



**TEK TARAFLI ÜRETER TIKANIKLIĞI
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA APOSİNİN
UYGULAMASININ BÖBREK OKSİDATİF
HASARINA ETKİLERİ**

Zeynep Rumeysa YOLDAŞ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Alaadin POLAT**

Yüksek Lisans Tezi – 2017

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEK TARAFLI ÜRETER TIKANIKLIĞI OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
APOSİNİN UYGULAMASININ BÖBREK OKSİDATİF HASARINA ETKİLERİ**

Zeynep Rumeysa YOLDAŞ

Fizyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Alaadin POLAT**

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından 2012/ 125 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**MALATYA
2017**

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan; **Zeynep Rumeysa YOLDAŞ**'ın “ **Tek Taraflı Üreter Tıkanıklığı Oluşturulmuş Sıçanlarda Aposinin Uygulamasının Böbrek Oksidatif Hasarına Etkileri**” konulu bu çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22/12/2017


Prof. Dr. Lütfi ÇAKAR
Sanko Üniversitesi
Jüri Başkanı


Prof. Dr. Alaadin POLAT
İnönü Üniversitesi
Tez Danışmanı
Üye


Prof. Dr. Sedat YILDIZ
İnönü Üniversitesi
Üye

ONAY

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2017 tarih ve 2017/..... sayılı Kararıyla da uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Böbreklerin Gelişimi	2
2.2. Böbreklerin Yapısı	2
2.3. Böbreklerin Fizyolojik Anatomisi	3
2.3.1. Böbrek Dokusunda Kan Dolaşımı	6
2.4. Böbreklerin Fizyolojisi	7
2.5. Pelvis Renalis ve Üreter Fizyolojisi	7
2.5.1. Üriner Tıkanıklık ve Patofizyolojisi	9
2.5.1.1. Alt Üriner Sistem Tıkanıklıkları	12
2.5.1.2. Üst Üriner Sistem Tıkanıklıkları	14
2.5.2. Üriner Tıkanıklıkta Tanı Yöntemleri	16
2.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	17
2.6.1. Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri	17
2.6.2. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşturan Mekanizmalar. . .	17
2.6.3. Üriner Tıkanıklık ve Oksidatif Stres	18
2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri	18
2.7.1. Endojen Antioksidanlar	18
2.7.2. Ekzojen Antioksidanlar	18
2.7.3. Aposinin ve Antioksidan Etkisi	19
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1. Etik Kurul Onayı	20
3.2. Deney Hayvanları	20
3.3. Tek Taraflı Üreter Tıkanıklığı Cerrahisi (TÜT)	20

3.4.	Deney Grupları	22
3.5.	Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanma Aşaması	22
3.6.	Biyokimyasal Ölçümler	23
3.6.1.	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	23
3.6.2.	Katalaz Enzim Aktivitesi Ölçümü	23
3.6.3.	Glutasyon Peroksidaz Ölçümü	24
3.6.4.	Glutasyon Ölçümü	24
3.6.5.	Malondialdehit Ölçümü	24
3.6.6.	Protein Ölçümü	25
3.6.7.	BUN ve Kreatinin Ölçümü	25
3.7.	İstatistiksel Analizler	25
4.	BULGULAR	26
4.1.	Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi	29
4.2.	Katalaz Enzim Aktivitesi	30
4.3.	Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi	31
4.4.	Glutasyon Enzim Miktarı	32
4.5.	Malondialdehit Enzim Miktarı	33
4.6.	BUN Değerleri	34
4.7.	Kreatinin Değerleri	35
5.	TARTIŞMA	36
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	41
	KAYNAKLAR	42
	EKLER	51
	EK.1. ÖZGEÇMİŞ	51
	EK.2. ETİK KURUL ONAYI	52

TEŐEKKÜR

2012 - 125 numaralı yüksek lisans tez projeme maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tezimin hazırlanması sırasında bilimsel desteklerini esirgemeyen, bilgisi ve anlayıőıyla her zaman yanımda olan, çok değerli danıőman hocam Prof. Dr. Alaadin POLAT' a,

Yetiőmemde emeği geçen Fizyoloji Anabilim Dalı hocalarıma, tezimin yazımı sırasında yardımlarını esirgemeyen Ayőe Nur SARI' ya,

Her zaman, her koőulda yanımda olan sevgili eőime, kıymetli zamanını çaldığım oğlum Mert Ali'ye, hayatım boyunca maddi ve manevi destekleri ile yanımda olan aileme sonsuz sevgimi ve teőekkürlerimi sunarım.

Zeynep Rumeysa YOLDAŞ

ÖZET

Tek Taraflı Üreter Tıkanıklığı Oluşturulmuş Sıçanlarda Aposinin Uygulamasının Böbrek Oksidatif Hasarına Etkileri

Amaç: Tek taraflı üreteral tıkanıklığı (TÜT) böbrek hasarı oluşturmak için iyi bilinen bir deneysel modeldir. Sıçanlarda TÜT ile indüklenen böbrek dokusu hasarına NADPH oksidaz inhibitörü aposininin (Apo) koruyucu etkisini araştırdık.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada, toplam 37 sıçan 4 gruba ayrıldı: Sham grubu (n= 9); TÜT grubu (n=10); TÜT cerrahisinden sonra 14 gün boyunca Apo 25 mg/kg i.p. verilen TÜT+Apo grubu (n=10); bir önceki grupta 14 gün boyunca verilen Aposinin ile aynı hacimde çözücü i.p. verilen TÜT+Çöz grubu (n=8). Tüm gruplar ameliyattan sonraki 15. günde öldürüldü. Böbrek dokusu MDA ve GSH düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri ölçüldü. Ek olarak, kanda BUN ve Cre de ölçüldü.

Bulgular: TÜT grubunda karşı taraf böbrek sağlam olduğu için serum Cre ve BUN düzeyinde belirgin değişiklik olmadı. Ancak böbrek dokusunda MDA artışı ile birlikte antioksidan etkinliği olan SOD, CAT ve GPx enzimlerine ilaveten GSH miktarları azaldı. TÜT+Apo grubunda, SOR üretimini arttıran NADPH oksidaz enziminin aposinin tarafından inhibe edilmesiyle MDA azaldı, bununla birlikte SOD ve GPx enzim aktiviteleri arttı.

Sonuç: Apo. TÜT ile ortaya çıkan böbrek dokusundaki oksidatif stresi azaltmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Aposinin, oksidatif stres, üreter tıkanıklık.

ABSTRACT

Effects of Apocynin on Kidney Oxidative Injury in rats with Unilateral Ureteral Obstruction

Aim: Unilateral ureteral obstruction (UUO) is a well-established experimental model of renal injury. We investigated the protective effect of the NADPH oxidase inhibitor apocynin (Apo) on renal damage induced by UUO in rats.

Material and Method: A total of 37 rats were assigned into four groups as follows: sham group (n=9); UUO group (n=10); UUO+Apo group (n=10), 25 mg/kg Apo was given intraperitoneal (i.p.) for 14 days; UUO+Solvent group (n=8), solvent was given i.p. same volume with Apo for 14 days after surgery. All groups were sacrificed on the 15th day after surgery. Tissue levels of MDA and GSH, and enzyme activities of SOD, CAT and GPx were measured. Additionally BUN and Cre were measured in blood samples.

Results: There was no significant change in Cre and BUN levels because the contralateral kidney was intact in UUO group. In spite of the increase of MDA in kidney tissue; the antioxidant activities of SOD, CAT and GPx enzymes, the amount of GSH decreased in UUO group. By inhibiting NADPH oxidase enzyme, which increases SOR production, following the use of Apo, MDA decreased, SOD and GPx enzyme activities were increased in UUO+Apo group.

Conclusions: Apo reduces oxidative stress in kidney tissue due to UUO.

Key Words: Apocynin, oxidative stress, ureteral obstruction.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Apo	: Aposinin
BPH	: İyi huylu prostat büyümesi
BUN	: Kan üre azotu
CAT	: Katalaz
Cre	: Kreatinin
COX-2	: Siklooksijenaz-2
Çöz	: Çözücü
EET	: Epoksieikosatrienoik asit
GFR	: Glomerüler filtrasyon hızı
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
GPx	: Glutatyon peroksidaz
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
i.p.	: İntraperitoneal
İVU	: İntravenöz ürografi
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamidadenindinükleotid fosfat
NBT	: Nitrobluetetrazolium
NH₃	: Amonyak
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
O₂	: Oksijen molekülü
OH⁻	: Hidroksit iyonu
p47phox	: Nötrofil sitozolik faktör 1
SOD	: Süperoksitdismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
TNF-α	: Tümör nekroz edici faktör alfa
TÜT	: Tek taraflı üreter tıkanıklığı
VUR	: Vezikoureteral reflü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa No
Şekil 2.1.	Böbreklerin embriyolojik gelişimi	2
Şekil 2.2.	Böbreklerin diğer organlarla olan komşuluğu	3
Şekil 2.3.	Jukstaglomerüler aparat	4
Şekil 2.4.	Renin anjiyotensin mekanizması	5
Şekil 2.5.	Nefronun yapısı	6
Şekil 2.6.	Böbreğin yapısı	8
Şekil 2.7.	Hidronefrozun ve taşların sebep olduğu dilate kaliksler	12
Şekil 2.8.	Alt üriner tıkanmada patofizyolojik seyir	13
Şekil 2.9.	Hidronefroz	14
Şekil 2.10.	Hidronefroz seviyeleri	15
Şekil 2.11.	Üst üriner tıkanıklıklarda patofizyolojik seyir	15
Şekil 3.1.	Sol üreterin sabitlemesi	21
Şekil 3.2.	Deneklerde sol üreterin iki sütur arası kesilişi	21
Şekil 4.1.	Aynı sıçanda TÛT cerrahisi uygulanan ve uygulanmayan böbrek.	28
Şekil 4.2.	TÛT grubundaki karşılıklı böbrek dokuları	28
Şekil 4.3.	Gruplardaki SOD aktiviteleri.	29
Şekil 4.4.	Gruplardaki CAT aktiviteleri	30
Şekil 4.5.	Gruplardaki GPx aktiviteleri	31
Şekil 4.6.	Gruplardaki GSH miktarları	32
Şekil 4.7.	Gruplardaki MDA miktarları	33
Şekil 4.8.	Gruplardaki BUN miktarları	34
Şekil 4.9.	Gruplardaki Cre miktarları	35

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa No
Tablo 2.1.	Üriner tıkanmanın sınıflandırılması	11
Tablo 3.1.	Deney grupları	22
Tablo 4.1.	Gruplarda GPx ve BUN sonuçları	26
Tablo 4.2.	Gruplar arası GPx ve BUN karşılaştırmalarındaki p değerleri	26
Tablo 4.3.	Gruplarda SOD, CAT, GSH, MDA ve Cre sonuçları	27
Tablo 4.4.	Gruplar arası SOD, CAT, GSH, MDA ve Cre karşılaştırmalarındaki p değerleri	27



1. GİRİŞ

Üriner sistemin obstrüktif hastalıkları, tıkanıklığın şiddeti ve süresine bağlı olarak böbrek hasarlanmasıyla sonuçlanabilen önemli üriner sistem patolojileridir (1). Tam veya kısmi tıkanıklık şeklinde olabileceği gibi, akut veya kronik zeminde de karşımıza çıkabilir (2). Tıkanıklığın tedavisiz kalması durumunda ise tıkanıklığın şiddeti ve süresi ile bağlantılı olarak geri dönüşümsüz böbrek hasarı oluşabilmektedir (3). Tıkanıklığın böbrek üzerindeki etkisini azaltmak amacıyla birçok farmakolojik ajanın olumlu etkileri deneysel olarak gösterilmiştir.

Asetovanilin olarak da bilinen aposinin (Apo) doğal yolla metoksi ile yer değiştirmiş katekol meydana getiren, iyi bilinen bir NADPH oksidaz (NOX) inhibitörüdür. Aposinin ile yapılan çalışmalarda; aposininin in-vitro etkileri:

- Nötrofil aracılı oksidatif zarar,
- Polimorfonükleer granülosit kemotaksisinde azalma,
- Peroksinitrit inhibisyonudur.

İn vivo aposininin kinetiği hakkında çok fazla bilgi olmamakla birlikte aposininin ilginç metabolik yönleri Daly ve ark. tarafından tanımlanmıştır (4). Sıçanlara i.p. olarak 120 mg/kg aposinin uygulamasından 20 saat sonra, aposininin %80' inin idrardan değişmeden atıldığını göstermiştir. Aposininin yan etkileri bilinmemektedir. Farelerde oral uygulama sonrası toksisite oldukça düşük bulunmuştur (LD50: 9 g/kg) (5).

Bu çalışmanın amacı, tek taraflı üreter tıkanıklığı oluşturulmuş sıçanlarda, tıkanıklığa bağlı hasarlanmada aposininin koruyucu etkinliğinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbreklerin Gelişimi

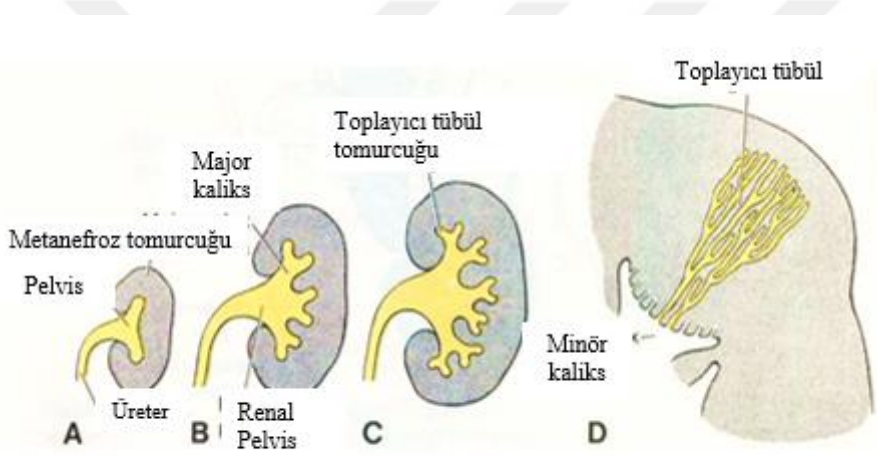
Böbrekler, birbirini izleyen, birinin izleri kaybolmadan diğeri gelişen 3 ayrı böbrek şeklinde oluşurlar (Şekil 2.1.).

1-Pronefroz; bazı ilkel balıkların sürekli böbreğidir.

2-Mezonefroz; bazı balık ve amfibilerin kalıcı böbreğidir.

3-Metanefroz; sürüngen, kuş ve memelilerin böbrek şeklindedir (6).

İnsanlarda bu sistemlerden birincisi rudimenter ve işlevsizdir; ikinci sistem intrauterin yaşamın, başlangıç aşamasında kısa süre işlev gösterebilir; üçüncü sistemden ise kalıcı böbrekler oluşur (7).



A: 6. Hafta

B: 6. Hafta sonu

C: 7. Hafta

D: Yenidoğan

Şekil 2.1. Böbreklerin embriyolojik gelişimi (7).

2.2. Böbreklerin Yapısı

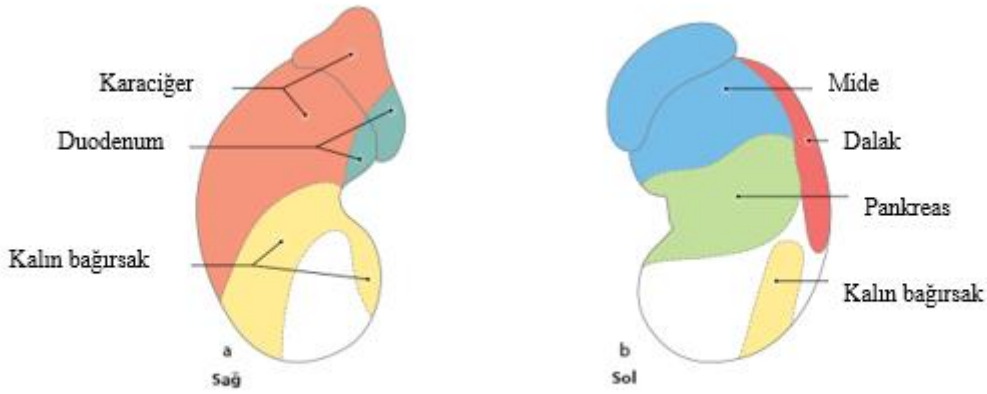
Kahverengi renkte görülür. Kıvamı biraz sertçedir. Uzunluğu 12 cm, eni 6 cm ve kalınlığı 4 cm olan bir yapıdır. Sağ ve sol olmak üzere her birinin ağırlığı 120-200 gramdır. Kadınlarda biraz daha ufaktır.

Bir böbreğin ön ve arka iki yüzü, iç yan ve dış yan iki kenarı, üst ve alt iki ucu vardır. Ön yüz, sağda karaciğer ve ince bağırsak kıvrımlarıyla, solda mide, dalak, pankreas ve ince bağırsak kıvrımlarıyla komşudur. Arka yüz, iki tarafta da, diyafram ve karın arka duvarıyla komşudur. İç yan kenarı, konkavdır. Ortasındaki çökük kısım hilus renalis adını alır. Böbreğe ait damarlar, sinirler ve üreter buradan girer ya da çıkar. Giren oluşumlar a.renalis ve sinirler,

çıkanlar ise v. renalis ve üreterdir. Dış yan kenarı, konvektir; sağda karaciğer, solda dalak ve kolon desendensle komşudur (Şekil 2.2.).

Üst uça böbrek üstü bezi yerleşiktir. Bu uç sağda karaciğer, solda dalak ile komşuluk yapar. Alt uç künttür. Psoas ve quadratus lumborum kaslarıyla komşuluk yapar. Böbrek arteri kısa ve kalındır; aorta abdominalisten ayrılır. V. renalis, v. cava inferiora açılır.

Böbreklerin yüzeyi fibröz ve ince bir zarla sarılmıştır. Buna böbrek kapsülü denir. Böbrek iki katmandan yapılmıştır. Dış katman korteks, iç katman medulla adını alır. Korteks, böbreğin kapsülle komşu dış katmanıdır. Böbrek cisimcikleri bu katmanda bulunur. Medulla 12-18 adet piramit ya da koni şeklinde birimlerden yapılmıştır. Medulladan kortekse doğru ışın tarzında uzantılar sokulur. Bunlara medulla uzantıları denir (8).



Şekil 2.2. Böbreklerin diğer organlarla olan komşuluğu (9)

2.3. Böbreklerin Fizyolojik Anatomisi

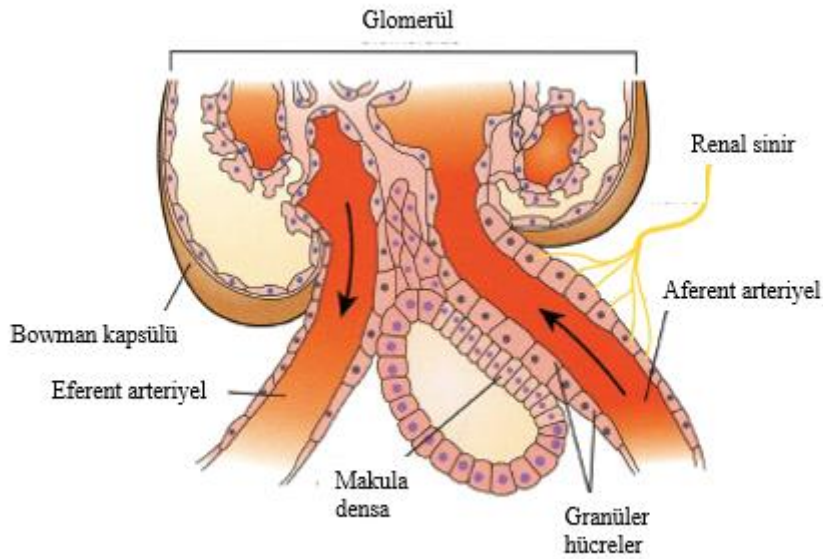
Böbreğin idrar oluşturma fonksiyonu her biri ayrı bir ünite olan nefronlar tarafından sağlanır. Kendi başına idrar yapma yeteneğine sahip bu nefronlar her böbrekte 1 milyon ile 1 milyon 250 bin arasında değişen sayıda bulunur. Her iki böbrekte toplam nefron sayısı 2-2.5 milyon arasındadır.

Her nefron; Malpighi cisimciği denen glomerül ve Bowman kapsülü ile proksimal tübül, Henle kulpu ve distal tübülden oluşmaktadır. Bowman kapsülünün paryetal yaprağı yassı epitel hücreli olup, visseral yaprağı ise podositlerce oluşturulur. Podositlerin uzantıları dallanarak pedisel olarak adlandırılan çok ince ve kapiller bazal laminayı çevreleyen oluşumları meydana getirirler. Çok sayıdaki bu ince uzantıların arasındaki boşluklar filtrasyon yarığı olarak adlandırılır. Bu yapılarıyla podositler; süzme membranının bir desteği, filtrasyonun en ince bir süzgeci, süzülen proteinlerin reabsorbe edildiği bazal membrandır (6).

Proksimal tübül; tek katlı kübik epitel hücreleriyle sarmalanmıştır. Lüminal yüzünde mikrovilluslar bulunur. Yapısı glikoproteince zengindir.

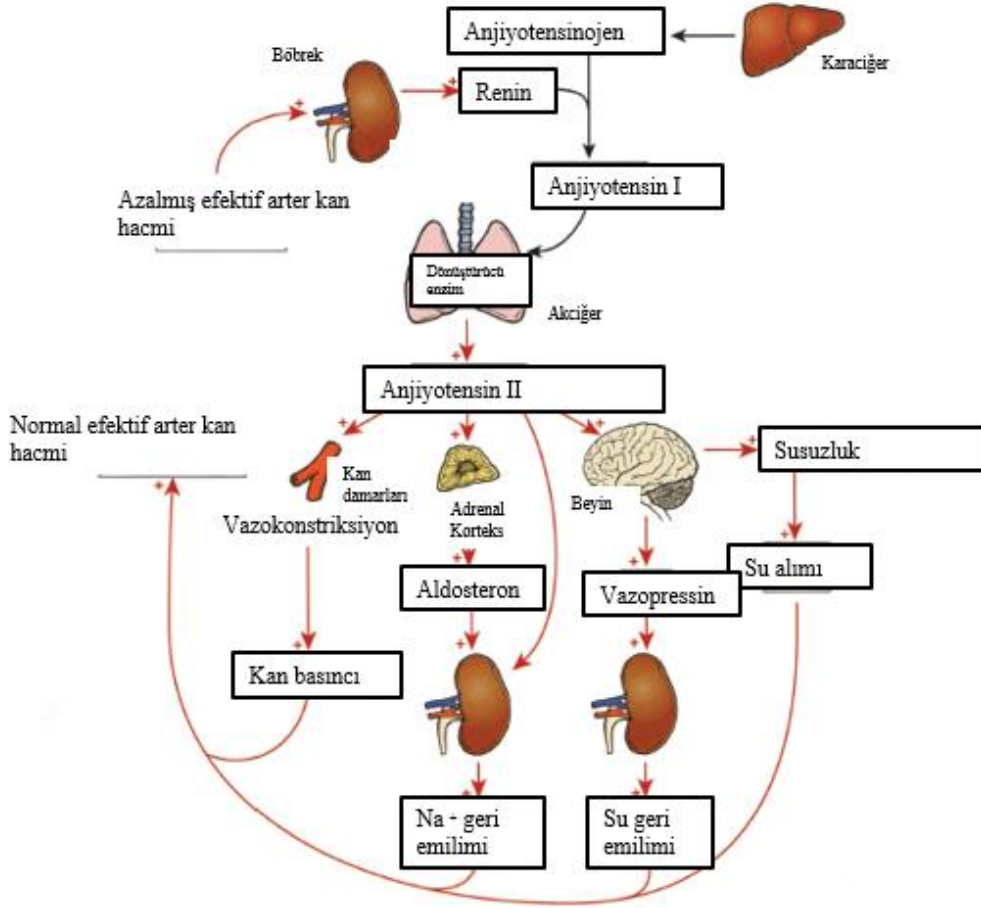
Henle kulpu; inen ince kolu ve çıkan kalın kolu olmak üzere 2 bölümden oluşmaktadır. Henle kulpunun inen kolu; kortekse doğru dönüş yaptıktan sonra, tübüler sistemin diğer kısımlarında olduğu gibi duvarı kalınlaşır.

Distal tübül; proksimal tübül gibi kortekste yerleşmiştir. Glomerülün damar kutbunda yer alan makula densa bölgesinin yanından kıvrılarak, toplayıcı kanallara ulaşır.



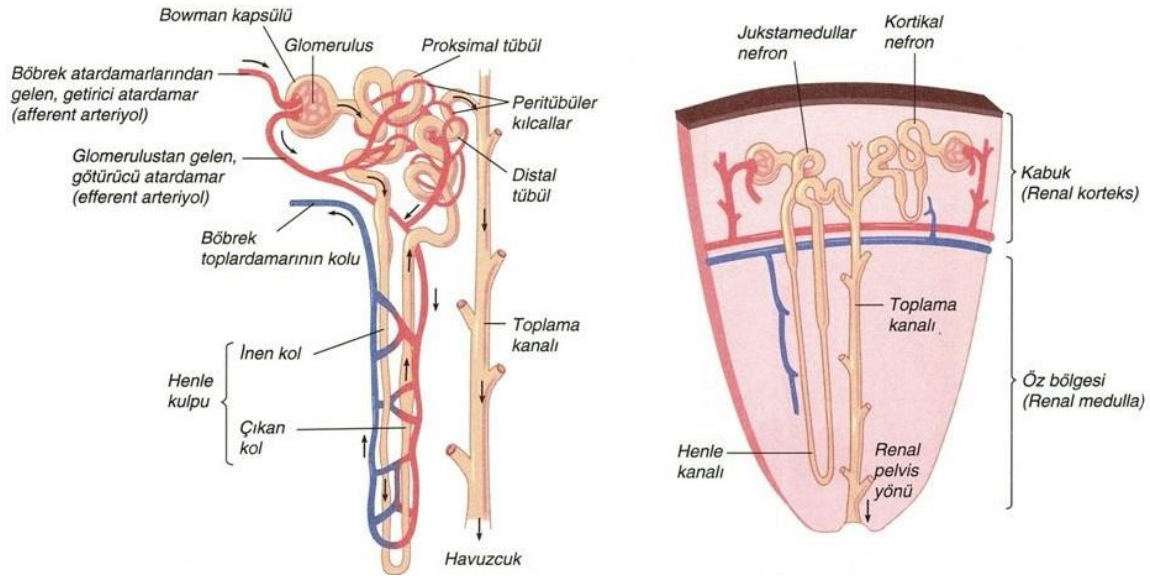
Şekil 2.3. Jukstaglomerüler aparat (11)

Jukstaglomerüler aparat; vas afferent, vas efferent, distal tübülün makula densası ve glomerüler mesangium hücrelerinden oluşan bir yapıdır (Şekil 2.3.). Jukstaglomerüler hücreler, azalmış kan basıncı ya da kan kaybı durumunda renin salgılayarak anjiyotensinojeni, anjiyotensin-1'e dönüştürür. Ardından bu madde akciğer endotel hücrelerde bir vazokonstriktör ve aldosteron salınımını da tetikleyen anjiyotensin-2'ye çevrilir (Şekil 2.4.). Kan basıncının artması, glomerüle ulaşan kan hacmini artırır. Böbrek patolojilerine bağlı olarak gelişen hipertansiyon bu mekanizma sonucu ortaya çıkar (12).



Şekil 2.4. Renin anjiyotensin mekanizması (11)

Nefronlar kortikal ve jukstamedül olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 2.5). Kortikal nefronlar tüm nefronların %85'ini oluşturup, glomerülü küçük ve korteksin 2/3 dış bölgesinde bulunur. Henle kulpu kısa ve etrafında peritübüler damar ağı vardır. Jukstamedüller nefronlar ise nefronların %15'ini oluşturup, glomerülü büyük, korteksin 1/3 iç bölgesinde ve Henle kulpu uzundur. Jukstamedül nefronlarda efferent arteriyol sadece peritübüler kılcıl damarları oluşturmaz, aynı zamanda özel bir kılcıl damar olan vaza rektayı oluşturur. Bu oluşan yapı Henle kulpuna paraleldir. Vaza rekta idrarın konsantre edilmesinde etkin rol oynar. Kortikal nefronlarda afferent arteriyol interlobüler arterden, jukstamedüller nefronlarda ise çoğunlukla arteria arcuatadan çıkar (7).



Şekil 2.5. Nefronun yapısı (12)

Böbrekte de damar sisteminde olduğu gibi miyojenik otheregülasyon bulunur. Ayrıca böbrekte buna ek ve bundan daha etkili mekanizmalar da vardır. Bunların en önemlisi tübüloglomerüler geri bildirim mekanizmasıdır. Renal arter darlığı, hipovolemi gibi filtrat miktarını azaltan durumlarda proksimal tübülden geçen filtratın hızı düşmektedir. Bundan dolayı proksimal tübülden daha fazla NaCl ve su emilimi olur. Sonuçta distal tübüle daha az NaCl ulaşır. Distal tübülün sodyum klorüre duyarlı kısmı olan makula densa ozmoreseptör içerir ve renin salınımı için jukstaglomerüler hücreleri harekete geçirir (13).

2.3.1. Böbrek Dokusunda Kan Dolaşımı

Böbreğin kan akımı normalde kalp debisinin %22' si kadardır. Diğer bir deyişle de yaklaşık dakikada 1100 ml' dir. Böbrek arteri, hilum bölgesinden böbreğe girer ve interlober, arkuat, interlobüler arterlere ve afferent arteriyollere ayrılır.

Böbrek kan dolaşımı, iki ayrı kapiller yatağı olan özel bir dolaşımdır. Glomerüle ait ve tübül çevresindeki kapillerler seri şeklinde düzenlenmişlerdir. Birbirlerinden her hidrostatik basıncın ayarlamasına yardımcı olan efferent arteriyol ile ayrılırlar. Glomerül kapillerlerindeki yüksek hidrostatik basınç (yaklaşık 60 mm Hg) sıvının hızlı filtrasyonuna sebep olur. Fakat peritübül kapillerlerinde çok daha düşük olan (yaklaşık 13 mm Hg) hidrostatik basınç sıvının çabuk geri emilimine imkan sağlar. Böbrekler afferent ve efferent arteriyollerin direncini düzenleyerek, hem glomerül kapillerleri hem peritübül kapillerlerinde hidrostatik basıncı ayarlar. vücudun homeostatik ihtiyaçlarına cevaben glomerül filtrasyon hızını veya tübül geri emilimini değiştirirler (13).

2.4. Böbreklerin Fizyolojisi

Böbreklerin başlıca 2 büyük görevi vardır:

A-İdrar oluşturma fonksiyonu

B- Endokrin fonksiyonu

Böbrekler idrar oluşturma fonksiyonu ile şu görevleri yerine getirirler:

- 1- Özellikle protein metabolizması sonrası oluşan üre, kreatin, kreatinin, ürik asit, fosfatlar, sülfatlar gibi atıkların ve toksik maddelerin atılması
- 2- Organizmada su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi
- 3- Asit-baz dengesinin sağlanması
- 4- Organizma için gereksiz yabancı maddelerin (çeşitli ilaçlar, boyalı maddeler gibi) atılması.

Böbreklerin bilinen başlıca endokrin fonksiyonları şunlardır:

- 1- Eritropoietin salgılanması
- 2- Renin salgılanması
- 3- D vitamini sentezi (10).

İdrarın oluşumu böbreğin en önemli fonksiyonudur. İdrar; glomerüler filtrasyon, tübüler reabsorpsiyon ve tübüler sekresyon sonucu oluşur.

1-Glomerüler Filtrasyon: Glomerüler filtrasyon bir ultrafiltrasyondur. Glomerüllere afferent arteriyolla gelen kan, kapiller endoteli ile Bowman kapsülü epiteli arasındaki deliklerden ve ikisi arasındaki bazal membran aralıklarından süzülür. Glomerüler filtrasyonu sağlayan etken glomerüler süzme basıncıdır.

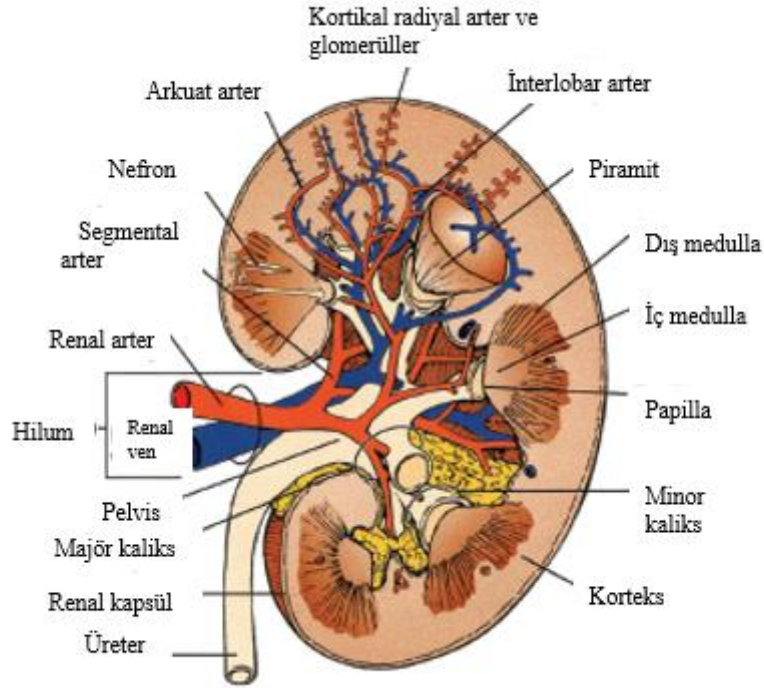
2-Tübüler Reabsorpsiyon: Büyük miktarlara ulaşan bu glomerüler filtrat içindeki maddeler, vücut için gereksinime göre aktif ya da pasif olarak tübüler reabsorpsiyona uğrayarak geri emilirler.

3-Tübüler Sekresyon: Aktif ya da pasif olarak gerçekleşmektedir. Proksimal tübüllerde potasyum, hidrojen iyonu, kreatinin, penisilin, fenol sülfotalein gibi maddeler aktif olarak sekrete edilmektedir. Amonyak ve kinin gibi maddeler de pasif olarak bir enerji kullanılmadan derişim farkından dolayı tüp hücrelerinden lümene salgılanmaktadır (14).

2.5. Pelvis Renalis ve Üreter Fizyolojisi

Her nefron distal tübülün bir ara parçasıyla toplayıcı tübüle açılmasıyla drene olur. Toplayıcı tüplerin birleşmesiyle papillaya açılan büyük toplayıcı kanallar oluşur. Papillaların böbrek anatomik boşluğuna açıldığı yerler küçük (minör) kalikslerin başlangıcını oluşturur. Minör kalikslerin birleşmesiyle ortalama 3 major kaliks oluşur ve bunların birleşmesiyle pelvis

renalis ortaya çıkar. Pelvis, böbrek toplayıcı sisteminin ana rezervuarıdır ve böbreğin ana damarlarının arkasında yer alır (Şekil 2.6.). Bu durum pelvise cerrahi olarak arka taraftan girişini kolaylaştırır.



Şekil 2.6. Böbreğin yapısı (11).

Pelvisin ve üreterin üst kısmının kan akımı renal arterden sağlanır. Pelvisin tümüyle böbrek içinde olması (intrarenal) ya da dışında bulunması (ekstrarenal) cerrahi girişimlerin kolaylığı üzerinde etkilidir.

Pelvis renalis böbreğin alt kutbu düzeyinde sonlanır. Burası üreteropelvik bileşkedir. Buradan başlayan 25-30 cm uzunluğundaki üreter, karın arka duvarına yapışık seyrederek mesanede sonlanır (15).

Üreter alt uçlarının jukstavezikal bölümleri kadınlarda uterin arterle, erkeklerde vaz deferensin pelvik parçasıyla çaprazlaşır. Üreter bu retroperitoneal seyirleri nedeniyle overian veya testiküler arter ve ven ile yakın ilişkidir.

Normalde üreterler kapalı durumda iken lümeni yıldız şeklinde bulunur. Dakikada 2-3 olan peristaltik dalgalarla idrar jetleri, üreterden geçerken lümen çapı 0.5-0.6 cm olacak şekilde yuvarlak bir şekil alır.

Üreterin anatomik olarak 3 darlığı vardır. Bunlar; üreteropelvik birleşim yeri, üreterin iliak damarları atladığı bölge ve üreterin mesane duvarı içinde submukozal seyrettiği intramural bölgedir. 0.2 cm çapındaki intramural bölüm en dar yerdir. Üreteropelvik bileşim 0.3 cm, iliak damar çaprazı bölümü ise 0.4 cm çapındadır (14).

2.5.1. Üriner Tıkanıklık ve Patofizyolojisi

Normal idrar akımının engellenmesiyle ortaya çıkan fonksiyonel ve yapısal değişikliklerin tümüne üriner tıkanıklık ya da obstrüktif üropati denir. Tıkanma, üriner sistemde üretral açıklıktan böbrek tübüllerine kadar uzanan geniş bir alanın herhangi bir yerinde meydana gelebilir. Tıkanmanın süresi, nedeni, seviyesi, enfeksiyon varlığı, beraberinde mevcut olabilen ek patolojiler; hastanın klinik tablosu üzerine etki eden en önemli parametrelerdir (16). Etyolojisine göre üriner tıkanıklıklar doğuştan ve edinsel olmak üzere 2'ye ayrılır.

A- Doğuştan üriner tıkanma yapan sebepler:

- 1- Üreteropelvik darlık
- 2- Üretere aberan damar ve bant basıları
- 3- Üreterovezikal darlık
- 4- Vezikoüreteral reflü
- 5- Üreterosel
- 6- Nörojenik mesane hastalığı
- 7- Mesane boynu darlığı
- 8- Posterior üretral valv
- 9- Üretra darlıkları
- 10- Üretra çıkışında darlık

B- Edinsel üriner tıkanma yapan sebepler:

- 1- Meatal darlık
- 2- Üretral darlık
- 3- Üretraya yerleşmiş taşlar
- 4- Prostat bezinin benign hiperplazisi (BPH) veya kanseri
- 5- Mesane boynunu veya üreter ağzını tutan mesane tümörleri
- 6- Üreter ağzına veya üreterlere bası yapan akkiz divertiküler
- 7- Mesane taşları
- 8- Mesane tabanına veya üreterlere bası yapan serviks veya uterus tümörleri
- 9- Sekonder vezikoüreteral reflü

- 10- Nörojenik mesane
- 11- Çocuklardaki aşırı ishal
- 12- Üreterlere bası yapan metastatik lenf nodları
- 13- Üreter taşları
- 14- Retroperitoneal fibrozis ve tümörler
- 15- Gebelik
- 16- Pelvis ve kaliks taşları
- 17- Renal pelvis ve parankim tümörleri (17).

Üriner tıkanma yukarıda bahsedilen etmenlere bağlı olarak tüm yaş gruplarında oldukça sık karşılaşılan bir durumdur. Postmortem çalışmalarda hidronefroz insidansı %3.5-3.8 oranında ve her 2 cinsiyette eşit dağılımda bulunmuştur. En sık görülen tıkanma nedeni, üriner sistem taş hastalığıdır. Kadınlarda erkeklerden 3 kat daha az görülür. İleri yaş grubunda (60 yaş üstü) ise BPH ve prostat kanserine bağlı olarak erkeklerde insidans belirgin olarak artar (16). Böbrek taşları, çeşitli inorganik ya da organik bileşenlerden oluşabilir. En yaygın bileşenleri; %70 kalsiyum oksalat, %15 kalsiyum ve magnezyum fosfat, %15 ürik asit ve %1 sistin oluşturur.

Tıkanma, sistemin proksimalini etkileyerek üriner staz ve basınç yükselmesine sebep olur. Böylelikle artmış üriner basınç, böbrek kan akımını azaltarak hücrel atrof ve nekroza yol açar. Obstrüksiyonun süresinin uzaması ve derecesi böbrekte doku harabiyetini hızlandırır (Tablo 2.1.).

Tıkanmaya bağlı gelişen hidronefrozla ilgili ilk sistematik bilimsel çalışmalar 1900'lü yılların başında Frank Hinman tarafından başlatılmıştır. 1919'da yapılan hayvan deneylerinde unilateral tıkanmanın birinci haftada patofizyolojik değişikliklere yol açtığını ve 60 gün sonunda tıkanmanın kalktığında bile kısmi histolojik düzelmeye olabileceğini göstermiştir (16).

Tablo 2.1. Üriner tıkanmanın sınıflandırılması (16)

Üriner tıkanma		
1. Nedene göre:	Doğmalık	Edinsel
2. Süreye göre:	Akut	Kronik
3. Derecesine göre:	Komplet	İnkomplet
4. Seviyesine göre:	İnfravezikal	Supravezikal
5. Etkilenime göre:	Unilateral	Bilateral
6. Etkinin oluşuna göre:	Ekstresek	İntresek

Renal parankim tarafından yapılan idrarı nakletmek idrar yolunun başlıca görevidir. Bu nakil işlemini engelleyen bir obstrüksiyon, bulunduğu yerin proksimalinde müsküler aktiviteyi artırır. Artan müsküler aktiviteyle tıkanmanın direnci bir miktar azalır ve idrarın geçişi sağlanır. Tıkanma yerinin proksimalinde tıkanmanın direncini yenmek için artan müsküler aktiviteye bağlı olarak intraluminal hidrostatik basınç artarken, üreteral duvarda müsküler aktivitenin artışıyla oranlı oluşan müsküler hipertrofi, olayı kompanse eder. Bunun sonucunda tıkanmaya bağlı gelişen fizyopatolojik değişiklikler zincirinin başlangıcına kompanzatuvar safha adı verilir.

Tıkanmanın prosimalinde atrofik gelişmeye bağlı olarak kas dokusunun yerini fibröz doku alır ve tıkanmanın direnci kompanze edilemez. Böylelikle dekompanzasyon safhası başlamış olur. Olayın kronikleşmesiyle aşırı hidrostatik basınca bağlı olarak hipertrofik kas liflerinde baskı gelişir. Ayrıca iskemik atrofiden dolayı fibrozis ve beraberinde dilatasyon ortaya çıkar (Şekil 2.7.). Bu konuda temel fizyopatolojik değişiklikler, artan hidrostatik basıncın akut ve kronik safhalarda yaptığı etkiye bağlıdır. Söz konusu fizyopatolojik değişiklikleri alt ve üst üriner sistemde ayrı ayrı incelenir (18).



Şekil 2.7. Hidronefrozun ve taşların sebep olduğu dilate kaliksler (10)

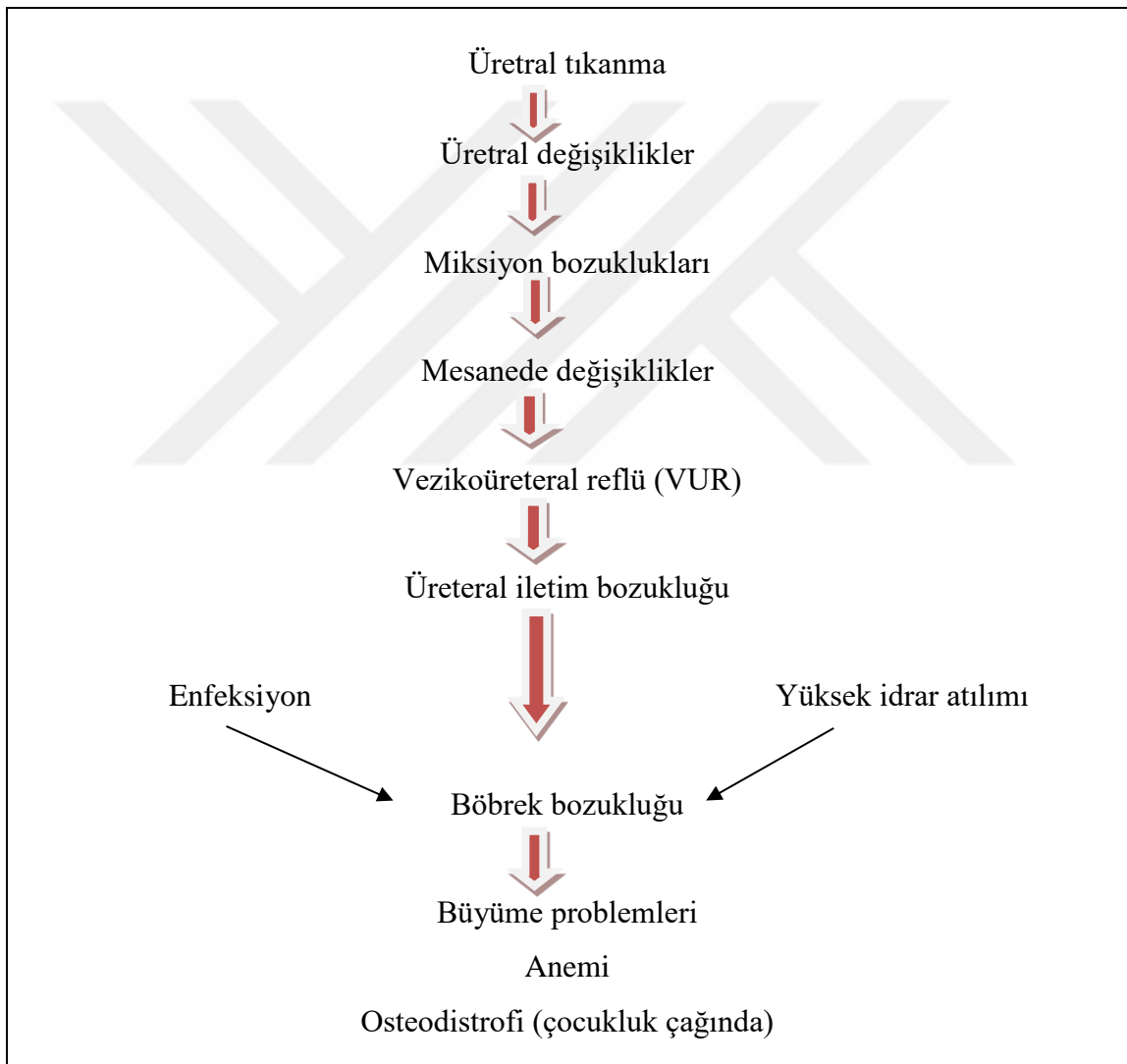
2.5.1.1. Alt Üriner Sistem Tıkanıklıkları (İnfravezikal Obstrüksiyon)

Eksternal üretral meadan başlamak üzere tüm üretra ve mesane boynu ile mesane içi patolojilerini içeren etkenlere bağlı oluşan tıkanmalardır. Bu seviyedeki tıkanmalar erken dönemlerde üretra ve mesanede patolojik değişiklikler meydana getirirken, ileri dönemlerinde üriner sistemin hemen tümünü kapsayan hatta böbrek yetmezliğine varan sonuçlar doğurabilir (16).

Üst üriner sistemden sürekli aşağı doğru itilen idrarın oluşturduğu hidrostatik basınçtan dolayı üretrada fazlaca dilatasyon oluşmayıp tıkanma yerinde genellikle enfeksiyon olur. Artan intraluminal hidrostatik basıncın etkisiyle üretra duvarından idrar ekstravaze olur. Eğer idrar enfekte ise periüretral apse oluşabilir. Ayrıca hidrostatik basıncın etkisi prostatik üretra için de geçerlidir. Böylece prostatik ve ejakulatuvar kanallar da dilate olur. Prostat bezinde enfeksiyon ve apse oluşur. Ayrıca enfeksiyon ajanının ejakulatuvar kanallardan geçerek epididimlere ulaşması ve buralarda da enfeksiyon ve apse oluşması mümkündür. Sonuçta geriye doğru artan basıncın zararlı etkisi mesaneye ulaşır (Şekil 2.8.) (18).

Normal erişkin bir erkekte üretradan miksiyonla 25 ml/sn, kadında ise 30 ml/sn idrar boşaltılır. Tıkanmaya bağlı olarak idrar atımı azalır ve 15 ml/sn'nin altına düşer. Normalde erkekler idrarlarını 90 cm'ye kadar ileriye ve belirli bir kalibrede atarlar. Tıkanmada bu atım

mesafesi kısalır, atım gücü düşer ve idrar kalibresi inceler. İleri dönemlerde hastalar idrarlarını damla damla yapar hale gelir. Mesane tıkanmaya bağlı gelişen üretral rezistansı yenmek ve miksiyonun devamını sağlayabilmek için fonksiyonel etkinliğini arttırmaya yönelik değişiklikler sergiler. Mesane kası daha kuvvetli kontraksiyonlarla mesanenin tam boşalmasını sağlamaya çalışır. Mesane içinde rezidüel idrar kalmaz. Yani mesane bir anlamda tıkanmaya karşı bir denge kurmuş durumdadır. Buna tıkanmanın kompanzasyon evresi adı verilir. Bu mekanizmadaki amaç obstrüksiyona sekonder gelişen infravezikal direnci yenmek ve idrar atım gücünü düzenlemektir (16).



Şekil 2.8. Alt üriner tıkanmada patofizyolojik seyir (16).

2.5.1.2. Üst Üriner Sistem Tıkanıklıkları (Supravezikal Obstrüksiyon)

Üst üriner tıkanmanın renal fonksiyonlar üzerine etkisi, tıkanmanın şiddetine, süresine ve enfeksiyonun bulunup bulunmamasına göre değişmektedir. Üriner sistemin herhangi bir yerinde olan direnç artışı tıkanmanın proksimalinde hacim ve basınç artışıyla başlayarak renal kan akımında azalmaya yol açar. Ardından hücresel atrofi ve nekroz gelişir (Şekil 2.11). Böylece oluşan progresif dilatasyon ve böbrek harabiyeti hidronefrozu oluşturur (Şekil 2.9.) (16).



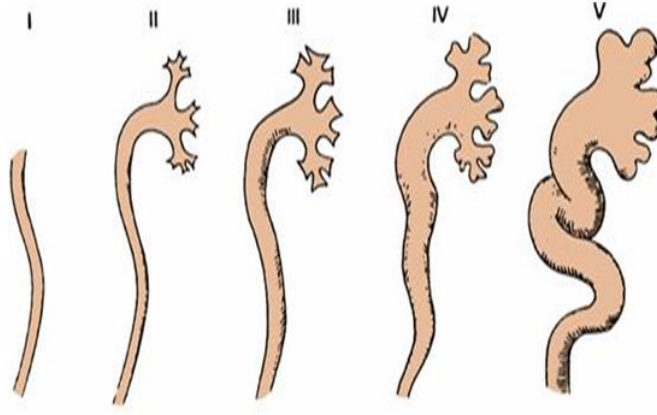
Şekil 2.9. Hidronefroz (16)

1. derece hidronefroz: Tıkanma ve reflü sebebiyle yükselen pelvis içi basıncının kalikslere yansmasıyla infundibulumlar genişlemekte, forniksler küntleşmekte, papillalar sivriliklerini kaybetmektedirler. Böylece kalikslerin kadeh görünümü bozulmaktadır.

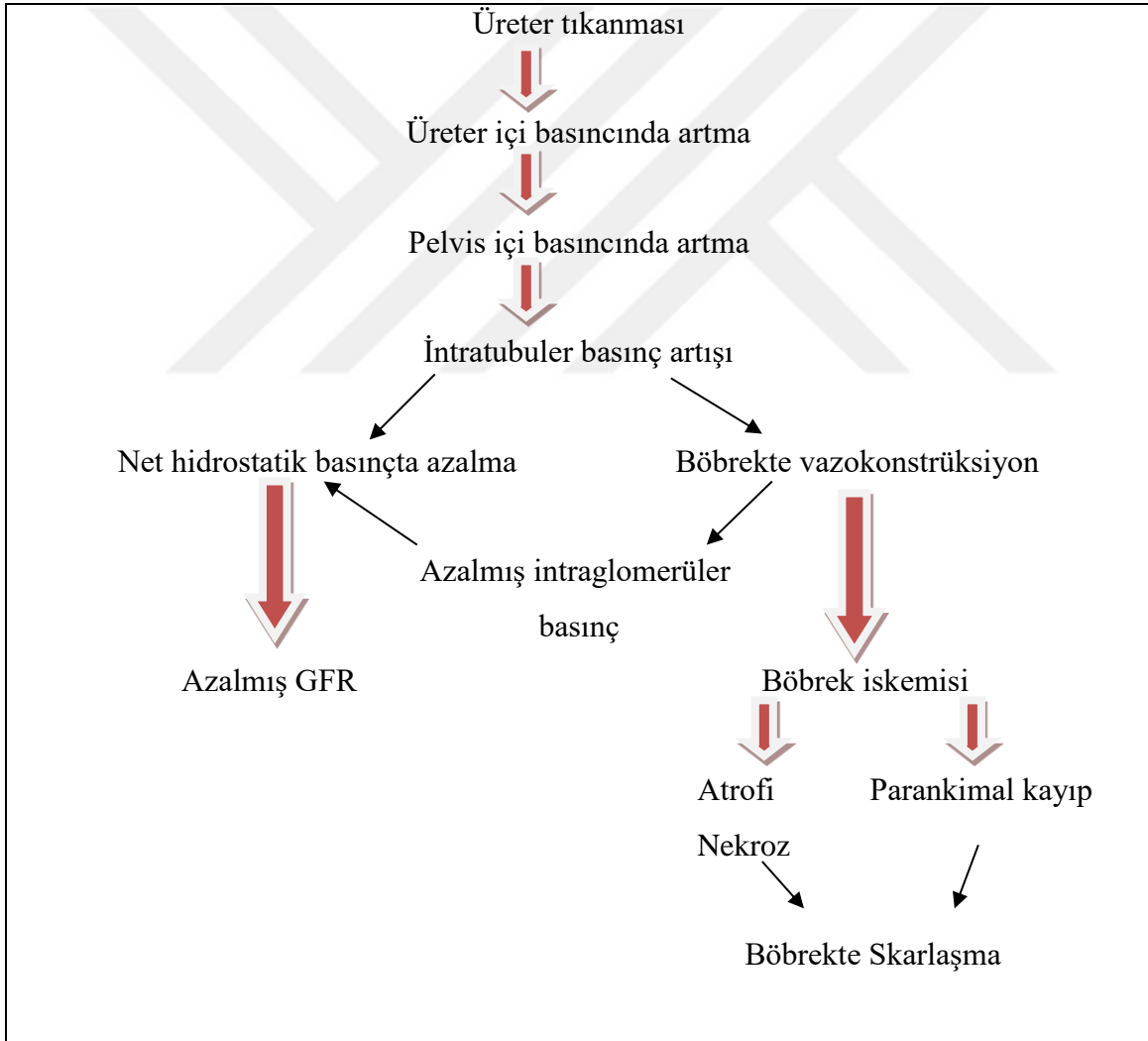
2. derece hidronefroz: Pelvis içi basıncın daha da artmasıyla infundibulumlar daha fazla genişleyerek papillalar tamamen silinir ve forniksler kaybolur. Kaliks tabanları düzleşir.

3. derece hidronefroz: Basıncın daha artması ile kaliksler daha fazla genişleyerek bombeleşir. Parankim kaybı sonucu kalikslerle kapsül arasındaki böbrek parankim dokusu azalır.

4. derece hidronefroz: Böbrek parankiminin büyük kısmı kaybedilerek parankim, oldukça incilir veya kaybolur. Kaliksler oldukça dilate bir hale gelir ve bombeleşir. Kaliksler arasında ve kalikslerle kapsül arasındaki böbrek parankimi çok azalmıştır (Şekil 2.10.) (19).



Şekil 2.10. Hidronefroz seviyeleri (19).



Şekil 2.11. Üst üriner tıkanıklıklarda patofizyolojik seyir (16).

Tıkanıklık, böbrekte ileri seviyede ise kaliksler hidronefrotik keseler haline gelir. Kaliks içerisindeki basınç artışı ve genişlemelerle oluşan iskemi; papilla atrofisi ve kaliks

genişlemeleriyle sonuçlanır. Normalde böbrek parankim kalınlığı 20 mm iken; hidronefrotik böbrekte parankim kalınlığı 4-6 mm'ye kadar incelir. Tıkanıklık düzelse bile, parankim kaybı aşırı olduğundan böbreğin düzelme şansı azalır (18).

Alt üriner sistem tıkanıklıklarına bağlı hidronefrozlar çift taraflı olduğu için, tek taraflı üst üriner sistem tıkanıklarına göre daha az zararlıdır. Çünkü tek taraflı üst üriner tıkanıklıklarında hidronefroz bir böbrekte oluşur. Burada belirtilmesi gereken husus tıkanma ne kadar böbreğe yakın ise hidronefroz ve böbrek parankim kaybı o kadar ağır ve daha hızlıdır (14).

2.5.2. Üriner Tıkanıklıkta Tanı Yöntemleri

Tıkanıklıkların nedenleri çok çeşitlidir. Her hastalığın kendine has klinik verileri mevcuttur. Bu nedenle üriner obstrüksiyonlar için genel tanı kriterleri yanı sıra, sadece obstrüksiyonu; onun derece ve özelliklerini belirleyecek birçok tanı yöntemi vardır (16).

Laboratuvar İncelemeleri:

İdrar tahlili: İdrarın pH'sına, idrarda lökosit, bakteri ve sistin'e bakılır. İdrar kültürü ve antibiyogramı yapılır.

Biyokimyasal analizler: Kanda kalsiyum, total protein, albumin, BUN, kreatinin, ürik asit seviyelerine bakılır.

Taş analizleri: Kimyasal, X-ışını kırınımı ve kristallografik yöntemlerle taş analizi yapılabilir.

24 saatlik idrarda analizler: Bir gün boyunca toplanan idrar örneklerinde kalsiyum, oksalat, sitrat, ürat, kreatinin, magnezyum, fosfat, üre ve sodyum'a bakılır (18).

Radyolojik Tanı Yöntemleri:

Direkt üriner sistem grafisi: Üriner sistemdeki taşların %85-90'ı opak olduğundan direkt grafide radyoopasite şeklinde görülür.

İntravenöz ürografi (İVU): Taşın lokalizasyonu, böbreklerin fonksiyonu ve tıkanıklığın derecesini göstermesi açısından önemlidir.

Ultrasonografi: Hidronefrozun derecesini ve taşın büyüklüğünü gösteren non invaziv bir tetkiktir. Kontrast madde alerjisi olanlarda, serum kreatinin'i 200 mmol/L üzeri hastalarda ve multipl myelomalı hastalarında İVU yapılamayacağından ilk başvurulacak tanı yöntemlerinden birisidir.

Spiral bilgisayarlı tomografi: Kontrast madde verilmeden yapılması ve nonopak taşların da görüntülenebilmesi nedeniyle günümüzde taş hastalığı tanısında ilk yapılacak tetkiklerden birisi haline gelmiştir (17).

2.6. Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

2.6.1. Radikal Kavramı ve Oksijen Radikalleri

Atomun en dış yörüngesinde bulunan elektron çiftinin dengesi; yörüngeye bir elektron girmesi veya çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron, atoma ya da moleküle aktiflik katar. En dış yörüngesinde eşleşmemiş bir elektronu bulunan moleküle ya da molekül gruplarına “radikal” denir.

Oksijen 8 atom numaralı, doğada dioksijen (O_2) olarak bulunan kararsız bir element olup, bu kararsız konumu enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla alakalıdır. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen 2 elektrona sahip 2p son orbitali önem arz eder. Orbitalerden birine ters dönüşlü 2 elektron ya da ikisine ters dönüşlü 2 elektron daha gelirse “oksijen radikali” oluşur. Oluşan radikal, eşleşmemiş tek elektronundan dolayı çok dengesizdir ve hızla ortamdan uzaklaşır. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını başka bir moleküle verebilir (redüksiyon) veya bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta nonradikal yapıyı radikal şekle dönüştürebilme eğilimindedirler (18).

En iyi bilinen oksijen radikalleri; süperoksit anyonu (dioksit, O_2^-), hidroksil radikali (OH) ve hidrojen peroksit radikalidir (H_2O_2). Bu oksijen metabolitlerinin hücredeki diğer molekülleri yıkıcı reaktif özelliklere sahip olması, hücresel işlevlerin bozulması ve hücre ölümü patogenezinde önemlidir. Aerobik hücrelerde yaşamsal öneme sahip olan oksijenin, metabolizma sonucu ortaya çıkan ürünleriyle hücre ölümüne yol açması büyük bir çelişki olarak değerlendirilir (19).

2.6.2. Biyolojik Sistemlerde Serbest Radikal Oluşturan Mekanizmalar

Serbest radikal oluşturan kaynaklar endojen ve ekzojen olmak üzere 2 gruba sınıflandırılabilir (20).

1- Endojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları: Metabolizmada, bazı biyokimyasal olayların aşamalarında serbest radikaller oluşmaktadır. Bunlar; mitokondriyal elektron transportu, fagositoz, otooksidasyon, lipid peroksidasyonu, enzimatik aktivite, çeşitli hastalık durumları, bazı metabolik olaylardır.

2- Ekzojen Serbest Radikal Üretim Kaynakları: Radyasyon, alkol, uyuşturucu, ilaçlar, karsinojen maddeler, pestisitler, stres en önemli ekzojen serbest radikal üretim kaynağını oluştururlar (18).

2.6.3. Üriner Tıkanıklık ve Oksidatif Stres

Üst üriner sistemde oluşan tıkanmalardan sonra; erken dönemde renal kan akımı artarken, 5. saatten sonra renal kan akımında azalma başlar (21-24). Kan akımındaki bu azalış; tıkanmanın proksimalinde izlenen basınç artışıyla birlikte renal damarlar üzerine vazokonstriktör etki oluşturan diğer sebeplerden dolayıdır (25). Renal kan akımındaki azalma belirli bir süreden sonra tıkanma giderilse bile devam etmektedir (21, 22, 26). Böylece hücrel atrofi ve nekroz oluşturarak renal parankim kaybına sebep olmaktadır (23, 27).

Normalde bütün dokularda; oksidan ve antioksidan aktivite bir denge durumundadır. Bu dengenin oksidan aktivite tarafına kayması, serbest oksijen radikallerinin rol aldığı birçok patolojik olaya sebep olmaktadır (28-32). Üriner tıkanıklıkta da serbest oksijen radikal düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır (33). Serbest oksijen radikalleri birçok immünolojik, toksik ve iskemik doku hasarlanmalarında rol alan önemli ajanlar olarak kabul edilirler (34).

2.7. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin oluşumunu durduran ya da atılmasını sağlayan maddelere antioksidan denir ve 2 ana gruba ayrılır (18).

2.7.1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar

A- Enzimler:

Süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), UDP- glukuronil transferaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz, izositrat dehidrojenaz, epoksit hidrolaz, NADPH-Kinon oksidoredüktaz.

B- Enzim Olmayanlar:

Lipit fazda bulunanlar; E-vitamini, β -karoten

Sıvı fazda (hücre sitoplazmasında ya da kan plazmasında) bulunanlar; askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferrin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, albumin, bilirubin, haptoglobin, glutatyon, probukol (35, 36).

2.7.2. Ekzojen Antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, rekombinant süperoksid dismutaz, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, non-enzimatik serbest radikal topplayıcıları, endojen antioksidan aktiviteyi arttıran maddelerdir (18).

2.7.3. Aposinin ve Antioksidan Etkisi

Aposinin (4-hydroxy-3-methoxy-acetophenone), asetovanilin olarak bilinir. Himalaya'da yetişen *Picrorhizakurrooa Royle* (Scrophulariaceae) adlı bitkiden elde edilmektedir.

Aposinin, NADPH oksidaz enzim ailesinin en etkili inhibitörlerinden biridir. NADPH oksidaz yapısı oldukça karmaşıktır. Bu çok bileşenli enzim sistemi; p22phox ve gp91phox (NOX2) denilen 2 transmembran proteininden, ayrıca p47phox, p67phox, p40phox ve GTPaz denilen 4 sitozolik proteinden oluşmaktadır.

Fagositlerdeki NADPH oksidaz aktivasyonu, sitozolik protein olan p47phox'un fosforilasyonuna bağlıdır. Aposinin lökositlerde, monositlerde ve endotel hücrelerinde p47phox'un NOX2 translokasyonunu engeller (37).

Aposinin antioksidan deneylerde çok sık kullanılan bir maddedir. Ayrıca önceki çalışmalar aposininin inflamasyona bir tepki olduğunu da gösteriyor. Aposinin tedavisi; inflamatuvar hücrelerde TNF- α , COX-2 salınımlarını ve NF- κ B aktivitesini inhibe eder (38-40). Son çalışmalar aposininin; obez farelerde insüline dayanma gücünü iyileştirebildiğini, farelerde iskemi-reperfüzyonla indüklenen karaciğer hasarlarını hafiflettiğini, yüksek kolesterolü hastalarda hepatik oksidatif stresi azaltabildiğini göstermiştir (41-43).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Etik Kurul Onayı

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan 26.07.2012 tarih ve 2012/A-82 protokol no. ile onay alınmıştır. Ardından İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi (İNÜ-DEHÜM)'de yapılmıştır (Etik kurul raporu için bkz. Ek-2.).

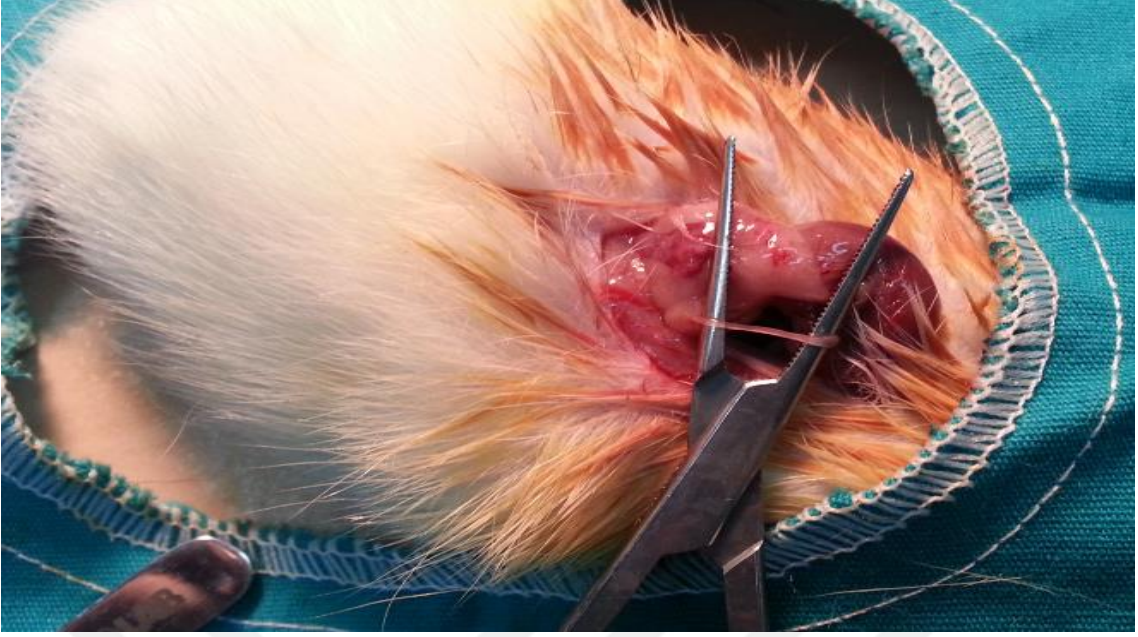
3.2. Deney Hayvanları

Çalışma, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nde yetiştirilen 37 adet, yaklaşık olarak 200-250 gr ağırlığındaki Sprague-Dawley türü dişi sıçanlar üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma boyunca sıçanlar $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığında ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık deneme düzeninde tutuldu. Sıçanlar, tek taraflı üreter tıkanıklığı (TÜT) deneyleri için bir gece önce aç bırakıldı, fakat serbestçe suya ulaşmaları sağlandı. Sıçanlar; intraperitoneal olarak ketamin/ksilazin anestezisi altında, karın yan tarafından yapılan bir kesi ile sol üreterlerine ulaşıldı.

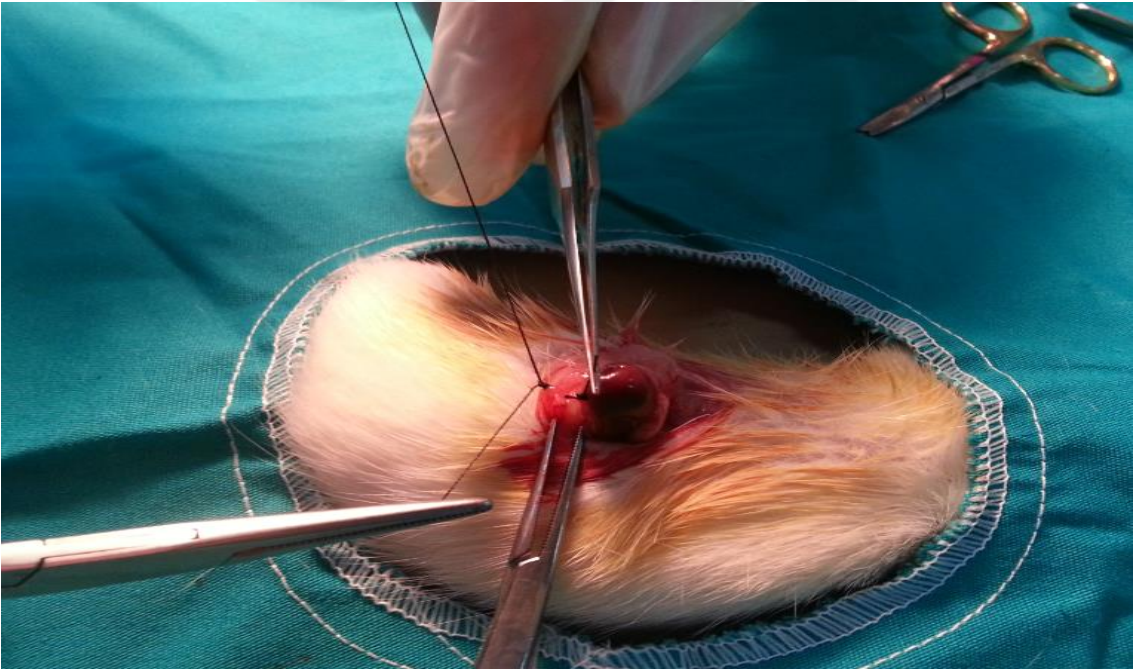
3.3. Tek Taraflı Üreter Tıkanıklığı Cerrahisi (TÜT)

Cerrahi işlemden 1 gün önce sıçanların standart yemleri kesildi. Sıçanlar tartıldıktan sonra 70 mg/kg ketamin ve 7 mg/kg xylazine i.p. kullanılarak genel anestezi yapıldı. Anestezi edilen sıçanların, ısıtıcı lamba altında vücut sıcaklıkları normal sınırlarda tutularak, karın yan taraflarına laparotomi yapıldı. Sham grubu dışındaki tüm deneklerde sol üreter; 4-0 ipek suturela iki ayrı bölgeden bağlandıktan sonra (Şekil 3.1.), iki suture arası kesildi (Şekil 3.2.). Karın ön duvarı 3-0 ipek suturela kapatıldı.

Tüm sıçanlar cerrahi işlemden 14 gün sonra 1.2 g/kg i.p. üreteran ile anestezi yapıldı, kalpten kan alınarak öldürüldükten sonra iki taraflı nefrektomi yapıldı. Çıkarılan böbrek dokuları, SF ile üç kez yıkandıktan sonra alüminyum folyoya sarılıp biyokimyasal analizler yapılncaya kadar -85°C 'de saklandı.



Şekil 3.1. Sol üreterin sabitlenmesi



Şekil 3.2. Deneklerde sol üreterin iki suture arasında kesiliş

3.4. Deney Grupları

Çalışma protokolüne uygun olarak Tablo 3.1 'de belirtilmiş olduğu gibi her grupta 8-10 adet dişi sıçan olmak üzere, rastlantısal olarak 4 gruba bölündü.

Tablo 3.1. Deney grupları

Grup adları	n
Grup 1 (Sham kontrol)	9
Grup 2 (TÜT)	10
Grup 3 (TÜT + Apo)	10
Grup 4 (TÜT + Çöz)	8

Grup 1, Sham Kontrol; Karın diseke edilip, sol üretere oklüzyon uygulanmadan diğer gruplara benzer şekilde manipüle edildikten sonra karın kapatıldı.

Grup 2, TÜT; Karın diseke edildi. Sol üreter, 4-0 ipek sütürle iki ayrı bölgeden bağlanarak TÜT cerrahisi uygulanıp, karın kapatıldı.

Grup 3, TÜT + Apo; Grup 2 ile aynı cerrahi işlemler yapıldı, ancak 14 gün boyunca 25 mg/kg/gün i.p. aposinin verildi. Aposinin fosfat ile tamponize %2'lik alkollü salin (çözücü) içerisinde günlük olarak hazırlanıp, her sıçana 0.5 ml verildi.

Grup 4, TÜT + Çöz; Grup 2 ile aynı cerrahi işlemler yapıldı, ancak 14 gün boyunca Grup 3'e verilen ile aynı hacimde çözücü i.p. verildi.

3.5. Dokuların Biyokimyasal Analizlere Hazırlanma Aşaması

Derin dondurucuya alınan böbrek dokuları biyokimyasal analiz işlemlerinin uygulanması için derin dondurucudan çıkarıldı. Böbrek dokusunun çözülmesi tamamlandıktan sonra serum fizyolojik (SF) ile yıkanarak tartım işlemi yapıldı. Homojenizasyon basamağının yapılabilmesi için cam tüplere alınan böbrek dokularına 2 ml Tris-HCl (pH=7.4) tamponu ilave edildi. Homojenizasyon işlemi sırasında dokuların ısıdan dolayı bozulmasını engellemek için cam tüpler, içerisinde buz olan kaba konuldu. Böbrek dokuları 16.000 devir/dk hızda 3 dk homojenize edildi (IKA, Germany). Elde edilen homojenata 6 ml Tris-HCl eklenip, karıştırıldı. Oluşan homojenatın bir kısmı GSH ve MDA ölçümleri için ependorf tüplere konuldu. Kalan homojenat SOD, CAT ve GPx enzim aktivitesi ölçümleri için 10 saniye olmak şartıyla 3 kez

sonifike edildikten sonra, 3220 rpm' de 4°C sıcaklık altında 30 dk santrifüj edilip, süpernatantlar elde edildi.

3.6. Biyokimyasal Ölçümler

3.6.1. Süperoksit Distumaz (SOD) Enzim Aktivitesi Ölçümü

SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metoduna göre hesaplandı (44). Bu metoda göre SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz etkisiyle üretilen süperoksidin nitrobluetetrazolium'u (NBT) indirgemesiyle görülmektedir. Süperoksit radikali NBT' yi redükte ederek renk değişimine sebep olur. Renk değişimi 560 nm'de maksimum absorbanı verir. Ortamda SOD enzimi bulunmaması durumunda NBT indirgenmesi gerçekleşip, enzim aktivitesi ve miktarına bağılı olarak mavi-mor renk değişimi gözlenmektedir.

Okunan absorbanlar aşağıda verilen formülde yerine yazılarak numunelerdeki % inhibisyon değeri hesaplandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{A_k - A_n}{A_k} \cdot 100$$

A_k : Absorbans kör

A_n : Absorbans numune

1 Ü SOD, NBT indirgemisini %50 inhibe eden enzim aktivitesi olup, bulunan sonuçlar U/mg protein şeklinde ifade edildi.

3.6.2. Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesi Ölçümü

Katalaz aktivitesi Aebi' nin yöntemine göre hesaplandı (45). Bu yöntem aktif kimyasal bir madde olan H_2O_2 'i CAT enzimi varlığında su ve oksijene ayrıştırıp, bu ayrıştırılmanın sonucu olarak (UV) spektrofotometrede absorbanı azalması şeklinde ölçülmesi ilkesine dayanmaktadır. Absorbansdaki bu azalış CAT enzim aktivitesiyle doğru orantılıdır. UV spektrofotometrik analizde H_2O_2 240 nm dalga boyunda maksimum absorbanı verir.

İlk okunan absorbanı A_1 , son okunan absorbanı A_2 , süre (saniye) Δt olarak aşağıdaki formülde yerlerine yazılarak:

$$K = (2,3 \log A_1 / A_2) / \Delta t$$

Aktivite K/g protein olarak ifade edildi.

3.6.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx) Ölçümü

Tetramerik bir enzim olup sitozolde bulunur ve yapısında dört selenyum (Se) atomu yer alır. Hidrojen peroksit ile hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. Zar fosfolipitlerinden, fosfolipaz A2 tarafından salınan lipid hidroperoksitlere etki eder. Fagositik hücrelerde önemli bir görevi vardır. Solunum patlaması sırasında serbest radikal hasarı sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol açar. GPx, hem lipid peroksidasyonunun başlamasını önler, hem de lipid peroksidasyonu sonucu oluşan lipid hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar (46).

GPx ile t-bütül hidroperoksit varlığında GSH'nin GSSG'ye oksidasyonu gerçekleşir. Yöntem, bu oksidasyon sonucu oluşan GSSG'nin glutasyon redüktaz (GR) enzimi ile tekrar GSH'ye indirgenmesi tepkimesinde NADP'ye oksitlenen NADPH'nin 340 nm dalga boyundaki absorbans değeri farkının zamana karşı okunması prensibine dayanır (36).



3.6.4. Glutasyon (GSH) Ölçümü

Glutasyon aktivitesi Ellman'ın yöntemine göre ölçüldü (47). Ölçüm için Tris-HCl hazırlanan homojenatlar kullanıldı. Homojenatlar %10' luk trikloroasetik asit çözeltisi içerisinde 4000 rpm' de 10 dk santrifüj edilerek, proteinlerden ayrıştırılmış ekstrakt elde edildi. Oluşan proteinsiz ekstrakta 0.3 molarlık disodyum fosfat solüsyonu ilave edildi. Daha sonra da sodyumsitrat ve 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoik asit ile hazırlanan çözelti eklendi. Spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda okunan değerler $\mu\text{mol/g}$ doku olarak ifade edildi.

3.6.5. Malondialdehit (MDA) Ölçümü

Lipid peroksidasyon ürünlerinden olan MDA tayini, Uchiyama ve arkadaşlarının metoduna göre yapıldı (48). Tiyobarbütirik asit (TBA) ile MDA'nın reaksiyon vererek pembe renkli bu bileşiğin N-butanol fazında supernatanı ekstrakte edildi. Oluşan supernatanın spektrofotometre ile 535 ve 520 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır. 1,1,3,3 tetrametoksipropan ile hazırlanan farklı derişimlerdeki standartlar ve bunlardan çizilen standart grafiği ile sonuçlar değerlendirildi. Sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi.

3.6.6. Protein Ölçümü

Süpernatandan protein tayini Lowry metoduyla yapıldı (36). Bu metodun çalışma ilkesi alkali solüsyonunda bakır-protein bileşiği oluşturarak Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifini redükte edip, mavi renk oluşturmasıdır. Ortamdaki protein yoğunluğu arttıkça rengin koyulaşması gözlenmektedir. Folin reaktifinin parçalanmadan indirgenmesi için, folin reaktifi alkali bakır-protein çözeltisine eklenerek vortekslendi. Spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda standartlar ve numuneler okundu. Standart grafiğe göre sonuçlar hesaplanarak µg/ml şeklinde ifade edildi.

3.6.7. BUN ve Kreatinin Ölçümü

BUN ve Cre ölçümü sıçanlara özel ticari kitler kullanılarak İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi Biyokimya Merkez Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.7. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler bilgisayar paket programı ile yapıldı (SPSS 16.0). Nicel veriler ortalama \pm standart sapma ve ortanca (min-max) şeklinde ifade edildi. Gruplardaki nicel değişkenlerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Normal dağılım gösteren değişkenlerin karşılaştırılmasında One-Way ANOVA analizi; çoklu karşılaştırmalarda ise homojen varyans gösteren değişkenlere post hoc Tukey testi, göstermeyen değişkenlere Tamhane T2 testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis analizi ve Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney *U* testi kullanıldı. $p \leq 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda elde edilen tüm ölçüm sonuçları Tablo 4.1. ve Tablo 4.3.'te, istatistiksel olarak p değerleri Tablo 4.2. ve Tablo 4.4.'te verilmiştir. Makroskopik görüntüler Şekil 4.1. ve 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Gruplarda GPx ve BUN sonuçları

Gruplar	GPx (U/mg protein)	BUN (mg/dl)
1 (Sham)	141 (112-178)	21 (18-27)
2 (TÜT)	103 (96-122) ^a	27 (22-31) ^a
3 (TÜT+Apo)	126 (122-158) ^b	25 (23-29) ^a
4 (TÜT+Çöz)	98 (71-121) ^{a,c}	27 (23-28) ^a

a: Sham grubuna göre, b: TÜT grubuna göre, c: TÜT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark (p≤0.05)

Tablo 4.2. Gruplar arası GPx ve BUN karşılaştırmalarındaki p değerleri

Gruplar	P GPx	P BUN
1-2	0.001	0.004
1-3	0.288	0.009
1-4	0.001	0.004
2-3	0.000	0.181
2-4	0.214	0.686
3-4	0.000	0.238

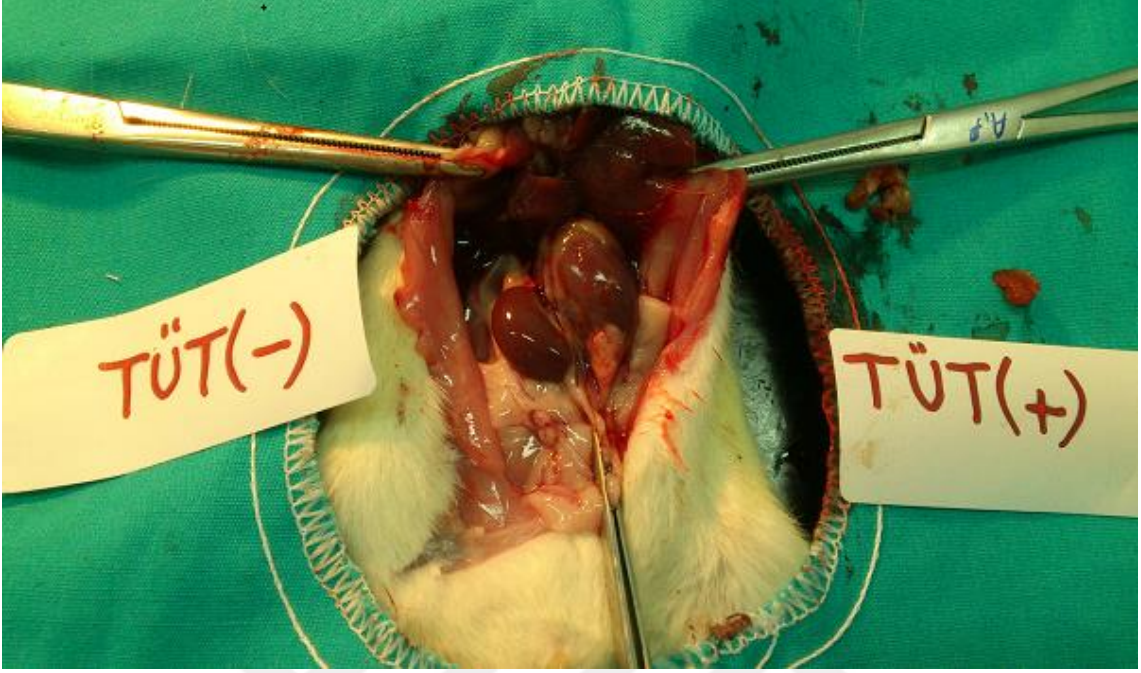
Tablo 4.3. Gruplarda SOD, CAT, GSH, MDA ve Cre sonuçları

Gruplar	SOD (U/mg protein)	CAT (K/g protein)	GSH ($\mu\text{mol/g}$ doku)	MDA (nmol/g doku)	Cre (mg/dl)
1 (Sham)	0.99 \pm 0.08	14.70 \pm 3,04	7.72 \pm 0.80	17.08 \pm 2.50	0.55 \pm 0.04
2 (TÜT)	0.84 \pm 0.11 ^a	7.35 \pm 1,74 ^a	5.27 \pm 1.13 ^a	32.51 \pm 7.54 ^a	0.58 \pm 0.04
3(TÜT+Apo)	1.00 \pm 0.08 ^b	9.57 \pm 2.30 ^a	5.74 \pm 1.32 ^a	21,85 \pm 5,18 ^b	0.60 \pm 0.06
4(TÜT+Çöz)	0.84 \pm 0.07 ^{a,c}	6.43 \pm 1.93 ^{a,c}	4.71 \pm 1.11 ^a	33.43 \pm 9.71 ^a	0.67 \pm 0.07 ^{a,b}

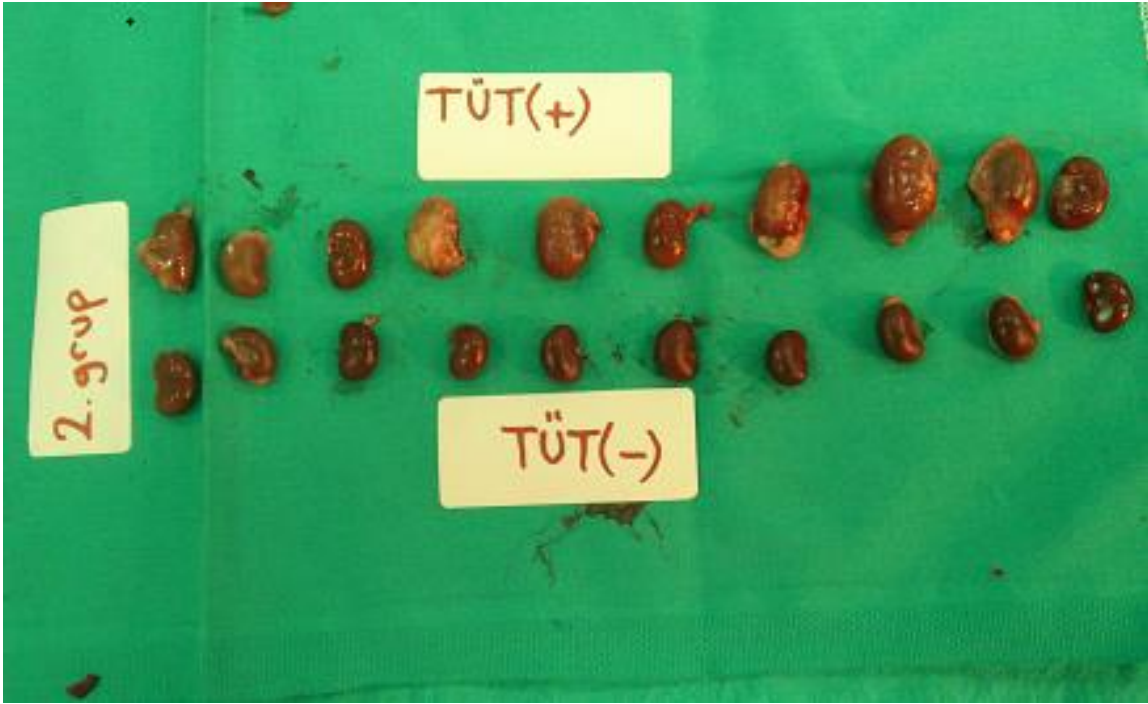
a: Sham grubuna göre, b: TÜT grubuna göre, c: TÜT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Tablo 4.4 Gruplar arası SOD, CAT, GSH, MDA ve Cre karşılaştırmalarındaki p değerleri

Gruplar	P_{SOD}	P_{CAT}	P_{GSH}	P_{MDA}	P_{Cre}
1-2	0.005	0.000	0.000	0.000	0.491
1-3	0.982	0.000	0.002	0.124	0.231
1-4	0.007	0.000	0.000	0.011	0.001
2-3	0.001	0.158	0.780	0.012	0.952
2-4	1.000	0.831	0.711	1.000	0.018
3-4	0.002	0.034	0.223	0.071	0.059



Şekil 4.1. Aynı sıçanda TÜT cerrahisi uygulanan ve uygulanmayan böbrek

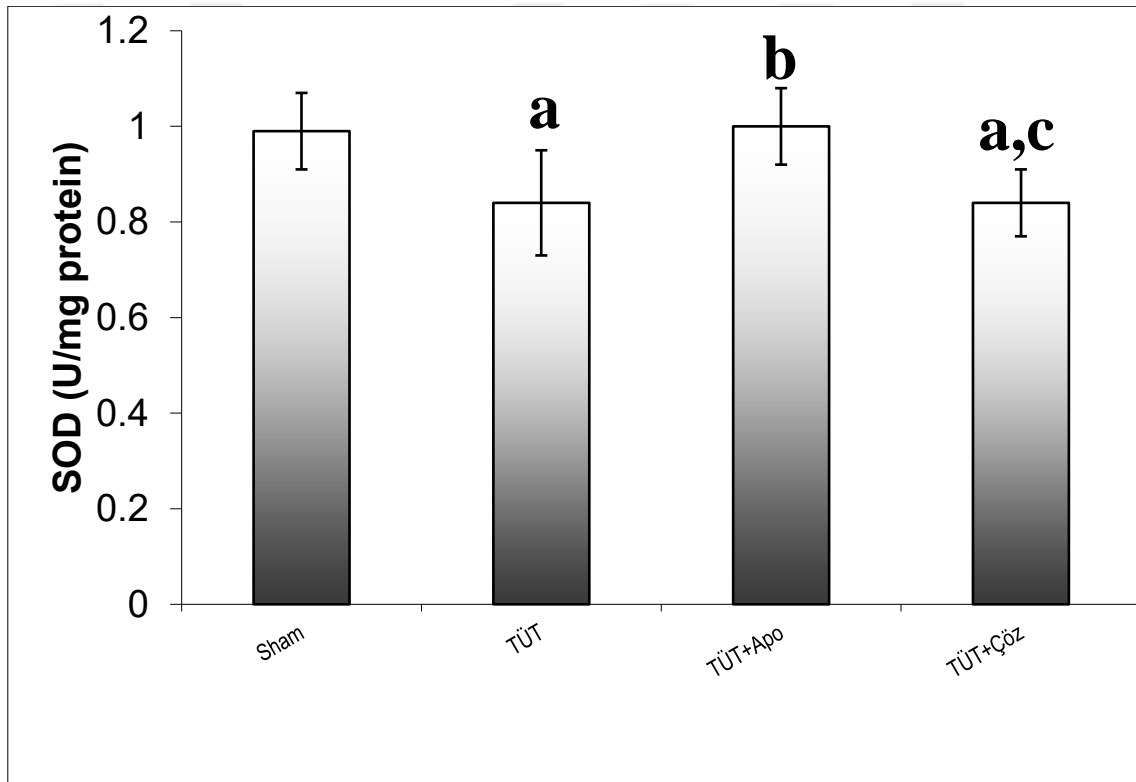


Şekil 4.2. TÜT grubundaki karşılıklı böbrek dokuları

4.1. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesi

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki SOD enzim miktarı Şekil 4.3.'te ve Tablo 4.3.'te gösterilmiştir.

- SOD aktivitesi kontrol grubu ile kıyaslandığında TÛT ve TÛT+Çöz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu ($p \leq 0.05$), TÛT+Apo grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadığı görüldü ($p > 0.05$).
- Aposinin ve çözücü uygulanan gruplar; TÛT grubu ile kıyaslandığında, sadece TÛT+Apo grubunda artma meydana gelmiş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$).
- TÛT+Çöz grubu TÛT+Apo grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oluştuğu görüldü ($p \leq 0.05$).



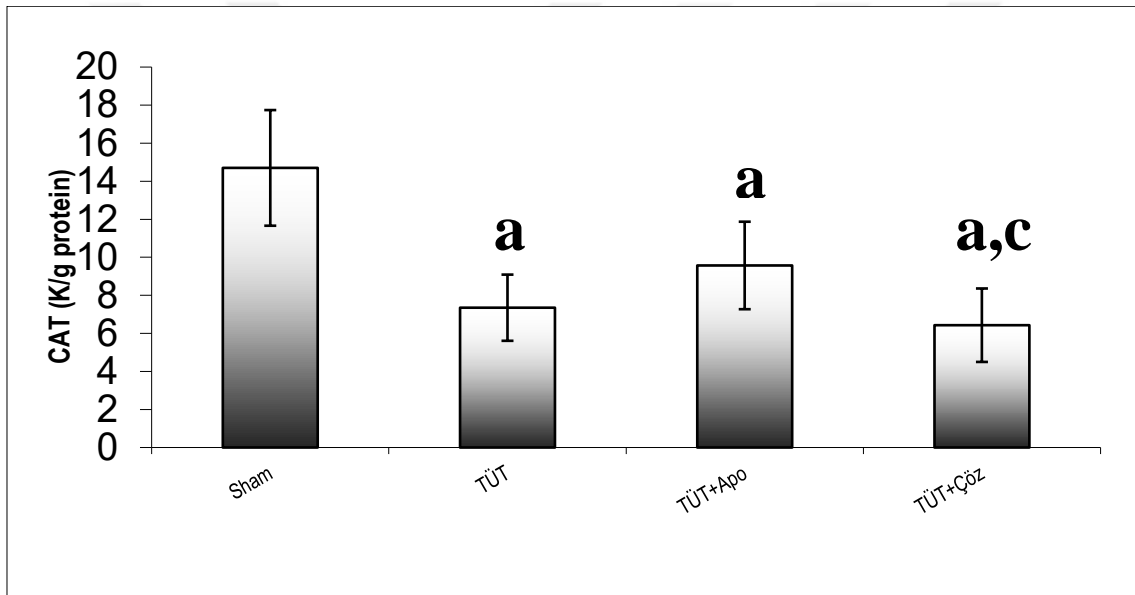
a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Şekil 4.3. Gruplardaki SOD aktiviteleri

4.2 Katalaz Enzim Aktivitesi

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki CAT enzim miktarı Şekil 4.4.'de ve tablo 4.3. ve 4.4.'te gösterilmiştir.

- CAT enzim aktivitesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında TÛT, TÛT+Apo ve TÛT+Çöz gruplarında azalma olduğu ve bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).
- Aposinin ve çözücü uygulanan gruplar, TÛT grubu ile kıyaslandığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$).
- TÛT+Çöz grubu TÛT+Apo grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma oluştuğu görüldü ($p \leq 0.05$).



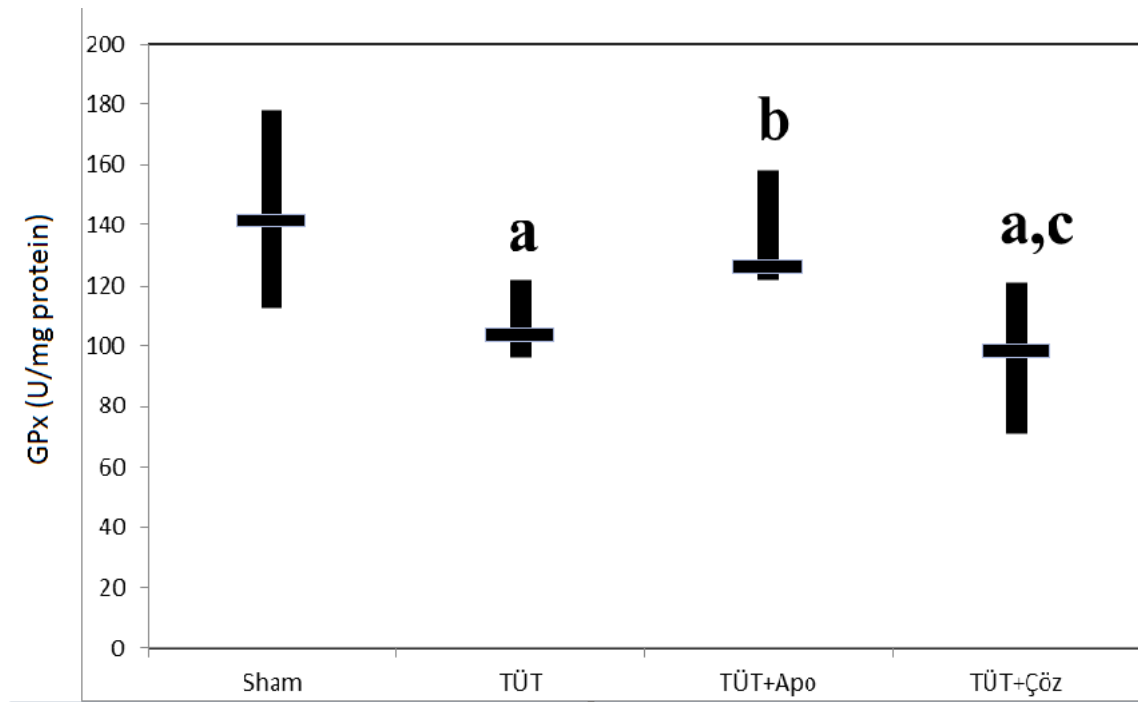
a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Şekil 4.4. Gruplardaki CAT aktiviteleri

4.3. Glutasyon Peroksidaz Enzim Aktivitesi

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki GPx enzim aktivitesi Şekil 4.5.'te ve Tablo 4.1. ve 4.2.'de gösterilmiştir.

- GPx aktivitesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında TÛT ve TÛT+Çöz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).
- TÛT+Apo grubu TÛT grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görüldü ($p \leq 0.05$).
- TÛT+Çöz grubu TÛT+Apo grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).



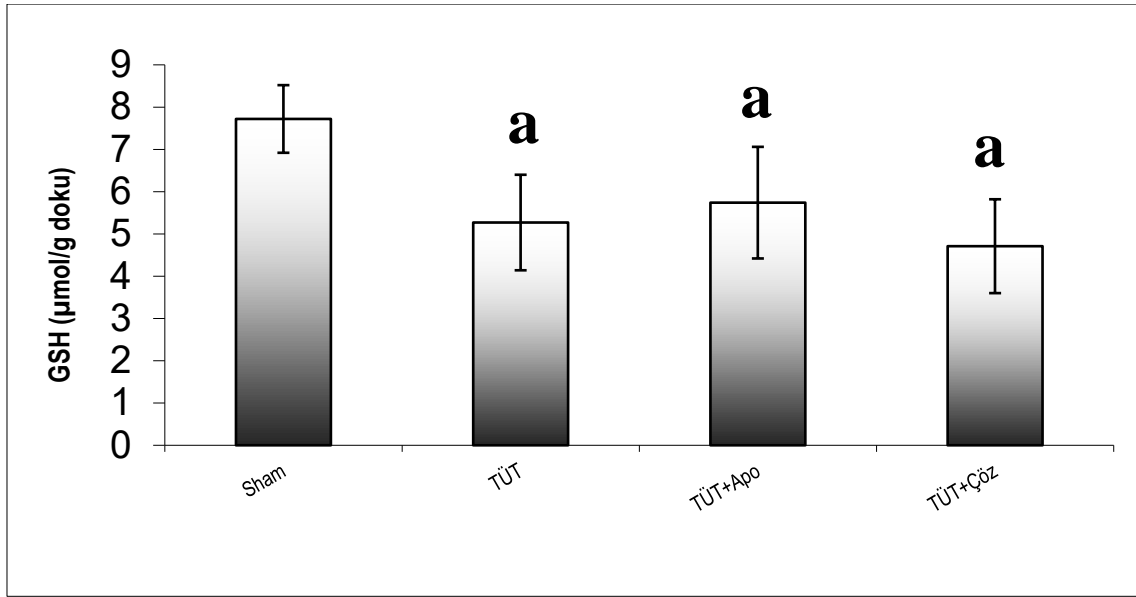
a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Şekil 4.5. Gruplardaki GPx aktiviteleri

4.4. Glutasyon Enzim Miktarı

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki glutasyon enzim miktarı Şekil 4.6.'da ve Tablo 4.3. ve 4.4.'te gösterilmiştir.

- GSH seviyesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında TÛT, TÛT+Apo ve TÛT+Çöz gruplarında azaldı ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$).
- Aposinin ve çözücü uygulanan gruplar, TÛT grubu ile kıyaslandığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$).
- TÛT+Apo grubu ile TÛT+Çöz grubu karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$).



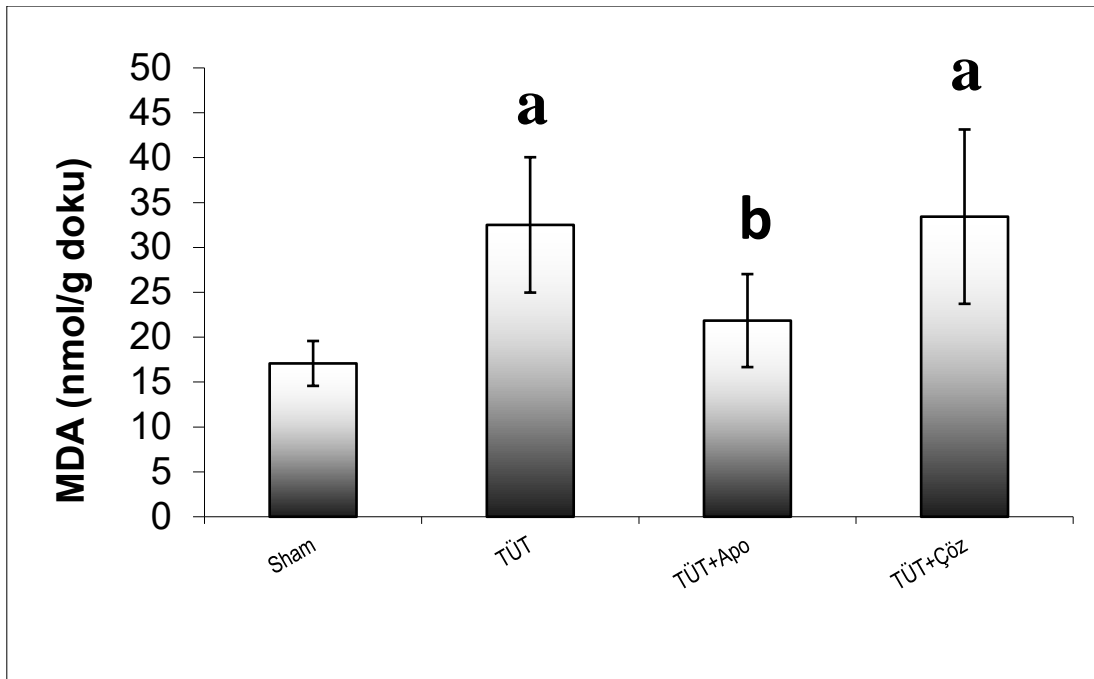
a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Şekil 4.6. Gruplardaki GSH miktarları

4.5. Malondialdehit Enzim Miktarı

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki MDA düzeyleri Şekil 4.7.'de ve Tablo 4.3. ve 4.4.'te gösterilmiştir.

- MDA miktarı, kontrol grubu ile kıyaslandığında TÛT ve TÛT+Çöz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).
- Aposinin uygulanan grup, TÛT grubu ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).
- TÛT+Apo grubu ile TÛT+Çöz grubu karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$).



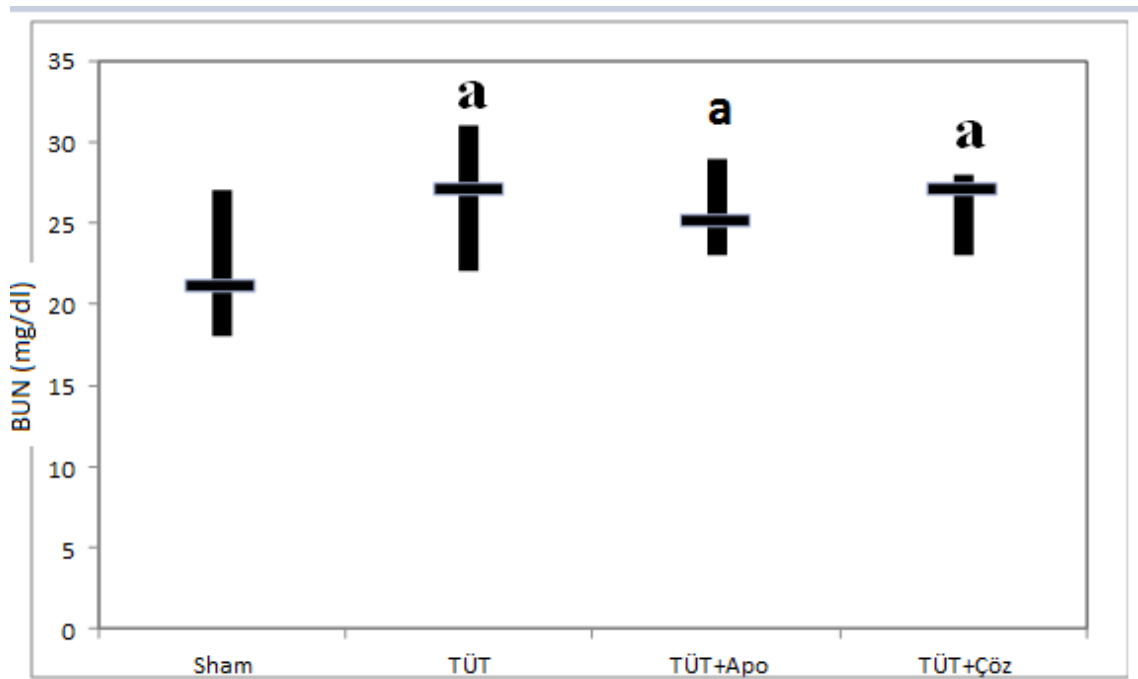
a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0,05$)

Şekil 4.7. Gruplardaki MDA miktarları

4.6. BUN Değerleri

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki BUN düzeyleri Şekil 4.8.'de ve Tablo 4.1. ve 4.2.'de gösterilmiştir.

- BUN seviyesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında TÛT, TÛT+Apo ve TÛT+Çöz gruplarında arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bir olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).
- Aposinin ve çözücü uygulanan gruplar, TÛT grubu ile kıyaslandığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$).
- TÛT+Apo grubu ile TÛT+Çöz grubu karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görüldü ($p > 0.05$).



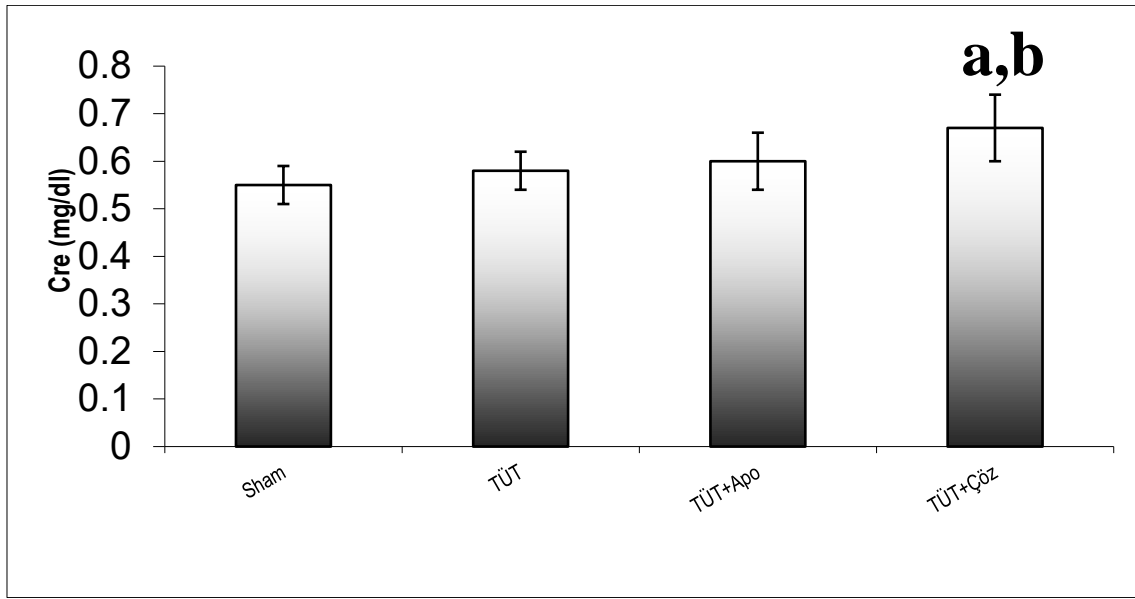
a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Şekil 4.8. Gruplardaki BUN miktarları

4.7. Kreatinin Değerleri

Tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası gruplar arasındaki Cre düzeyleri şekil 4.9.'da ve Tablo 4.3. ve 4.4.'te gösterilmiştir.

- Cre seviyesi, kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece TÛT+Çöz grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).
- TÛT+Çöz grubu TÛT grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü ($p \leq 0.05$).



a: Sham grubuna göre, b: TÛT grubuna göre, c: TÛT+Apo grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark ($p \leq 0.05$)

Şekil 4.9. Gruplardaki Cre miktarları

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçanlarda tek taraflı üreter tıkanıklığı sonrası böbrek fonksiyonları ile böbrek parankiminde gelişen tıkanmaya bağlı oksidatif stresin rolü ve NADPH oksidaz enzim inhibitörü olan aposininin etkisi araştırıldı.

TÜT; en yaygın karşılaşılan günlük ürolojik problemlerden biridir (49). Tıkanıklık; idrar yollarının herhangi bir yerinde görülebilir. Yetişkinlerde en sık rastlanan neden üriner taş iken; çocuklarda en sık neden doğuştandır (50). İdrar yolu tıkanıklığı; taş, tümörler, darlıklar, üreterovezikal bileşke tıkanıklığı, ektopik üreterler, ureteroseller, megaüreterler ve posterior üretral valflere sekonder olarak ortaya çıkabilir. Patogenezi anlamaya yönelik ilerlemelere karşın doğuştan hidronefrozun doğal süreci hakkında bilgiler tamamen açıklanamamıştır (51).

TÜT; kronik tıkayıcı nefropatinin karmaşık patofizyolojisini hızlandırılmış bir şekilde taklit eden kemiricilerdeki deneysel bir modelidir. Bu model insan böbrek hastalıklarında belirgin olan inflamasyon ve fibrozisin önemli yönlerini gösterir. Tıkanmayı takiben artan hidrostatik basınç; apoptozis, nekroz, interstisyel inflamatuvar infiltrasyon, kapillerlerin azalması ve renal parankim kaybı, miyofibroblast aktivasyonu ile ekstrasellüler matriks depolanması sonucu ilerleyici fibrozun neden olduğu tübüler hücre ölümünü başlatır (52).

Çalışmamda böbrek ağırlıklarının kayıt edilmemesi bir eksiklik olarak değerlendirilebilir. Ancak TÜT uygulanan deney hayvanlarının sol böbreklerinde gözle görülebilir hacimsel büyüme oluştu. Wongmekiat ve arkadaşları 7 günlük TÜT uyguladıkları sıçanlarda sol böbreklerin sham grubuna göre büyüdüğünü tespit etmiştir (53).

Kreatinin, kastaki kreatin fosfatın parçalanma ürünüdür ve genellikle kas kütesine bağlı olarak vücut tarafından oldukça sabit bir oranda üretilir. Kreatinin, böbrek fonksiyonlarının bir ölçüsü olarak sıkça kullanılır (54).

Üre, karaciğer tarafından üretilen ve hücre içi ile hücre dışı sıvı boyunca dağılan, protein ve amino asit katabolizmasının önemli azotlu son ürünüdür. Böbreklerde glomerüller ile kandan filtrelenir ve kısmen su ile reabsorbe edilir (55). Böbrek fonksiyonunu tahmin etmek için en sık belirlenen klinik indeks serumdaki üre konsantrasyonuna bağlıdır. Artmış BUN; böbrek hastalığı veya yetmezliği, üriner taş, konjestif kalp yetmezliği, dehidrasyon, ateş, şok ve sindirim sistemindeki kanamayla bağlantılı olarak görülür (54).

TÜT modelinde karşı taraf böbrek sağlam olduğu için 2 haftaya kadar BUN ve kreatinin düzeylerinin stabil kaldığı gösterilmiştir (56). Çalışmamda sham grubuna göre; Aposinin verilmeyen TÜT grubunda BUN değerinde anlamlı artış bulunurken, Aposinin verilen gruptaki

artış anlamlı değildi. Kreatinin düzeyi ise sadece çözücü verilen TÛT grubunda anlamlı artış gösterdi. Daha önce yapılan çalışmalarda da sham grubuna göre TÛT grubundaki BUN ve Cre artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (57, 58).

Tıkaçıcı üropati; idrar akımının engellenmesi nedeniyle kalıcı böbrek hasarı ve böbrek fonksiyon kaybı ile sonuçlanır (59). Akut tıkanma, böbreklerde zincirleme olayların başlamasını tetikler. İlk olarak böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon azalır. Birkaç gün içinde hidronefroz gelişimini takiben interstisyel inflamatuvar infiltrasyon, apoptoz ve nekroz gelişir (50).

Çalışmamda TÛT ve oksidatif stres ilişkisi incelendi. Hücrelerde normalde oksidanlar ile antioksidan sistem arasındaki var olan dengenin oksidanlar lehine bozulması durumuna oksidatif stres denir (60). Serbest oksijen türleri (örneğin; süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri), oksijen metabolizması sırasında normal olarak üretilen ara maddelerdir. Yapılan araştırmalar; tıkanmış böbreklerde azalmış antioksidan ekspresyonunun ve artmış serbest oksijen türlerinin düzeylerinin, öncelikli olarak tubulointerstisyel hasar ve fibrojenize neden olduğunu göstermiştir (61). Ayrıca yapılan son araştırmalarda bu zararlı türlerin TÛT patogenezindeki rolünün aşikar olduğunu ortaya koymuştur (62-64). Serbest oksijen türlerinin; proteinler, lipidler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve diğer moleküllere zarar verdikleri ve inflamasyon, apoptoz, fibroz ile hücre çoğalmasına yol açtığı gösterilmiştir (65).

Sıçanlarda TÛT uygulandıktan sonraki 4 saat içinde böbrek dokusunda makrofajların sayısı artmaktadır. Oksidatif hasarlı protein ürünü olan N^ε-karboksimetil lizin ve modifiye aminoasit olan 3-nitrotirozin; oksidan DNA hasarını gösteren 8-hidroksi-2-deoksiguanozin; lipid peroksidasyonunu gösteren MDA, 8-izoprostaglandin F2 α , 4-HNE veya 4-HHE gibi çeşitli oksidatif stres belirteçlerinin TÛT uygulanan böbreklerde arttığı gösterilmiştir (52). Bu çalışmada da oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyon ürünü olan MDA'nın sham grubuna göre TÛT grubunda anlamlı şekilde arttığı görüldü (Şekil 4.5.). Dursun ve arkadaşlarının sıçanlarda TÛT oluşturdukları bir araştırmada 14 gün, Ozturk ve arkadaşlarının da 21 gün sonunda böbrek dokusunda MDA artışının sham grubuna göre anlamlı şekilde arttığı gösterilmiştir (50, 51).

GSH antioksidan sistemi, en dikkat çekici hücrel koruyucu mekanizma olarak bilinmektedir. GSH, birkaç enzim için indirgeyici etkilerinin yanı sıra, hidroksil radikalleri ve singlet oksijenin süpürülmesini sağlayarak serbest oksijen radikal hasarına karşı korunmada çok önemli bir role sahiptir. TÛT 'ün neden olduğu nefrotoksisite gibi artmış ROS oluşumu durumlarında GSH'ın azalması yaygın bir sonuçtur (66). Bulgularımız incelendiğinde TÛT uygulanan tüm gruplarda GSH miktarının sham grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı görülmektedir (Şekil 4.3.)

SOD, GPx ve CAT gibi antioksidan enzimler hücrelerin ROS tarafından hasar görmesini önlemede rol oynamaktadır (67). SOD, süperoksidi daha zayıf radikal olan hidrojen perokside çevirir. Hidrojen peroksit daha sonra substrat olarak GSH kullanılarak GPx tarafından suya dönüştürülür. GPx enzim aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (68). CAT enzimi hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırır. SOR'un aşırı üretimi, dokulara oksidatif hasar verdiği için homeostaz için ciddi bir sorun oluşturur. SOR'un bu yan etkileri; SOD, GPx ve katalazın rol aldığı doğal antioksidan yollarla sınırlanabilir. (69).

TÜT dahil çeşitli deneysel fibrotik böbrek modellerinde azalmış antioksidan savunmalar ile birlikte; artmış serbest radikal oluşumu, lipid peroksidasyonu, oksidatif protein ve DNA hasarı gözlenmiştir (52, 59, 70-72). Bu çalışmada TÜT ve TÜT+Çöz gruplarında böbrek SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinin sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir derecede azaldığı görüldü (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3.).

TÜT patogeneğinde rol oynayan oksidatif strese karşı; timokinon, nikorandil, alfa-lipoik asit, melatonin, montelukast sodyum, N-asetil sistein, fimasartan ve sülfosalazin gibi birçok maddenin antioksidan etkileri üzerine çalışılmıştır (73-79). Aposininin karbon tetra klorür ile indüklenmiş karaciğer hasarında, gentamisine bağlı böbrek hasarında, iyonize radyasyona bağlı bağırsak hasarında, endotoksine bağlı akciğer hasarında, iskemi reperfüzyona bağlı testis hasarında, bleomisine ve cisplatine bağlı akciğer hasarlarında olmak üzere daha birçok çalışmada antioksidan etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (80-86).

Aposinin; tıbbi bitkilerden biri olan pikrohiza'nın kök ekstraktlarının bir bileşenidir. ROS üretimine neden olan NADPH oksidazları inhibe eder ve ROS süpürücü etkileri vardır (87-89). Tüm NADPH oksidaz ailesi üyeleri oksijeni süperoksite indirgemek için elektron taşırlar. Süperoksit ilk oluşan öncü bir ROS molekülüdür. Süperoksit; hidrojen peroksit veya peroksinitrit gibi daha toksik ROS'a dönüşebilir (90). NADPH oksidazlar böbrek genelinde yaygın olarak bulunur ve intrarenal oksidatif stresin önemli bir kaynağıdır. Metabolik uyarılar NADPH oksidaz üretimini ve aktivitesini artırır. NADPH oksidaz tarafından üretilen ROS, metabolik hastalıklarla ilgili glomerüler hastalıkların patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu nedenle, antioksidanlar tarafından oksidatif stresin azaltılmasına yönelik yaklaşımların metabolik hastalıkla ilişkili böbrek hasarını önleme ve tedavi etme potansiyeli olabilir (91). Oksidatif streste aposininin potansiyel yararlarına rağmen, bazı deneysel modellerde etkileri tam olarak anlaşılammıştır ve hatta prooksidan etkisi bildirilmiştir (92, 93).

Bu çalışmada TÜT+Aposinin grubuna TÜT cerrahisinden itibaren 14 gün boyunca tamponize %2'lik alkollü salin içerisinde çözülmüş olarak i.p. yoldan 25 mg/kg Aposinin

verildi. Literatürde her ne kadar değişik dozlarda (genellikle 20-100 mg/kg) ve çözücülerde Aposinin verilmesine rağmen antioksidan veya antiinflamatuvar etkilerinin, bu dozda kullanıldığında ortaya çıktığı tespit edildi (94, 95). Aposinin çözücüsünün etkilerini gösterebilmek için sadece çözücü verilen TÛT+Çözücü grubu oluşturuldu.

Tezimin temel düşüncesini oluşturan Aposininin oksidatif strese etkisini görmek için ölçtüğüm parametre olan MDA düzeyine bakıldığında; kontrol grubuna göre TÛT grubundaki anlamlı bir şekilde artmış böbrek dokusu MDA düzeyinin TÛT+Aposinin grubunda belirgin bir şekilde azaldığı ve sham grubuna yaklaştığı görüldü. NADPH oksidaz inhibitörü rolüne ilaveten, aposininin bu enzimden bağımsız bir yol ile ROS'u azalttığı da gözlemlenmiştir (96). Heumuller ve ark. aposininin ROS üretiminde serbest radikal süpürücü gibi davrandığını göstermiştir (88). Dahası, aposininin araşidonik asit metabolizmasını etkilediği ve siklooksijenaz aktivitesini inhibe ettiği tespit edilmiştir (97, 98). Yine bir çalışma da aposininin tedavisinin, böbreklerde NADPH oksidaz türevi süperoksit anyonu üretimini ve MDA düzeylerini düşürdüğünü; ayrıca iskemi-reperfüzyon ile indüklenen histolojik hasarını düzelttiği gösterilmiştir (96).

Aposininin antioksidan etkilerini araştırmak için SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile GSH düzeyi ölçüldü. Bunlardan SOD ve GPx enzim aktiviteleri TÛT+Aposinin grubunda TÛT grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdi. Daha önce birçok farklı dokuda yapılan çalışmalarda da benzer şekilde aposininin bazı antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı rapor edilmiştir (99-103).

CAT aktivitesi ve GSH düzeyinde de anlamlı olmayan artışlar görüldü. Aposininin antioksidan etkisine direncin nedeni; TÛT ile artan ROS ürünlerinin NADPH oksidaz dışındaki ksantin oksidaz, mitokondriyal elektron zinciri ve nitrik oksit sentaz (iNOS) gibi kaynaklardan oluşumunun inhibe edilmemesi olabilir (104).

Chandasana ve ark. tarafından insanlarda aposininin farmakokinetik, biyoyararlanım ve metabolizması değerlendirilmiştir (105). Wang ve ark., sıçanlarda hidrasyon terapisiyle birlikte aposininin kontrollü bir şekilde ağızdan başarıyla uygulanabildiğini rapor etmiştir (106). Roberto ve ark.'nın sıçanlarda siklosporin ile oluşturdukları hipertansiyon modelinde aposininin hem hemodinamik değişiklikleri düzelttiği hem de nitrik oksit ve süperoksit radikallerini azalttığı gösterilmiştir (107).

Sonuç olarak; tek taraflı üreter tıkanıklığında karşı taraf böbrek sağlam olduğu için serum kreatinin ve BUN düzeyinde belirgin değişiklik olmadığı; ancak böbrek dokusunda MDA artışı ile birlikte antioksidan etkinliği olan SOD, CAT ve GPx enzimlerine ilaveten GSH miktarlarının azalması oksidatif stresi yansıttığı; SOR üretimini arttıran NADPH oksidaz

enziminin Aposinin tarafından inhibe edilmesiyle MDA'nın azalması ile birlikte SOD ve GPx enzim aktivitelerinin artarak oksidatif stresin azaldığı tespit edilmiştir. Aposinin bu ve diğer çalışmalar birlikte göz önüne alındığında TT dahil birçok patolojik durumda tedavide yararları olabilir.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaptığımız çalışma sonucunda,

1. Üreter tıkanıklık, tıkanıklığın oluştuğu böbrekte serum BUN ve Cre düzeylerini az da olsa arttırmaktadır.
2. Tek taraflı üreter tıkanıklık oksidatif hasara yol açar. SOD, CAT, GPx ve GSH düzeylerini azaltırken, MDA miktarının artmasına sebep olur.
3. Aposinin, tek taraflı üreter tıkanıklıktaki böbrek oksidatif hasarını azaltmasıyla ilişkili olarak CAT, SOD ve GPx düzeylerini artırarak; MDA düzeyini ise azalttığına dair bulgular çalışmamızda gösterilmiştir.
4. Aposinin, ayrıca tek taraflı üreter tıkanıklığa bağlı BUN ve Cre düzeylerine karşı da etkilidir.
5. Aposininin tek taraflı üreter tıkanıklığı hasarına karşı sadece oksidatif parametreler yönüyle etkili olması yeterli değildir. Etkisinin tam olarak ortaya konulabilmesi için histolojik, immünolojik ve moleküler biyolojik çalışmalar ile sonuçlarımızın desteklenmesi gerekmektedir. Bu sebeple yeni çalışmalar planlanabilir.

KAYNAKLAR

1. Akcora B, Altug ME, Hakverdi S, Kontas T, Ozturk A, Bayraktar S. Effects of caffeic acid phenethyl ester on renal damage in rabbits with partial ureteral obstruction. *J Exp Clin Med* 2009, 26: 163-8.
2. Efrati S, Berman S, Chachashvili A, Cohen N, Siman Tov Y, Averbukh Z, Weissgarten, J. Rosiglitazone treatment attenuates renal tissue inflammation generated by urinary tract obstruction. *Nephrology* 2009, 14: 189–197.
3. Koff SA, Peller PA. Diagnosis criteria for assessing obstruction in the newborn with unilateral hydronephrosis using the renal growth-renal function chart. *J Urol* 1995, 254: 662–6.
4. Daly JW, Axelrod J, Witkop B. Dynamic aspects of enzymatic O-methylation and -demethylation of catechols in vitro and in vivo. *J Biol Chem* 1960, 235: 1155–59.
5. Stefanska J, Pawliczak R. Apocynin: molecular aptitudes. *Mediators Inflamm* 2008, 2008: 106507.
6. Çağlar Ş. *Klinik Nefroloji*, 2. Baskı. Ankara, Medial Yayınları 1986: 1.
7. Köylü H. *Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji*, 2. Baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri 2016: 287.
8. Hatiboğlu M.T. *Anatomi ve Fizyoloji*, 15. Baskı. Ankara, Hatiboğlu Yayınları 2009: 218, 219.
9. Arifoğlu Y. *Her Yönüyle Anatomi*, 1. Baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri 2016: 393.
10. Müftüoğlu YZ, Anafarta K. Böbrek Fizyolojisi. İçinde: Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y (editörler). *Temel Üroloji*. 3. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Yayınevi 2007: 27.
11. Yalçın Ö. Sıvı ve Elektrolit Dengesinin Düzenlenmesi. İçinde: *Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri*, Açar E (Çeviri editörleri). *Medical Physiology Principles for Clinical Medicine*, Rhoades RA, Bell DR. 4. Baskı, İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri 2017: 400, 403, 438.
12. Erbaş O. *Prospektus Fizyoloji-Histoloji*, 1. Baskı. Ankara, Klinisyen Tıp Kitabevleri 2008: 454.
13. Şentürk ÜK. Böbreklerde İdrar Oluşumu: Glomerül Filtrasyonu, Böbrek Kan Akımı ve Bunların Kontrolü. İçinde: *Tıbbi Fizyoloji*, Yeğen BÇ, Alican İ, Solakoğlu Z (Çeviri editörleri). *Textbook of Medical Physiology*, Guyton AC, Hall JE. 12. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2013: 304-5.
14. Bozkırlı İ. *Yeni Üroloji*, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi 1987: 10, 29-32, 216.

15. Anafarta K, Kalemli M, Özdiler E. *Genel ve Pratik Üroloji*, Ankara, Yargıçoğlu Matbaası 1980: 8.
16. Küpeli S, Küpeli B. Üriner Obstrüksiyonlar. İçinde: Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y (editörler). *Temel Üroloji*. 3. Baskı. Ankara, Güneş Tıp Yayınevi 2007: 283, 285, 296.
17. Dönmez T, Yenilmez A. *Hekimler için Üroloji*, Eskişehir, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Basımevi 2007: 18-20, 98-100.
18. Gözaydın N. Deneysel Tek Taraflı Üreter Tıkanıklığı Oluşturulan Sıçanlarda Renal Hasara Bağlı Antioksidan Cevabın Zamanla Değerlendirilmesi. Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı. *Uzmanlık Tezi*, Şanlıurfa: Harran Üniversitesi 2006.
19. Herndon A. Antenatal hydronephrosis: differential diagnosis, evaluation, and treatment options. *Sci World J* 2006, 6: 2345–65.
20. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991, 91: 145-225.
21. Canton AD, Corradi A, Stanziale R, Maruccio G, Migone L. Effects of 24-hour unilateral ureteral obstruction on glomerular hemodynamics in rat kidney. *Kidney Int* 1979, 15: 457-62.
22. Canton AD, Corradi A, Stanziale R, Maruccio G, Migone L. Glomerular hemodynamics before and after release of 24-hour bilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 1980, 17: 491-6.
23. Cendron M, Sant GR, Klauber GT. Ureteral Pathophysiology. In: Sant GR (ed). *Pathophysiologic Principles of Urology*, 1sted. Massachusetts, London, Edinburgh, Paris, Blacwell Scientific Publications 1994: 61-92.
24. Harris RH, Yarger WE. Renal function after release of unilateral ureteral obstruction in rats. *Am J Physiol* 1974, 227: 806-15.
25. Ryan PC, Maher KP, Murphy B, Hurley GD, Fitzpatrick JM. Experimental partial ureteric obstruction; pathophysiological changes in upper tract pressures and renal blood flow. *J Urol* 1987, 138: 674-8.
26. Bird JE, Evan AP, Peterson OW, Blantz RC. Early events in ischemic renal failure in the rat; effects of antioxidant therapy. *Kidney Int* 1989, 35: 1282-9.
27. Gillenwater JY. The Pathophysiology of Urinary Obstruction. In: Walsh PC, Retik AB, Stamey AT, Vaughan ED (eds). *Campbell' s Urology*, 6thed. Vol. 1, Philadelphia, London, Sydney, W.B. Saunders Company 1992: 4970-5332.
28. Evans PH. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Brit Med Bull* 1993, 49: 577-87.

29. Flecha BG, Evelson P, Speziale NS, Boveris A. Hydrogen peroxide metabolism and oxidative stress in cortical, medullary and papillary zones of rat kidney. *Biochim Biophys Acta* 1993, 1157: 155-61.
30. Flitter WD. Free radicals and myocardial reperfusion injury. *Brit Med Bull* 1993, 49: 545-55.
31. Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological fluids. *Trends in Biochem Sci* 1990, 15: 129-35.
32. Obwaka H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979, 95: 351-8.
33. Young MRA, Young IS, Johnston SR, Rowlands BJ. Lipid peroxidation assessment of free radical production following release of obstructive uropathy. *J Urol* 1996, 156: 1828-32.
34. Modi KS, Morrisey J, Shah SV, Schriener GF, Klahr S. Effects of probucol on renal function in rats with bilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 1990, 38: 843-50.
35. Anderson ME, Meister A. Glutathione moesters. *Anal Biochem* 1989, 183: 16-20.
36. Polat A. Safra Kanalı Ligasyonu Yapılmış Sığıçanlarda Aspirinle Oluşturulan Mide Doku Hasarında Melatoninin etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı. *Uzmanlık tezi*, Malatya: İnönü Üniversitesi 2004.
37. Stolk J, Hiltermann TJ, Dijkman JH, Verhoeven AJ. Characteristics of the inhibition of NADPH oxidase activation in neutrophils by apocynin, a methoxy-substituted catechol. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994, 11: 95–102.
38. Picchi A, Gao X, Belmadani S, Potter BJ, Focardi M, Chilian WM, Zhang C. Tumor necrosis factor- α induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. *Circ Res* 2006, 99: 69–77.
39. Barbieri SS, Cavalca V, Eligini S, Brambilla M, Caiani A, Tremoli E, Colli S. Apocynin prevents cyclooxygenase 2 expression in human monocytes through NADPH oxidase and glutathione redox-dependent mechanisms. *Free Radic Biol Med* 2004, 37: 156–65.
40. Pechánová O, Jendeková L, Vranková S. Effect of chronic apocynin treatment on nitric oxide and reactive oxygen species production in borderline and spontaneous hypertension. *Pharmacol Rep* 2009, 61: 116–22.
41. Meng R, Zhu DL, Bi Y, Yang DH, Wang YP. Apocynin improves insulin resistance through suppressing inflammation in high-fat diet-induced obese mice. *Mediators Inflamm* 2010, 858.
42. Liu PG, He SQ, Zhang YH, Wu J. Protective effects of apocynin and allopurinol on ischemia/reperfusion-induced liver injury in mice. *World J Gastroenterol* 2008, 14: 2832–7.

43. Lu LS, Wu CC, Hung LM, Chiang MT, Lin CT, Lin CW, Su MJ. Apocynin alleviated hepatic oxidative burden and reduced liver injury in hypercholesterolaemia. *Liver Int* 2007, 27: 529–37.
44. Wang Q, Smith RE, Luchtefeld R, Sun AY, Simonyi A, Luo RS, et al. Bioavailability of apocynin through its conversion to glycoconjugate but not to diapocynin. *Phytomedicine* 2008, 15(6-7): 496-503.
45. Aebi H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*, Bergmeyer U (ed.). *Academic Press: New York and London* 1974: 673–7.
46. Oksante Ar-Ge Laboratuvarı
<http://www.oksante.com.tr/Oksantest>. Erişim Tarihi 10 Mart 2016.
47. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959, 82: 70–7.
48. Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1978, 34: 271–278.
49. Yeh CH, Chiang HS, Lai TY, Chien CT. Unilateral Ureteral Obstruction Evokes Renal Tubular Apoptosis via the Enhanced Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum Stress in the Rat. *Neurol Urodyn* 2011, 30(3): 472-9.
50. Dursun M, Otunctemur A, Ozbek E, Sahin S, Besiroglu H, Ozsoy OD, et al. Protective effect of hydrogen sulfide on renal injury in the experimental unilateral ureteral obstruction. *Int Braz J Urol* 2015, 41 (6): 1185-93.
51. Ozturk H, Firat T, Tekce BK, Yilmaz F, Ozturk H. Effects of nicorandil on renal function and histopathology in rats with partial unilateral ureteral obstruction. *Kaohsiung J Med Sci* 2017, 33(5): 236-45.
52. Dendooven A, Ishola DA, Nguyen TQ, Van der Giezen DM, Kok RJ, Goldschmeding R, et al. Oxidative stress in obstructive nephropathy. *Int J Exp Pathol* 2011, 92(3): 202-10.
53. Wongmekiat O, Leelarungrayub D, Thamprasert K. Alpha-Lipoic Acid Attenuates Renal Injury in Rats with Obstructive Nephropathy. *BioMed Res Int* 2013.
54. Gowda S, Desai PB, Kulkarni SS, Hull VV, Math AA, Vernekar SN. Markers of renal function tests. *N Am J Med Sci* 2010, 2(4):170-3.
55. Corbett JV. Laboratory tests and diagnostic procedures in orthopedic nursing practice. *Nurs Clin North Am* 1998, 33(4):685-700.
56. Liu ZC, Chow KM, Chang TMS. Evaluation of two protocols of uremic rat model: Partial nephrectomy and infarction. *Ren Fail* 2003, 5(6):935-43.

- 57.** Otunctemur A, Ozbek E, Cakir SS, Polat EC, Dursun M, Cekmen M, et al. Pomegranate extract attenuates unilateral ureteral obstruction-induced renal damage by reducing oxidative stress. *Urol Ann* 2015, 7(2):166-71.
- 58.** Ning XH, Ge XF, Cui Y, An HX. Ulinastatin inhibits unilateral ureteral obstruction-induced renal interstitial fibrosis in rats via transforming growth factor beta (TGF-beta)/Smad signalling pathways. *Int Immunopharmacol* 2013, 15(2): 406-13.
- 59.** Zecher M, Guichard C, Velasquez MJ, Figueroa G, Rodrigo R. Implications of oxidative stress in the pathophysiology of obstructive uropathy. *Urol Res* 2009, 37(1): 19-26.
- 60.** Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: *Oxford University Press* 1999. xxxi, 936 p., 19 p. of plates p.
- 61.** Ricardo SD, Ding GH, Eufemio M, Jr D. Antioxidant expression in experimental hydronephrosis: Role of mechanical stretch and growth factors. *Am J Physiol-Renal* 1997, 272(6): 789-98.
- 62.** Ricardo SD, Ding G, Eufemio M, Diamond JR. Antioxidant expression in experimental hydronephrosis: role of mechanical stretch and growth factors. *Am J Physiol* 1997, 272(6 Pt 2): 789-98.
- 63.** Saborio P, Krieg RJ, Jr., Kuemmerle NB, Norkus EP, Schwartz CC, Chan JC. Alpha-tocopherol modulates lipoprotein cytotoxicity in obstructive nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2000, 4(8-9): 740-6.
- 64.** Kawada N, Moriyama T, Ando A, Fukunaga M, Miyata T, Kurokawa K, et al. Increased oxidative stress in mouse kidneys with unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 1999, 56(3): 1004-13.
- 65.** Atilgan D, Parlaktas BS, Uluocak N, Erdemir F, Firat F, Erkorkmaz U, et al. Effects of melatonin on partial unilateral ureteral obstruction induced oxidative injury in rat kidney. *Urol Ann* 2012, (2): 89-93.
- 66.** Abdel-Raheem IT, Abdel-Ghany AA, Mohamed GA. Protective effect of quercetin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Biol Pharm Bull* 2009, 2(1): 61-7.
- 67.** Afonso V, Champy R, Mitrovic D, Collin P, Lomri A. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Joint, bone, spine : Rev Rhum* 2007, 74(4): 324-9.
- 68.** Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Reviews* 1979, 59(3): 527-605.
- 69.** Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol reviews* 2014, 94(2): 329-54.

- 70.** Manucha W. Biochemical-molecular markers in unilateral ureteral obstruction. *Biocell* 2007, 31(1): 1-12.
- 71.** Demirbilek S, Emre MH, Aydin EN, Edali MN, Aksoy RT, Akin M, et al. Sulfasalazine reduces inflammatory renal injury in unilateral ureteral obstruction. *Pediatr Nephrol* 2007, 22(6): 804-12.
- 72.** Johnson TS, Griffin M, Thomas GL, Skill J, Cox A, Yang B, et al. The role of transglutaminase in the rat subtotal nephrectomy model of renal fibrosis. *J Clin Invest* 1997, 99(12): 2950-60.
- 73.** Hosseinian S, Rad AK, Bideskan AE, Soukhtanloo M, Sadeghnia H, Shafei MN, et al. Thymoquinone ameliorates renal damage in unilateral ureteral obstruction in rats. *Pharmacological reports : PR* 2017, 69(4): 648-57.
- 74.** Ozturk H, Firat T, Tekce BK, Yilmaz F, Ozturk H. Effects of nicorandil on renal function and histopathology in rats with partial unilateral ureteral obstruction. *Kaohsiung J Med Sci* 2017, 33(5): 236-45.
- 75.** Cho HS, Kim JH, Jang HN, Lee TW, Jung MH, Kim TH, et al. Alpha-lipoic acid ameliorates the epithelial mesenchymal transition induced by unilateral ureteral obstruction in mice. *Sci Reports* 2017, 7: 460-65.
- 76.** Yildirim ME, Badem H, Cakmak M, Yilmaz H, Kosem B, Karatas OF, et al. Melatonin protects kidney against apoptosis induced by acute unilateral ureteral obstruction in rats. *Cent European J Urol* 2016, 9(2): 225-30.
- 77.** Sunay M, Karakan T, Aydin A, Koca G, Borcek P, Ogus E. Do Montelukast Sodium and N-Acetylcysteine Have a Nephroprotective Effect on Unilateral Ureteral Obstruction? A Placebo Controlled Trial in a Rat Model. *J Urol* 2015, 194(4): 1132-7.
- 78.** Kim S, Kim SJ, Yoon HE, Chung S, Choi BS, Park CW, et al. Fimasartan, a Novel Angiotensin-Receptor Blocker, Protects against Renal Inflammation and Fibrosis in Mice with Unilateral Ureteral Obstruction: the Possible Role of Nrf2. *Int J Med Sci* 2015, 2(11): 891-904.
- 79.** Demirbilek S, Emre MH, Aydin EN, Edali MN, Aksoy RT, Akin M, et al. Sulfasalazine reduces inflammatory renal injury in unilateral ureteral obstruction. *Pediatr Nephrol* 2007, 22(6): 804-12.
- 80.** Rahman MM, Muse AY, Khan D, Ahmed IH, Subhan N, Reza HM, et al. Apocynin prevented inflammation and oxidative stress in carbon tetra chloride induced hepatic dysfunction in rats. *Biomed Pharmacother* 2017, 92: 421-8.
- 81.** Abdelrahman RS. Protective effect of apocynin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol* 2017.

- 82.** Cagin YF, Parlakpınar H, Polat A, Vardi N, Atayan Y, Erdogan MA, et al. The protective effects of apocynin on ionizing radiation-induced intestinal damage in rats. *Drug Dev Ind Pharm* 2016, 42(2): 317-24.
- 83.** Abdelmageed ME, El-Awady MS, Suddek GM. Apocynin ameliorates endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Int Immunopharmacol* 2016, 30: 163-70.
- 84.** Sener TE, Yuksel M, Ozyilmaz-Yay N, Ercan F, Akbal C, Simsek F, et al. Apocynin attenuates testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg* 2015, 50(8): 1382-7.
- 85.** Kilic T, Parlakpınar H, Taslidere E, Yildiz S, Polat A, Vardi N, et al. Protective and therapeutic effect of apocynin on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Inflammation* 2015, 38(3): 1166-80.
- 86.** Cagin YF, Erdogan MA, Sahin N, Parlakpınar H, Atayan Y, Polat A, et al. Protective Effects of Apocynin on Cisplatin-induced Hepatotoxicity in Rats. *Arch Med Res* 2015, 46(7): 517-26.
- 87.** Altenhofer S, Radermacher KA, Kleikers PWM, Wingler K, Schmidt HHHW. Evolution of NADPH Oxidase Inhibitors: Selectivity and Mechanisms for Target Engagement. *Antioxid Redox Signal* 2015, 23(5): 406-27.
- 88.** Heumuller S, Wind S, Barbosa-Sicard E, Schmidt HHHW, Busse R, Schroder K, et al. Apocynin is not an inhibitor of vascular NADPH oxidases but an antioxidant. *Hypertension* 2008, 51(2): 211-7.
- 89.** Touyz RM. Apocynin, NADPH oxidase, and vascular cells - A complex matter. *Hypertension* 2008, 51(2): 172-4.
- 90.** Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Reviews* 2007, 87(1): 315-424.
- 91.** Wan C, Su H, Zhang C. Role of NADPH Oxidase in Metabolic Disease-Related Renal Injury: An Update. *Oxid Med Cell Longev* 2016.
- 92.** Castor LRG, Locatelli KA, Ximenes VF. Pro-oxidant activity of apocynin radical. *Free Radic Biol Med* 2010, 48(12): 1636-43.
- 93.** Kucera J, Bino L, Stefkova K, Jaros J, Vasicek O, Vecera J, et al. Apocynin and Diphenyleneiodonium Induce Oxidative Stress and Modulate PI3K/Akt and MAPK/Erk Activity in Mouse Embryonic Stem Cells. *Oxid Med Cell Longev* 2016.
- 94.** Kim SY, Moon KA, Jo HY, Jeong S, Seon SH, Jung E, et al. Anti-inflammatory effects of apocynin, an inhibitor of NADPH oxidase, in airway inflammation. *Immunol Cell Biol* 2012, 90(4): 441-8.

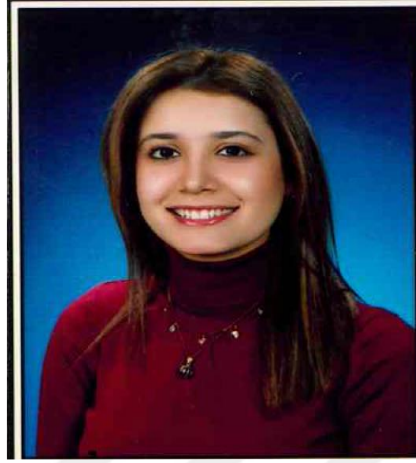
- 95.** Fan RG, Shan XX, Qian HX, Song CZ, Wu GZ, Chen Y, et al. Protective effect of apocynin in an established alcoholic steatohepatitis rat model. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2012, 34(4): 633-8.
- 96.** Choi EK, Jung H, Kwak KH, Yeo J, Yi SJ, Park CY, et al. Effects of Allopurinol and Apocynin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Transplant Proc* 2015, 47(6): 1633-8.
- 97.** Engels F, Renirie BF, Thart BA, Labadie RP, Nijkamp FP. Effects of Apocynin, a Drug Isolated from the Roots of Picrorhiza-Kurroa, on Arachidonic-Acid Metabolism. *Febs Letters* 1992, 305(3): 254-6.
- 98.** Barbieri SS, Cavalca V, Eligini S, Brambilla M, Caiani A, Tremoli E, et al. Apocynin prevents cyclooxygenase 2 expression in human monocytes through NADPH oxidase and glutathione redox-dependent mechanisms. *Free Radic Biol Med* 2004, 37(2): 156-65.
- 99.** Cagin YF, Parlakpinar H, Polat A, Vardi N, Atayan Y, Erdogan MA, et al. The protective effects of apocynin on ionizing radiation-induced intestinal damage in rats. *Drug Dev Ind Pharm* 2016, 42(2): 317-24.
- 100.** Cagin YF, Erdogan MA, Sahin N, Parlakpinar H, Atayan Y, Polat A, et al. Protective Effects of Apocynin on Cisplatin-induced Hepatotoxicity in Rats. *Med Res Arch* 2015, 46(7): 517-26.
- 101.** Kilic T, Parlakpinar H, Taslidere E, Yildiz S, Polat A, Vardi N, et al. Protective and Therapeutic Effect of Apocynin on Bleomycin-Induced Lung Fibrosis in Rats. *Inflammation* 2015, 38(3): 1166-80.
- 102.** Ozbek O, Altintas R, Polat A, Vardi N, Parlakpinar H, Sagir M, et al. The Protective Effect of Apocynin on Testicular Ischemia-Reperfusion Injury. *J Urol* 2015, 193(4): 1417-22.
- 103.** Altintas R, Polat A, Vardi N, Oguz F, Beytur A, Sagir M, et al. The Protective Effects of Apocynin on Kidney Damage Caused by Renal Ischemia/Reperfusion. *J Endourol* 2013, 27(5): 617-24.
- 104.** Wang YM, Luo X, Pan H, Huang W, Wang XP, Wen HL, et al. Pharmacological inhibition of NADPH oxidase protects against cisplatin induced nephrotoxicity in mice by two step mechanism. *Food Chem Toxicol* 2015, 83: 251-60.
- 105.** Chandasana H, Chhonker YS, Bala V, Prasad YD, Chaitanya TK, Sharma VL, et al. Pharmacokinetic, bioavailability, metabolism and plasma protein binding evaluation of NADPH-oxidase inhibitor apocynin using LC-MS/MS. *J Chromatogr B* 2015, 985: 180-8.

- 106.** Wang Q, Smith RE, Luchtefeld R, Sun AY, Simonyi A, Luo RS, et al. Bioavailability of apocynin through its conversion to glycoconjugate but not to diapocynin. *Phytother* 2008, 15(6-7): 496-503.
- 107.** Ciarcia R, Damiano S, Florio A, Spagnuolo M, Zacchia E, Squillacioti C, et al. The Protective Effect of Apocynin on Cyclosporine A-Induced Hypertension and Nephrotoxicity in Rats. *J Cell Biochem* 2015, 116(9): 1848-56.



EKLER

EK-1. Özgeçmiş



1987 yılında Malatya’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya’da tamamladı. 2007 yılında başladığı İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’ndeki eğitimini 2011 yılında bitirdi. Aynı yıl Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Yüksek lisans eğitimi sırasında birçok deneylere aktif olarak katıldı. Oksidatif stres, antioksidanlar ve üriner sistem alanlarında ulusal ve uluslararası yayınları bulunmaktadır.

2014 yılında Sanko Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda Araştırma görevlisi olarak çalışmaya başladı. Evli ve 1 erkek evlat annesi olup, iyi seviyede İngilizce bilmektedir. Akademik çalışmalar dışında kitap okumak, film izlemek, ailesiyle zaman geçirmek en sevdiği uğraşlardır.

EK-2. Etik Kurul Onayı



İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI

Toplantı Tarihi : 26-07-2012
Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
Araştırma Protokol no.su : 2012/A-82
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Türü : Rat
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyü : Spraque-dawley
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsiyeti : E D Farketmez
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : adet
Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı ve Ağırlığı : Genç Ortalama 200-250 gr

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç.Dr. Alaadin POLAT'ın yürütücüsü olduğu "Tek taraflı üreter tıkanıklığı oluşturulmuş sıçanlarda apocynin uygulamasının böbrek oksidatif hasarına etkileri" isimli 2012/A-82 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

 Prof.Dr. Yusuf TÜRKÖZ Başkan	 Doç.Dr. Abdurrahman KARAMAN Başkan Yard.	 Prof.Dr. Selim DOĞANAY Üye
 Doç.Dr. M. Arif ALADAĞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mehmet KARATAŞ Üye	 Yrd.Doç.Dr. Mustafa KARAKAPLAN Üye
 Vet.Hek.M. Zafer BOZDAĞ Üye	 Salih AVCI Sivil Üye	 Ahmet GÖNÜLLÜOĞLU Sivil Üye

