96. PMID: 11359874.
8. Lv SY, Qin YJ, Wang NB, Yang YJ, Chen Q. Supraspinal antinociceptive effect of apelin-13 in a mouse visceral pain model. Peptides. 2012;37(1):165-70. PMID: 22732665.

9. Yavuz S, Ünal Y, Pamir Ö, Yilmazer D, Kurtipek Ö, Kavutçu M, et al. Synthesis and pharmacological evaluation of some novel thebaine derivatives: N-(tetrazol-1H-5-yl)-6,14-endoethenotetrahydrothebaine incorporating the 1,3,4-oxadiazole or the 1,3,4-thiadiazole moiety. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2013;346(6):455-62. PMID: 23649373.
10. Bostan H, Kalkan Y, Tomak Y, Tumkaya L, Altuner D, Yılmaz A, et al. Reversal of rocuronium-induced neuromuscular block with sugammadex and resulting histopathological effects in rat kidneys. *Ren Fail*. 2011;33(10):1019-24. PMID: 22013936.
11. Şengel N, Köksal Z, Dursun AD, Kurtipek Ö, Sezen ŞC, Arslan M, et al. Effects of dexmedetomidine administered through different routes on kidney tissue in rats with spinal cord ischaemia-reperfusion injury. *Drug Des Devel Ther*. 2022;16:2229-39. PMID: 35860522; PMCID: PMC9289575.
12. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem*. 2000;74(1):34-41. PMID: 10617103.
13. Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function. *Pharmacol Rev*. 2010;62(3):331-42. PMID: 20605969.
14. Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortes C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*. 2002;113(3):653-62. PMID: 12150785.
15. O'Carroll AM, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1492(1):72-80. PMID: 11004481.
16. Canpolat S, Ozcan M, Saral S, Kalkan OF, Ayar A. Effects of apelin-13 in mice model of experimental pain and peripheral nociceptive signaling in rat sensory neurons. *J Recept Signal Transduct Res*. 2016;36(3):243-7. PMID: 26460872.
17. Lv S, Zhang X, Feng Y, Zhou Y, Cui B, Yang Y, et al. Intravenous administration of pyroglutamy apelin-13 alleviates murine inflammatory pain via the kappa opioid receptor. *Front Neurosci*. 2020;14:929. PMID: 33013308; PMCID: PMC7506098.
18. Turtay MG, Karabas M, Parlakpınar H, Colak C, Sagir M. The analgesic effect of apelin-13 and its mechanism of action within the nitric oxide and serotonin pathways. *Hippokratia*. 2015;19(4):319-23. PMID: 27688696; PMCID: PMC5033142.
19. Xiong Q, He W, Wang H, Zhou J, Zhang Y, He J, et al. Effect of the spinal apelin-APJ system on the pathogenesis of chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats. *Mol Med Rep*. 2017;16(2):1223-31. PMID: 28627589; PMCID: PMC5562064.
20. Xu N, Wang H, Fan L, Chen Q. Supraspinal administration of apelin-13 induces antinociception via the opioid receptor in mice. *Peptides*. 2009;30(6):1153-7. PMID: 19463749.
21. Lv S, Yang YJ, Hong S, Wang N, Qin Y, Li W, Chen Q. Intrathecal apelin-13 produced different actions in formalin test and tail-flick test in mice. *Protein Pept Lett*. 2013;20(8):926-31. PMID: 23360367.
22. Befort K, Filliol D, Darcq E, Ghaté A, Matifas A, Lardinois A, et al. Gene expression is altered in the lateral hypothalamus upon activation of the mu opioid receptor. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;1129:175-84. PMID: 18591478.
23. Abbasloo E, Najafipour H, Esmaeili-Mahani S. Induction of antinociceptive tolerance to the chronic intrathecal administration of apelin-13 in rat. *Neuropeptides*. 2016;60:7-12. PMID: 27542441.
24. Niknazar S, Abbaszadeh HA, Peyvandi H, Rezaei O, Forooghiraad H, Khosh-sirat S, et al. Protective effect of [Pyr1]-apelin-13 on oxidative stress-induced apoptosis in hair cell-like cells derived from bone marrow mesenchymal stem cells. *Eur J Pharmacol*. 2019;853:25-32. PMID: 30876980.
25. Mohseni F, Garmabi B, Khaksari M. Apelin-13 attenuates spatial memory impairment by anti-oxidative, anti-apoptosis, and anti-inflammatory mechanism against ethanol neurotoxicity in the neonatal rat hippocampus. *Neuropeptides*. 2021;87:102130. PMID: 33640615.
26. Liu Q, Duan SB, Wang L, Luo XQ, Wang HS, Deng YH, et al. Apelin-13 alleviates contrast-induced acute kidney injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress. *Ren Fail*. 2023;45(1):2179852. PMID: 37723076; PMCID: PMC9970253.
27. Gao Z, Zhong X, Tan YX, Liu D. Apelin 13 alleviates diabetic nephropathy by enhancing nitric oxide production and suppressing kidney tissue fibrosis. *Int J Mol Med*. 2021;48(3):175. PMID: 34278446; PMCID: PMC8354312.
28. Hamza RZ, Diab AAA, Zahra MH, Asalah AK, Attia MS, Moursi SM. Ameliorative effect of apelin-13 against renal complications in L-NAME-induced preeclampsia in rats. *PeerJ*. 2021;9:e11110. PMID: 33850656; PMCID: PMC8019317.
29. Day RT, Cavaglieri RC, Feliers D. Apelin retards the progression of diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013;304(6):F788-800. PMID: 23303408; PMCID: PMC3602700.
30. Zhang BH, Wang W, Wang H, Yin J, Zeng XJ. Promoting effects of the adipokine, apelin, on diabetic nephropathy. *PLoS One*. 2013;8(4):e60457. PMID: 23577111; PMCID: PMC3618333.
31. Guo C, Liu Y, Zhao W, Wei S, Zhang X, Wang W, et al. Apelin promotes diabetic nephropathy by inducing podocyte dysfunction via inhibiting proteasome activities. *J Cell Mol Med*. 2015;19(9):2273-85. PMID: 26103809; PMCID: PMC4568931.