

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**PARSİYEL ÜRETERAL OBSTRÜKSİYON
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA GHRELİN'İN
BÖBREK DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Serhan ÇİMEN
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr.Cemal TAŞDEMİR

MALATYA-2014

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**PARSİYEL ÜRETERAL OBSTRÜKSİYON
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA GHRELİN'İN
BÖBREK DOKUSU ÜZERİNE ETKİLERİ**

Dr.Serhan ÇİMEN

Danışman Öğretim Üyesi : Doç.Dr.Cemal TAŞDEMİR

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından 2013/194 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA-2014

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimi hazırlama aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana destek olan tez hocam Sayın Doç. Dr. Cemal TAŞDEMİR' e, uzmanlık eğitimime her anlamda katkıda bulunan Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Ali GÜNEŞ' e, Sayın Doç. Dr. Ali BEYTUR' a, Sayın Doç. Dr. Ramazan ALTINTAŞ' a, Sayın Doç.Dr.Fatih OĞUZ' a istatistiksel analiz konusunda yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Gülsen GÜNEŞ' e, çalışmanın Histolojik ve Biyokimyasal aşamalarındaki yardımlarından dolayı Histoloji Anabilim Dalı'nda görevli Sayın Prof.Dr.Nigar VARDI ve Sayın Uz.Dr.Elif TAŞLIDERE' ye, Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı' nda görevli Sayın Doç.Dr.Burhan ATEŞ' e, bu zorlu süreçte birlikte yol aldığımız sevgili asistan arkadaşlarıma ve kliniğimiz ve ameliyathanemiz hemşire ve diğer çalışanlarına, bugünlere gelmemde emek ve desteklerini esirgemeyen Sevgili Annem ve Babama, zor günlerimde hep yanımda olan biricik eşime ve neşe kaynağımız canım oğluma içtenlikle teşekkür ederim.

Dr. Serhan ÇİMEN

TABLolar, ŐEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Tablo 1. Böbrek patolojilerine bağlı obstrüktif ropatiler

Tablo 2. Üreter patolojilerine bağlı obstrüktif ropatiler

Tablo 3. Mesane ve infravezikal patolojilere bağlı obstrüktif ropatiler

Tablo 4.Obstrüksiyonda ortaya çıkan diğer vazoaktif ajanlar ve etkileri.

Tablo 5. Obstrüksiyonu giderme endikasyonları

Tablo 6.Tüm gruplara ait histolojik hasar skorlaması

Tablo 7. Tüm gruplara ait biyokimyasal analiz sonuçları

Şekil 1. Sıçan, insan ve domuz ghrelininin yapısı.

Resim1: Böbreklerin anatomik yerleşimi

Resim 2: Böbrekte glomerülün histolojik yapısı

Resim 3: Ratlarda orta hat kesi ile bağırsakların orta hatta deviyasyonu ve sol böbrek ve üreterin bulunması.

Resim 4: Sol reterin psoas kasında yarığa gömülmesi ve psoas kasının prolen sütürle kapatılması.

Resim 5. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu histolojisi

Resim 6. Ghrelin grubuna ait böbrek dokusu histolojisi

Resim 7. PUO grubuna ait böbrek dokusu histolojisi

Resim 8. PUO grubuna ait böbrek dokusu histolojisi

Resim 9. PUO+ Ghrelin grubuna ait böbrek dokusu histolojisi

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

gr	: Gram
cm	: Santimetre
T12-L3	: Torakal 12 – Lomber 3
kg	: Kilogram
ml/dk	: Mililitre/Dakika
mmHg	: Milimetre Cıva
TGF- β	: Transforming growth factor- β
UÜO	: Unilateral üreteral obstrüksiyon
RBF	: Renal kan akımı
mRNA	: Mesenger Ribonükleik Asit
ESWL	: Vücut Dışı Şok Dalga Tedavisi
URS	: Üreterorenoskopi
GHS-R1a	: Ghrelin Reseptör 1a
aa	: Aminoasit
X/A	: Ghrelin hücreleri
ECL	: Enterokromaffin benzeri hücreler
EC	: Enterokromaffin
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
RIA	: Radyoimmunassay
ARC	: Arkuat nükleus
VMN	: Venteromedial nükleus
DMN	: Dorsomedial nükleus
PVN	: Paraventriküler nükleus
GHSR1b	: Ghrelin Reseptör 1b
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
PKA	: Protein kinaz A
Ca	: Kalsiyum
AMP	: Adenozin Monofosfat
GH	: Büyüme hormonu
ACTH	: Adenokortikotropik hormon
GHS-R	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör

İCV	: İntraserebroventriküler
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
LH	: Lüteinize edici hormon
TSH	: Tiroid stimüle edici hormon
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
PUO	: Parsiyel Ürteral Obstrüksiyon
ng	: Nanogram
mm	: Milimetre
°C	: Santigrat Derece
CAT	: Katalaz
nm	: Nanometre
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
µ mol	: Mikromol
SOD	: Süperoksit dismutaz
Cu	: Bakır
Zn	: Çinko
U	: Ünite
MPO	: Miyeloperoksidaz
HETAB	: Hekzadesiltrimetilamonyum bromür
mmol	: Milimol
L	: Litre
MDA	: Malon Dialdehit
GSH	: Glutatyon
TNB	: 5-tiyo-2-nitrobenzoat
UV	: Ultraviole
BSA	: Sığır serum albümini
H-E	: Hematoksilen Eosin
COX-2	: Siklooksijenaz 2
PGE ₂	: Prostoglandin E ₂
NO	: Nitrik Oksit
Na-K ATPaz	: Sodyum-Potasyum Adenozin Trifosfataz

İÇİNDEKİLER	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	i
TABLolar VE RESİMLER DİZİNİ.....	ii
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Üriner sistem obstrüksiyonları ve obstrüktif üropati.....	3
2.1.1. Embriyoloji.....	5
2.1.2. Anatomi, Fizyoloji ve Histoloji.....	6
2.2. Obstrüktif Üropati.....	11
2.2.1. Obstrüktif Üropati Kliniği.....	11
2.2.2. Üriner obstrüksiyona bağlı anatomik değişiklikler.....	12
2.2.3. Obstrüksiyonda renal patofizyoloji.....	13
2.2.4. Unilateral üreteral obstrüksiyonda (UÜO) fizyolojik değişiklikler.....	15
2.2.4.1. UÜO'da böbrekteki mikroskobik değişiklikler.....	16
2.2.4.1.1. Fibrozis.....	17
2.2.4.1.2. Proliferasyon ve apoptozis.....	18
2.2.5. Unilateral üreteral obstrüksiyonda hücre sel değişiklikler.....	19
2.2.6. Üriner sistem obstrüksiyonlarında tedavi.....	20
3.GHRELİN.....	22
3.1. Ghrelinin yapısı ve dokulardaki dağılımı.....	23
3.2. Ghrelin reseptörleri.....	28
3.3. Ghrelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri.....	30
3.3.1 Ghrelinin büyüme hormonu üzerine etkileri.....	30
3.3.2 Ghrelinin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri.....	31
3.3.3 Ghrelinin kemik ve diş dokusuna etkileri.....	32
3.3.4. Ghrelinin gastrointestinal sistem üzerine etkileri.....	32
3.3.5. Ghrelinin otonomik sinir sistemi üzerine etkileri.....	32
3.3.6. Ghrelinin diğer metabolik etkileri.....	33
3.3.7. Ghrelinin antioksidan etkileri.....	33
3.3.8. Ghrelinin antiinflamatuvar etkileri.....	33
4.GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	34
4.1. Cerrahi işlem.....	35
4.2. Histolojik Analiz.....	37
4.3. Biyokimyasal Analiz.....	38
4.3.1. Homojenizasyon.....	38
4.3.2. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	38
4.3.2.1. Katalaz (CAT) Analizi.....	38
4.3.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD) Analizi.....	38
4.3.2.3. Miyeloperoksidaz (MPO) Analizi.....	39
4.3.2.4. Lipid Peroksidasyonu analizi (MDA).....	39
4.3.2.5. Total Glutasyon (tGSH) Analizi.....	40
4.3.2.6. Protein Tayini.....	40
4.4. İstatistiksel Analiz.....	40
5. BULGULAR.....	41
5.1. Histopatolojik Bulgular.....	41

5.2. Biyokimyasal Bulgular.....	47
6. TARTIŞMA.....	48
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
8.ÖZET.....	56
9.ABSTRACT.....	58
10. KAYNAKLAR.....	60

1.GİRİŞ VE AMAÇ:

Obstrüktif üropati üriner sistemin herhangi bir yerinde idrar akımını engelleyen bir yapının varlığı olarak tanımlanırken, bu patolojik durumu takiben böbrekte oluşan parankim hasarı ise obstrüktif nefropati olarak bilinir.

Üriner sistemdeki obstrüksiyon; üriner sistemin agenezisi, intralüminal basınç artışı, üriner sistem taşları ve enfeksiyonu sonucu oluşan tıkanıklık ile meydana gelebilir. Bu tıkanıklığın bir veya her iki üreterde olması, tek böbrekte ya da her iki böbrekte hasara yol açabilir.

Yetişkinlerde unilateral üreteral obstrüksiyonunun en sık nedeni böbrek ve/veya üreter taşlardır (1). Üst üriner sistem tıkanıklıkları organ kaybına yol açabilmeleri nedeni ile üroloji pratiğinde önemli bir yere sahiptir. Bu tıkanıklık eğer giderilmez ise renal parankimal hasara yol açmaktadır (2). Üst üriner sistem obstrüksiyonları, tedavi spektrumu oldukça geniş patolojilerdir. Obstrüksiyonun seviyesi, derecesi ve akut/kronik olması planlanacak tedavinin belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır.

Tedavide esas amaç, obstrüksiyonu ortadan kaldırarak böbreğin fonksiyonel rezervini korumak ve/veya bir miktar geri dönüşünü sağlamaktır. Fakat şiddetli obstrüksiyonun uzun süre devam etmesi durumunda böbreğin fonksiyonel rezervi, nefrektomi yapılmadığı takdirde, sebep olacağı morbiditeleri göze alamayacak kadar az olabilir.

Obstrüktif üropati ve nefropati sonrası oluşabilecek renal parankimal hasarı önleyici tedavileri hedef alan deneysel çalışmaların gelecekte önemli rol oynayabilecekleri düşünülmektedir.

Ratlarda iyi dizayn edilmiş parsiyel üreteral obstrüksiyon modelleri ile oluşturulan deneysel çalışmalar, insanda da oluşan obstrüktif üropatiyi iyi düzeyde gösterebilmektedir (3,4).

Günümüzde, ghrelin kullanılarak yapılan başarılı klinik çalışmalar ışığında ghrelinin antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir (5).

Ancak literatürde obstrüksiyon varlığında ghrelin uygulanmasının böbrekte oluşan hasar üzerine olası etkilerini araştıran bir çalışma yoktur.

Biz de bu çalışmamızda, ratlarda deneysel olarak oluşturulacak parsiyel üreteral obstrüksiyonun böbrekte neden olduğu hasarın tedavisinde ve/veya önlenmesinde ghrelinin etkinliğini araştırmayı amaçlıyoruz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ÜRİNER SİSTEM OBSTRÜKSİYONLARI VE OBSTRÜKTİF ÜROPATİ

Böbreğin temel işlevi, vücut dengesinin sürdürülebilmesi için metabolik yolların son ürünleriyle uygun miktarda su ve elektrolit içeren, fakat protein içermeyen, bir ultrafiltrat oluşturmaktır. Üriner sistemin diğer bölümleri ise oluşan bu idrarı depolama ya da boşaltma görevini üstlenmektedir. Bu sistemin herhangi bir kısmında idrar akımını engelleyen bir yapının varlığı obstrüktif üropati olarak tanımlanır. Obstrüktif nefropati ise üriner sistemin herhangi bir yerindeki obstrüksiyon sonucu oluşan böbrek parankim hasarı olarak tanımlanmaktadır.

Üriner sistem obstrüksiyonlarının sınıflaması, obstrüksiyonun nedenine (konjenital veya edinsel), süresine (akut veya kronik), seviyesine (alt veya üst üriner sistem) veya bir patolojinin varlığına (anatomik veya fonksiyonel) göre yapılabilir (1).

Obstrüktif üropatinin nedenleri; böbrek, üreter, mesanenin patolojilerine göre aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir.

Tablo 1. Böbrek patolojilerine bağlı obstrüktif üropatiler

Konjenital	Neoplastik	İnflamatuvar	Metabolik ve diğer
Polikistik böbrek hastalığı	Renal hücreli kanserler	Tüberküloz	Taş hastalığı
Renal kistler	Wilms tümörü	Hidatik kist	Papeller nekroz
Üreteropelvik bileşke darlıkları	Transizyonel hücreli kanserler		Travma
Aberran damar basıları	Multiple myeloma		Renal arter anevrizması

Tablo 2. Üreter patolojilerine bağlı obstrüktif üropatiler

Konjenital	Neoplastik	İnflamatuvar	Metabolik ve diğer
Darlık	Üreter kanserleri	Tüberküloz	Taş hastalığı
Üreterosel	Metastatik kanserler	Şistozoma	Retroperitoneal fibrozis
Üreteral valv		Abseler	Pelvik lipomatozis
Vezikoüretal reflü		Üreteritis sistika	Aortik anevrizma
Ektopik böbrek		Endometriozis	Radyoterapi
Retrokaval üreter			Lenfosel
Ovaryen ven sendromu			Travma
Prune-Belly sendromu			Gebelik
			Ürinoma

Tablo 3. Mesane ve infravezikal patolojilere bağlı obstrüktif üropatiler

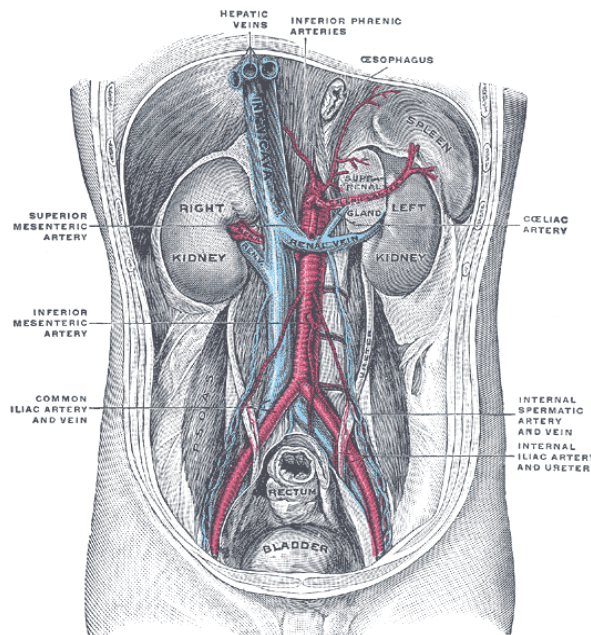
Konjenital	Neoplastik	İnflamatuvar	Metabolik ve diğer
Posterior üretral valv	Mesane kanserleri	Tüberküloz	Taş hastalığı
Fimozis	Prostat kanserleri	Periüretral abseler	Nörojenik mesane
Üretral valv	Penis kanserleri	Prostatitler	BPH
Üretral darlık	Üretral kanserler		
Hipospadias			
Epispadias			
Hidrokolpos			

2.1.1. Embriyoloji

Gebeliğin 5. haftası civarında distal mezonefrik kanaldan gelişen üreter tomurcuğu, metanefrik blasteme penetre olur. Ardından dallara ayrılarak renal pelvis, majör ve minör kaliks kollektör tüpler ve üreteri oluşturur. Kollektör tübüller, pelvis renalis ve üreter, Wolf kanalının yaptığı üreter tomurcuğundan köken alırken, idrarı hazırlayan kısımlar yani Bowman kapsülü, tübüli kontorti, henle kulpu ve nefronlar ise mezonefrik blastemin devamı olan metanefrojen dokudan gelişirler (6). Üreter tomurcuğunun son kısmı genişleyerek propelvisi oluştururken diğer kısmı ise sap gibi uzayarak üreter taslağını yapar. Propelvisten; pelvis renalis, kaliksler ve kollektor tübülliler meydana gelir.

2.1.2. Anatomi, Fizyoloji ve Histoloji

Üst üriner sistem böbrek kaliksleri, renal pelvis ve üreterleri içerir. Böbrek parankimi oldukça frajildir. Bu parankimal yapıyı fibroelastik ince bir kapsül sarar. Erişkin bir erkekte normal böbreğin ağırlığı yaklaşık 150 gr, kadında ise yaklaşık 135 gr' dır. Uzunluğu 10-12 cm, eni 5-7 cm ve kalınlığı ise 3 cm' dir. Böbrekler T12-L3 vertebralar seviyesinde yerleşimlidir (Resim 1). Sağ böbrek sola göre aşağı yerleşimlidir. Böbreğin lateral kenarı genellikle düz konveks, alt kutupları ise yuvarlaktır. Böbreğin medial kenarında renal hilum mevcuttur. Renal hilum renal sinüse açılmaktadır. Burası böbreğin orta kısmı olup parankimle çevrilidir. Toplayıcı sistemler ve renal damarlar sinüsü işgal edererek böbreği hilumdan terk ederler (7,8,9).



Resim1: Böbreklerin anatomik yerleşimi

(<http://www.bartleby.com/107/illus1120.html>, Fig. 1121)

Böbreklerin başlıca iki fizyolojik görevi vardır:

1. İdrar oluşturma fonksiyonu

2. Endokrin fonksiyonu

Böbrekler, idrar oluşturma fonksiyonunu ile şu görevleri yerine getirirler:

- Metabolizma: Özellikle protein metabolizması sonrası oluşan üre, kreatin, kreatinin, ürik asit, fosfatlar, sülfatlar gibi atık maddelerin ve toksik maddelerin atılması.

- Vücuttaki su ve elektrolit dengesinin sağlanması

- Asit-baz dengesinin sağlanması

- Organizma için gereksiz yabancı maddelerin (çeşitli ilaçlar, boya maddeleri gibi) atılması

Böbreklerin bilinen başlıca endokrin fonksiyonları:

- Eritropoetin salgılanması

- Renin salgılanması

- Prostoglandinlerin salgılanması

- Kallikrein-kinin sisteminin regülasyonu

Böbrek fonksiyonlarını açıklamak için bir nefronun fonksiyonunu incelemek yeterlidir. Nefron, sıvının filtre edildiği glomerül ve sıvının bowman kapsülünden böbrek papillasına kadar akarken idrar niteliğini kazandığı tübülüslerden (proksimal tübül, henle kulpu, distal tübül, toplayıcı kanallar) meydana gelir.

Böbrek bütün vücut kitesinin %1' inden azını oluşturmasına rağmen kalp debisinin %20' sini almaktadır. Bu da 70 kg ağırlığındaki bir insan için 1200 ml/dk demektir. Böbreğe gelen kanın basıncı a. renalisteki basıncın %60' ına kadar düşer. Yani ortalama 120 mmHg olan kan basıncı glomerül düzeyinde 70 mmHg kadardır (10).

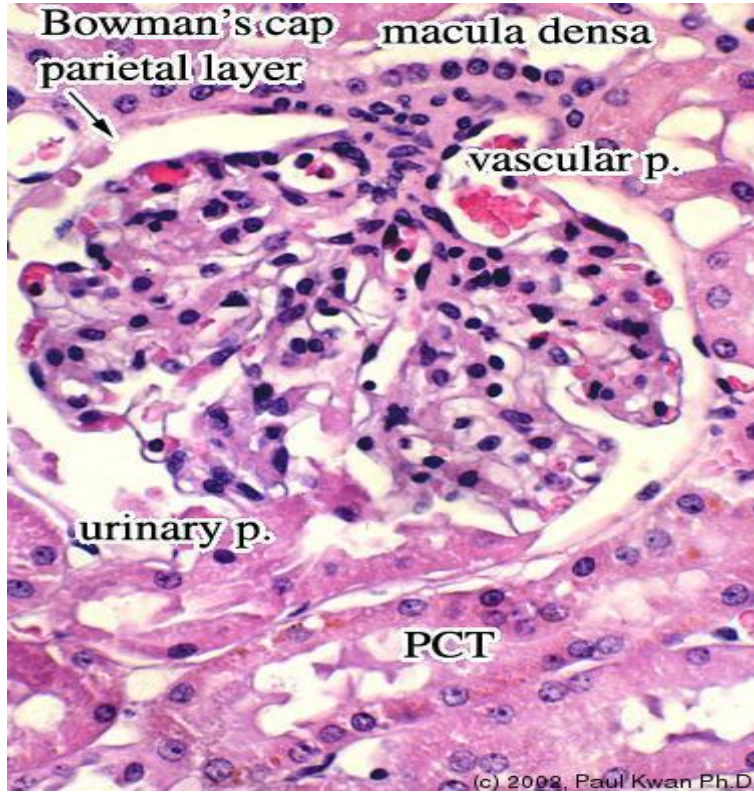
Afferent arteriolden glomerülün kapiller yatağına akan kan, efferent arteriole glomerülü terk ederken burada bir dirençle karşılaşır. Çapı afferent arteriole göre daha ince olan efferent arteriolün bu kan akımına gösterdiği direnç glomerül kapiller ağını yüksek bir basınç yatağı haline dönüştürür. Bu da glomerüler filtrasyonda önemli rol oynamaktadır. Peritübüler kapiller yataktaki basınç süratle düşerek 10-13 mmHg' ye kadar iner. Bunun sonucu peritübüler kapiller ağ düşük basınç yatağını oluşturur. Sonuçta; glomerüler ortalama 70 mmHg basınç altında görev yaparak sıvının hızlı filtrasyonuna neden olmakta, peritübüler kapiller sistem ise düşük basınç altında fonksiyon görerek plazmanın yüksek ozmotik basıncı nedeniyle sıvının hızla reabsorbsiyonunu sağlamaktadır. Diğer taraftan genel anlamıyla kan basıncı değişiklikleri karşısında böbreklerin bir 'otoregülasyon mekanizması' mevcuttur. Kan basıncının değişmesinde bile renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon değişiklikleri %10' un altında kalır.

Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılabilir. İnsanda renal medulla 10-18 adet konik ya da piramidal şekilli yapılardan oluşur. Bu yapılar medüller piramit adını alır. Her bir medüller piramidin tabanından kortekse uzanan birbirine paralel tübül demetleri bulunur ve

medulladan ışın olarak çıkar. Her medullar ışın böbreğin fonksiyon gören birimleri olan birkaç nefron grubunun düz kısımları ile birlikte bir ya da daha çok sayıda toplayıcı kanaldan oluşur.

Her nefron renal cisimcik (renal corpuscle), proksimal kıvrımlı tübül, henle kanalının ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşmaktadır.

Toplayıcı tübüller ve kanallar nefronlarda üretilen idrarı toplayarak böbrek pelvisine iletirler. Her renal cisimcik yaklaşık 200 mikrometre çapında olup, kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Bu yumak Bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmış durumdadır. Kapsülün iç tabakası (viseral tabaka) glomerülün kapillerlerini örterken dış tabaka ise renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur ve Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve viseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır (Resim 2) (11).



Resim 2: Böbrekte glomerülün histolojik yapısı

(<http://ocw.tufts.edu/Content/4/CourseHome/221158/221165>)

Her renal cisimcikte, afferent arteriyollerin girdiği ve efferent arteriyollerin çıktığı bir damar kutbu, proksimal kıvrımlı tübüllerin başladığı noktada ise bir idrar kutbu bulunur. Afferent arteriyol renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapilerlere dönüşen ve renal glomerülü oluşturan 2-5 primer dala ayrılır.

Bowman kapsülünün pariyetal tabakası ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbunda epitel, proksimal tübül için karakteristik olan tek katlı prizmatik epitele değişir.

2.2. Obstrüktif Üropati

2.2.1. Obstrüktif Üropati Kliniği

Üriner sistem obstrüksiyonu farklı klinik tablolarla ortaya çıkabilmektedir. Herhangi bir semptom olmaksızın tespit edilebileceği gibi renal kolik tablosu ile başvuran veya hidronefroz sonrası oluşan enfeksiyon ve sonrasında gelişen ateş ile de hastalar başvurabilmektedir.

Obstrüksiyon oluşum süresine (akut ya da kronik), unilateral ya da bilateral olmasına, obstrüksiyonun etyolojisine (intrensek ya da ekstrensek) ve tam ya da parsiyel oluşuna göre değişkenlik göstermektedir.

Ani obstrüksiyon sıklıkla aynı tarafta kasığa yayılabilen yan ağrısı ile karakterizedir. Bulantı, kusma sıklıkla eşlik edebilir. Obstrüksiyona enfeksiyon eşlik ediyorsa yüksek ateş de tespit edilebilir.

Akut unilateral üreteral obstrüksiyon, bilateral obstrüksiyondan daha sık görülmektedir. Hidronefroz belirgin ise künt travma sonrası gross hematüri saptanabilir. Ekstrensek nedenli obstrüksiyonlar unilateral veya bilateral olsun genellikle asemptomatiklerdir. Bu obstrüksiyonlar genellikle rutin klinik değerlendirme sırasında rastlantısal saptanırlar.

Üriner sistem obstrüksiyonunun klinik bulguları genellikle nonspesifiktir. Fizik muayene esnasında karında kitle şeklinde tespit edilebileceği gibi çok nadir her iki alt ekstremitede ödemi, pulmoner konjesyon ve hipertansiyon gibi ağır seyreden volüm yüklenmesi belirtileri de bulunabilir. Mikroskobik ya da makroskopik hematüri, proteinüri, kristalüri, piyüri ve idrar silendirleri laboratuvar incelemelerde tespit edilebilir.

Üriner sistem enfeksiyonu zemininde akut obstrüksiyon meydana gelirse hastalarda piyelonefrit ya da ürosepsis belirti ve bulgularıyla başvurabilir. Eğer obstrüksiyon ile birlikte enfeksiyon tablosu mevcutsa bu ürolojik acil bir durumdur ve uygun görüntüleme çalışmaları (ekskretuar ürografi, renal ultrasonografi, ya da retrograd üreteropyelografi) mutlaka acil şartlarda yapılmalı ve acilen obstrüksiyonu giderici girişimler uygulanmalıdır.

2.2.2. Üriner obstrüksiyona bağlı anatomik değişiklikler

Obstrüksiyon, böbreğin yapısında yapısal ve morfolojik değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler toplayıcı sistemin intrarenal veya ekstrarenal olmasına, obstrüksiyonun derecesine, süresine ve enfeksiyon olup olmamasına göre değişir.

Normalde renal pelviste basınç sıfıra yakındır. Pelvis içerisindeki basınç artmadan önce renal pelvis ve kalikslerde genişleme olur. Daha sonra intrapelvik basınç hızla artar. Bu dönemde kaslar hipertrofiye uğrar. Obstrüksiyon devam ederse atoni gözlenir. Renal pelvis intrarenal yapıda ise veya obstrüksiyon ne kadar proksimalde ise böbrekler üzerindeki basınç etkisi o kadar fazla olacaktır. Artmış basıncın etkisi ile önce kalikslerde dilatasyon gözlenir.

Özellikle akut obstrüksiyonlarda ekstrarenal pelvis olan böbreklerde erken dönemde hidronefroz veya dilatasyon görülmeyebilir. Daha sonra iskemik atrofi oluşur ve papillar önce düzleşir, sonra konveksleşir. Obstrüksiyon devam ederse renal parankimal hasar meydana gelir.

Parankimal hasar, artmış basıncın etkisi ile kompresyon atrofisine ve iskemik atrofiye skonder gelişir. Kalikslerin arasındaki parankim en son etkilenir. En sonunda böbrek poş halini alır.

Obstrüksiyon sırasında ve sonrasında böbrekte meydana gelen temel değişiklikler intertisyel fibrozis, kollajen ve ekstrasellüler matriks komponentlerinin birikimidir. Fibrozis ile birlikte intertisyumun sellüler kompozisyonundaki değişikliklerin yanı sıra çok sayıda diğer biyolojik aktif moleküllerin ekspresyonunda da değişiklikler olur. İntertisyel fibrozisin tübülleri ve intertisyel kapilleri oblitere ederek böbrek hastalıklarının çoğunda renal fonksiyon azalmasının majör belirleyicisi olabildiği varsayılmaktadır (12).

Üst üriner obstrüksiyonlarında, erken evrede üreter içindeki artan basıncı yenmek ve idrarı böbreklerden uzaklaştırmak için üreter peristaltizmi artar ve kaslar hipertrofiye olur buna kompensasyon evresi adı verilir. Obstrüksiyon devam ederse üreter dilate olmaya ve uzamaya başlar. Katlantılar ve fibröz bantlar oluşur. Bu fibröz bantlar kontraksiyon oluştuğunda çekintilere yol açıp sekonder obstrüksiyona neden olabilir. Daha ileri evrede üreter duvarı inceler, üreter kasılma yeteneğini kaybeder ve atoniye uğrar bu evreye ise dekompensasyon evresi denir (12).

2.2.3. Obstrüksiyonda renal patofizyoloji

Artan intraluminal basınç tübüllere iletilir. İlk değişim tübüllerde gözlenir. Tübüller dilate olur, atrofi ve apoptozis meydana gelir. Glomerüller relatif olarak dirençlidir. Böbreğin fonksiyonlarını etkileyen ve renal

parankimde gelişen en önemli değişiklik intertisyel fibrozis, tübüler atrofi ve apoptoz ile intertisyel inflamasyondur. Bu evrede transforming growth factor- β (TGF- β), angiotensin II, Nükleer faktör, Tümör nekrozis faktör gibi sitokin ve büyüme faktörleri artarak fibrozis, inflamasyon ve apoptozise yol açar. Ayrıca obstrüksiyon ile birlikte artan metalloproteinaz doku inhibitörleri, metalloproteinaz aktivitesini baskılayıp ekstraselüler matrikste birikime neden olur. Renin angiotensin sistemi obstrüksiyon olan tarafta aktive olur.

Obstrükte olan böbrekte Angiotensin II salınımı artar ve vazokonstrüksiyon meydana gelir. Çalışmalar özellikle bir angiotensin reseptör alt grubu olan A I reseptörlerinin bloke edilmesinin renal fibrozisi azalttığını, buna karşılık A II reseptörlerinin inhibisyonunun kollajen üretimini arttırdığını göstermiştir (13,14).

Tablo 4.Obstrüksiyonda ortaya çıkan diğer vazoaktif ajanlar ve etkileri.

Afferent arteriolde vazodilatasyon yapan ajanlar	PGE2	PG I2	NO	ANF
Afferent arteriolde vazokonstrüksiyon yapan ajanlar	AT II	Endotelin	PAF	
Efferent arteriolde vazodilatasyon yapan ajanlar	PG I2	NO		
Afferent arteriolde vazokonstrüksiyon yapan ajanlar	AT II	Endotelin	PAF	ANF

Prostaglandin E2 ve nitrik oksit obstrüksiyon olan böbrekte vazodilatasyon etkisi gösterir. Tromboxan A2 ve Endotelin-1 obstrüksiyonla artar ve vazokonstrüksiyona yol açar. Buna karşılık Atrial Natriüretik Faktör efferent arteriolde vazokonstrüksiyon yaparken afferent arteriolde vazodilatasyona yol açar. Renal kan akımı düşerken glomerüler filtrasyon hızı yüksek tutulmaya çalışılır.

Tek taraflı obstrüksiyonlardaki hemodinamik değişiklikler ile çift taraflı obstrüksiyon veya tek böbrekte ortaya çıkan obstrüksiyonda gözlenen hemodinamik değişiklikler farklı olmaktadır.

2.2.4. Unilateral üreteral obstrüksiyonda (UÜO) fizyolojik değişiklikler

Akut tek taraflı obstrüksiyonlarda böbrekte değişiklikler 3 aşamada ortaya çıkar:

İlk aşamada renal kan akımı (RBF) afferent arteriollerdeki dilatasyon sonucu artar ve üreteral basınç yükselir. Vazodilatasyon nitrik oksit ve prostaglandinlerin etkisi ile ortaya çıkar. Bu dönem 1- 2 saat sürer.

İkinci fazda efferent arteriollerdeki vazokonstrüksiyon sonucu RBF düşmeye başlar ancak üreter içindeki basınç artmaya devam eder. İkinci faz ise yaklaşık 3-4 saat sürer.

Üçüncü faz obstrüksiyon başlangıcından 5 saat sonra ortaya çıkar. Bu vazokonstrüktif faz olup hem afferent hem de efferent arteriollerde kontraksiyon olur. RBF azalmaya devam ederken üreter içindeki basınçta

düşmeye başlar. Kortikal kan akımı bozulurken medullada kan akımı korunmaya çalışılır.

2.2.4.1. UÜO'da böbrekteki mikroskobik değişiklikler

Başlangıçta, mikroskobik değişikliklerin çoğu tübüllerle sınırlı iken, glomerüllerdeki etkilenme çok azdır (15,16). Glomerül boyutlarında hafif bir artış ve bowman kapsülündeki kalınlaşma dışındaki değişikliklere nispeten dirençlidir.

Yapılan bir çalışmada üreteral ligasyonun 231. gününe dek bağ dokusu proliferasyonu ve hyalinizasyon gelişimi sadece birkaç glomerülden görülmüştür. İlk olarak, epitelin yassılaşması ile tübüllerin lümeninin dilate olduğu, obstrüksiyonun yaklaşık 21. gününde mikroskobik kesitte renal parankimin birkaç alanında zor ayırt edilebilen tübüllerin varlığı saptanmıştır (15).

Yirmi dört saatlik obstrüksiyonun ratlarda bölgesel böbrek dokusundaki hasara etkilerini inceleyen bir çalışmada ise obstrüksiyondan sonra böbreğin papilla ve forniksinde hemoraji ve nekroz bulunduğu, apoptozise uğrayan hücrelerin erken dönemde (30. dakikasından sonra) saptandığı bildirilmiştir. Kalın çıkan kulplarda hafif hasar olduğu ve bu hasarın eşzamanlı indometazin tedavisi alan grupta daha çok arttığı gösterilmiştir. Ancak, indometazin tedavisi iç medülladaki hasarı azalttığı ve kontrast madde (iyotalamat) verilmesi ile UÜO' da iç medülladaki hasarı arttırdığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla, renal kolikteki tanı ya da tedavi girişimlerinin obstrükte böbrek için zararlı olma olasılıkları vardır (17).

2.2.4.1.1. Fibrozis

Obstrüksiyonda böbrek parankiminde gelişen ve böbreğin fonksiyonlarını etkileyen en önemli değişikliklerden biri fibrozistir. Naggle ve arkadaşları elektron mikroskobu kullanarak, UOO' dan sonraki 7. günden 32. güne kadar böbrekte kollajen liflerin görünümünü tanımlayarak 32. günde korteks ve dış medullada yaygın interstisyel kollajen saptamışlardır (18).

Kollajen subtiplerinin immunohistokimyasal lokalizasyonları çalışılmış ve UOO' nun 16. günündeki tavşanlarda kollajen mRNA' sını lokalize edebilmek için insitu hibridizasyon yöntemi kullanılarak interstisyel kollajen III ve IV, fibronektin artışı ile birlikte interstisyel volümde artış gözlenmiş olup; kollajen I deki artış ise sadece fokal, peritübüler birikimler şeklinde olduğu belirlenmiştir (19).

UOO' dan 1 ile 28 gün sonra çalışılan ratlarda immunohistokimyasal olarak spesifik kollajen subtipleri lokalize edilmiştir. Kortikal ve medullar interstisyel mesafelerde görülen artışın UOO' dan 7 gün sonra belirgin olduğu gösterilmiştir. UOO' un 3. gününde kollajen III' ün hem korteks, hem de medullada arttığı ve meduller kollajenizasyonun UOO' un 7. gününde daha da arttığı görülmüştür. Kollajen I' de dikkati çeken değişiklikler ise UOO' dan 14 gün sonra saptanmıştır.

Kollajen IV, laminin ve fibronektin de 3. günden itibaren belirgin değişiklikler görülmüştür; bu komponentler 14 gün boyunca artmaya devam etmiştir. Glomerüler fibrozis pek belirgin olmamakla birlikte, UOO' dan sonraki 14 ile 21. günlerde kollajen I de küçük değişiklikler izlenmiştir (20).

2.2.4.1.2. Proliferasyon ve apoptozis

Doku yaralanmasının iyileşme sürecinde, yerleşik ve infiltre hücrelerin hem proliferasyonu hem de apoptozisi yer almaktadır. Doku bu işlemlerin koordinasyonu ile iyileşebilir. Apoptozis ve/veya proliferasyon düzensiz olursa, doku fibrozisi meydana gelir. Bu da dokuda fonksiyon kaybına neden olur.

UUO' da hem apoptozis hem de proliferasyonun analizi gerçekleştirilmiştir. Troung ve ark. tarafından UUO' nun 0. gününden, 90. gününe kadar tübüler, interstisyel ve makrofaj komponentleri çalışılmış ve bu periyot boyunca glomerüler apoptozis ya da proliferasyonda esas itibarıyla bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Tubuler proliferasyon 10. günde pik oluştururken, interstisyel proliferasyonun ilki 10 ile 20. günler arasında ve ikincisi ise 75. günde olmak üzere 2 pik yaptığı saptanmıştır. Tübül hücrelerinin proliferasyon oranının interstisyel hücrelerininkinden 10 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Tübüler apoptozisde 25. günde keskin bir pik gözlenirken, interstisyel apoptozis ise 75. günde pik yapmıştır. Apoptotik oran tübüler hücrelerde interstisyel hücrelerdekinden 2 kat daha fazla olarak saptanmıştır (21).

Choi ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 4 ile 45. günlük UUO yapılmış ratlarda benzer sonuçlar elde edilmiştir. Tübüler apoptozis 15. günde maksimum iken, interstisyel apoptozisin 45. günde hala arttığı tespit edilmiştir (22).

2.2.5. Unilateral üreteral obstrüksiyonda hücrenel değışiklikler

Obstrükte böbreğin intersitisyel mesafesinin hücrenel kompozisyonu çok ilgi çeken bir konu olmuştur. Tavşan böbreklerinde UUO' dan 1 gün sonraki erken dönemde, kortikal interstisyel mesafenin genişlediği tespit edilmiştir. Zamanla, kortikal intersitisyel mesafede daha fazla genişleme ve fibroblastlar ile mononükleer hücrelerde bir artış olduğu saptanmıştır (18,23).

Obstrüksiyonda intersitisyumda bulunan bir kısım fibroblastın myofibroblastlara transforme olduğu gösterilmiştir. Bu ilk kez 1973' te hücrelerin morfolojik analizi ile ortaya konmuş ve düz kas a-actin ve desmin'in immünhistokimyasal lokalizasyonu ile doğrulanmıştır (23).

Bunlar UUO' dan yaklaşık 24 saat sonra saptanmış ve 96 saat boyunca arttığı gösterilmiştir(F20). Morfolojik inceleme ile obstrükte böbrekte makrofajlar da lokalize edilmiştir (23).

İzole olarak perfüze edilen tavşan böbreklerinde makrofajların aşırı miktarda eikosanoid alınımına katkıda bulunduğu ortaya konulmuştur (24,25). Monoklonal antikörlerin kullanımı makrofajların immunohistokimyasal olarak saptanabilmelerine olanak sağlamıştır. UUO' dan 12 saat sonra interstisyel dokudaki makrofajlarda bir artış olduğu görülmüş ve bu artışın 96 saat boyunca devam ettiği saptanmıştır (26). UUO' da intersitisyel makrofajların varlığı başka araştırmacılarca da doğrulanmıştır (20,27,28).

2.2.6. Üriner sistem obstrüksiyonlarında tedavi

Üriner sistem obstrüksiyonunun nedeni ve seviyesine göre tedavi endikasyonları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 6. Obstrüksiyonu giderme endikasyonları

Unilateral obstrüksiyon	Bilateral obstrüksiyon
Analjezikle geçmeyen ağrı	Analjezikle geçmeyen ağrı
İnatçı bulantı ve kusma	Yüksek üre ve kreatinin
Yüksek derecede obstrüksiyon	Üremik semptom ve bulgular
Ateş >38,5°C	Hiperkalemi

Obstrüksiyon giderilince, enfeksiyon açısından idrar analizi yapılabilir. İlk idrar analizinin ardından idrar kültürü; duyarlılık testleri ve uygun antibiyotik tedavisi verilir. Böbreğe yerleştirilen üreteral kateterden koyu, pürülan bir sıvı geliyorsa, aynı kateterin yanından ikinci bir kateter yerleştirilmesi hem kateterlerin yanından hem de biri tıkanrsa bile diğerinden sürekli drenaj sağlama avantajı oluşturabilir.

Obstrüksiyon akut olarak ortadan kaldırıldıktan sonra esas tedavi yöntemi bu obstrüksiyonun nedeninin ortadan kaldırılmasına yönelik olmalıdır. Tedavi yöntemleri; ekstrakorporeal sok dalga litotripsi (ESWL), üreterorenoskopi (URS) ile litotripsi; endoskopik üreterotomiler; açık cerrahi prosedürler ve üreterolizis olarak sayılabilir.

Bir renal üniteyi kurtarma kararı her bir renal ünitenin kendi fonksiyonunun doğru olarak değerlendirilmesi ile verilebilir. Bunun için ya

nükleer görüntüleme teknikleri ya da direkt bilateral nefrostomi tüpleri, foley sonda ile birlikte tek nefrostomi tüpü drenajlarından renal fonksiyonlar ölçülebilir. Bir renal ünitenin fonksiyonu total böbrek fonksiyonunun %10 ya da daha azı ise böbrek gözden çıkarılabilir. Hastanın genel böbrek fonksiyonu ürologun nefrektomi kararını etkiler. Çünkü nefrektomi hastanın böbrek fonksiyonunu kalıcı hemodiyalize girmek zorunda bırakacak kadar azaltabilir. Böbreğin anatomik görüntüsü (Örneğin, çok ince parankim içeren bir su kesesi), hastanın yaşı ve genel sağlık durumu bir renal üniteyi kurtarma kararında ayrıca etkili olan faktörlerdir.

3.GHRELİN

Ghrelın gastrointestinal sistem tarafından üretilen, santral etki ile yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan peptid yapıda bir hormondur. Keşfinin ilk yıllarında vücutta büyüme hormonu salınımını arttırıcı bir hormon olduğu düşünölmüştür, son yıllarda iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesi üzerine olan etkileri ile dikkat çekmektedir (29).

Ghrelın ilk kez 1999 yılında Japon bilim adamları Kojima ve arkadaşları tarafından farelerin midesinde tanımlanmıştır (30). Mide oksintik mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip ghrelın hücreleri (X/A) tarafından üretilmektedir (31,32). Bu hormon mideden başka hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince bağırsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, santral sinir sistemi, akciğer, plasenta, gonadlar, immun sistem (33,34), meme (35,36) ve dişlerde sentezlenmektedir (37). Ghrelının mRNA'sı hemen hemen bütün dokularda tespit edilmiştir. Çalışılan dokuların ghrelın mRNA miktarının mide fundusunda en fazla olduğu, bunu da sırasıyla jejunum, duodenum, midenin antrumu, akciğer, pankreas dokusu, venöz sistem, safra kesesi, lenf nodu, yemek borusu, sol kolon, yanak, hipofiz, meme, böbrek, ovaryum, prostat, sağ kolon, ileum, karaciğer, dalak, fallopian tüp, lenfositler, testis, yağ dokusu, plasenta, adrenal bez, kas, mesane, kalbin atriumu, tiroid, miyokardiyum ve derinin takip ettiği bildirilmiştir (38).

3.1. Ghrelinin yapısı ve dokulardaki dağılımı

Yarılanma ömrü 15–20 dakika olan ghrelin; vücut sıvılarında ve dokularda iki formda bulunmaktadır; a-Ghrelin b- des-n-oktanil Ghrelin (39). İnsan preproghrelinini kodlayan gen beş ekzon ve dört intron içerir ve 3p25–26 kromozomu üzerinde lokalize olmuştur. Uç uca eklenmiş ghrelin mRNA'sı 117 amino asid içeren preküsör preproghrelini oluşturur, preproghrelin daha sonra parçalanarak ghrelini oluşturur (40, 41).

Ghrelin 28 amino asitli bir peptittir. İnsan ghrelini N-terminal ucundaki 3. aa olan serine bağlı oktanil grubu adı verilen sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Bu oktanil grubunun bağlanması ile olan esterleşme reaksiyonu çok özeldir ve benzeri yoktur, henüz ayrıştırılmamış olan bir açil transferaz enzimi tarafından yürütülür. Bu esterleşme reaksiyonu ghrelinin GHS-R1a reseptörüne bağlanıp kan-beyin bariyerinden geçişini sağlar (42,43). Ghrelin, bir yağ asidi tarafından aktivitesi değiştirilen tek peptid hormondur (34,44).

Farelere verilen orta zincirli yağ asitleri ve orta zincirli triaçil gliseroller, toplam ghrelin miktarını değiştirmeden midedeki açilli ghrelin miktarını arttırmaktadır. Yani vücuda alınan orta zincirli yağ asitleri ghrelinin açil modifikasyonunda kullanılmaktadır. Oktanil grubu ghrelinin aktif olması için gereklidir. Bünyesinde yağ asidi içermeyen desaçile ghrelin ise inaktiftir (34, 44).

Ghrelinin doğal oluşan varyantları des-Gln ghrelin ve desaçile ghrelinidir. Des-gln ghrelin serumda çok az miktarda bulunmakta fakat aktivite göstermektedir. Desaçile ghrelin dolaşımdaki toplam ghrelinin %80-90'ını

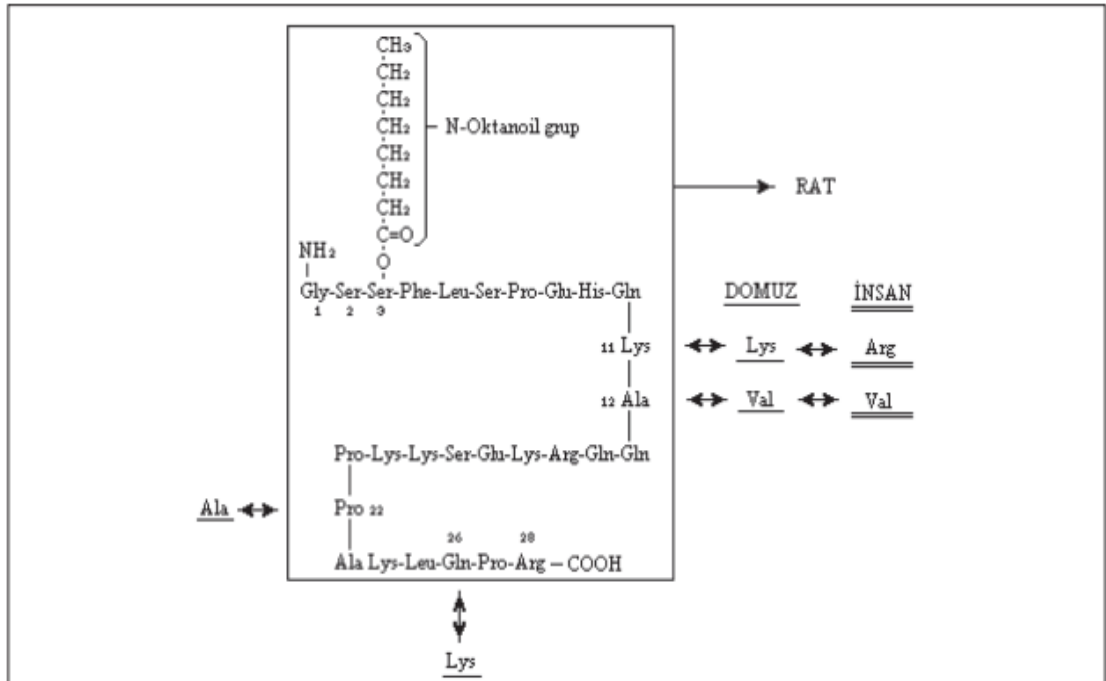
oluşturmaktadır (44). Desaçil ghrelin GHS-R1a reseptörüne bağlanamadığı için etki gösteremez (45,46). Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalarda desaçil ghrelinin GHS-R1a haricindeki başka reseptörler üzerinden fizyolojik etkiler oluşturduğu gösterilmiştir. Örneğin hepatositlerden glikoz salgılanmasının azaltılması, (47) lipolizin inhibisyonu, yağ dokusunun gelişiminin artırılması, hücre apoptozunun inhibisyonu, vazodilatasyon ve faydalı kardiyotropik etkiler, besin alımının uyarılması ve iris kaslarında gevşeme bu etkilerden bazılarıdır (48).

Son yıllarda obestatinin karmaşık olan ghrelin fizyolojisine olan etkilerinden bahsedilmektedir. Obestatin ghrelini kodlayan gen tarafından üretilen bir hormondur. Bu hormonun fonksiyonel olarak ghrelinin enerji hemostazı, gastrointestinal fonksiyonlar, anksiyete ve açlık üzerine olan etkilerine aksi etkileri olduğu düşünülmektedir (48).

Ghrelin sadece bir organ ya da bezden salgılanmamakta, aksine birçok dokuda üretilmektedir (38). Hayvanlar alemi dışında bitkiler aleminde de insan anti ghrelini ile immüno reaksiyona giren ghrelin benzeri bir maddenin bulunduğu rapor edilmiştir (49).

Memelilerde ghrelin homologları insan, sıçan (30), köpek, koyun, domuz, sığır, rhesus maymunu ve farelerde keşfedilmiştir (44). Memeli ghrelinlerinde NH₂ terminal ucundaki ilk on aminoasit evrimsel süreç içerisinde iyi korunmuştur. Üçüncü sırada yer alan serin aminoasidi açıl modifikasyonuna olanak sağlamaktadır. NH₂ terminal bölgenin ilk on amino asidi peptidin aktivite gösterebilmesi için ana rol üstlenmektedir. Moleküler ağırlığı yaklaşık 3315 dalton olan memeli ghrelinleri birbirine tamamen

benzer değildir (Şekil 1). Sıçan ve domuz ghrelinindeki 11. aminoasit olan lizin, insanda arjinin ile yer değiştirmiştir. Diğer taraftan sıçan ghrelindeki 12. aminoasit olan alanin, hem domuzda hem de insanda valin olarak değişmiştir. Bundan başka sıçanlarda 22 nolu aminoasit olan prolinin yerine domuzda alanin, sıçanlarda 26 nolu aminoasit olan glisinin yerine domuzda lizin bulunmaktadır (30).



Şekil 1. Sıçan, insan ve domuz ghrelininin yapısı. (NH₂ ucunun 3. aa'i olan serine oktanoil grubunun bağlanmasıyla aktif ghrelin oluşmaktadır) (30, 50).

Bütün omurgalı türlerinde ghrelinin ana sentez yeri midedir. Midenin fundus bölgesi, pilor bölgesine göre daha fazla ghrelin sentezlemektedir (51). Doku hibridizasyonu ve immunohistokimyasal analizler, midenin mukozal tabakasının belirli bölgelerinde ghrelin pozitif hücreler olduğunu ortaya koymuştur. Mide endokrin hücrelerinin değişik tipleri vardır. İmmunglobulin A

yönünden aktif olan endokrin hücrelerin %20'si ghrelin mRNA' sını içermektedir.

Daha önceden de söz edildiği gibi dolaşımdaki ghrelinin büyük bir kısmı mideden, %30' u ise ince bağırsak, meme ve tükürük bezi gibi değişik organlardan kaynaklanmaktadır (52). Oksintik mukozada dört çeşit endokrin hücre belirlenmiştir. Bunlar enterokromaffin benzeri (ECL) hücreler, D hücreleri (pankreas langerhans adacıklarında %5' den az olarak bulunan ve somatostatin salınımından sorumlu hücreler), enterokromaffin (EC) ve X/A benzeri hücrelerdir (53,54). ECL hücrelerinde histamin ve üroguanilin (natriüretik peptid hormon), D hücrelerinde somatostatin, EC hücrelerinde serotonin, X/A benzeri hücrelerde ise ghrelin sentezi mevcuttur. X/A benzeri hücreler fonksiyonel oksintik bezlerde endokrin hücre miktarının %20' sini oluşturmaktadır. Ghrelin immunoreaktif hücreler duodenum, jejunum, ileum, meme ve kolonda bulunmaktadır. İntestinal sistemin ghrelin derişimi duodenumdan kolona doğru azalmaktadır. Midede olduğu gibi bağırsakta da, N-oktanil ghrelin ve des-açil ghrelin formları bulunmaktadır (32, 44).

Alt gastrointestinal sistemde lümenle bağlantılı olan "açık" hücreler ve lümenle bağlantısı olmayan "kapalı" hücreler olmak üzere iki tip ghrelin hücresi belirlenmiştir (32). Ghrelinin ana sentez kaynağı olduğu sanılan midenin oksintik mukozasını içeren kısmı, sıçanlarda cerrahi olarak çıkarılmış ve bu işlem sonrasında dolaşımdaki ghrelin konsantrasyonu %80 oranında azalmıştır (55). Bu çalışma ghrelin sentezinin esas kaynağının oksintik mukoza olduğunu göstermektedir. Gastrektomi yapılmış insanlarda da benzer bir azalmaya rastlanmıştır. Pankreas da ghrelin sentezleyen bir

organdır. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) “Radyoimmünassay” (RIA) ile yapılan analizler, hem n-oktanil ghrelin hem de des-açıl ghrelinin sıçan pankreasında bulunduğunu göstermiştir.

Pankreasın alfa ve beta hücrelerinde diğer hormonların yanı sıra ghrelin de bulunmaktadır. Langerhans adacığının epsilon hücrelerinde ise sadece ghrelin bulunmaktadır. Pankreasta ghrelinin sentez yeri hakkında değişik raporlar mevcut olup pankreasın alfa, beta, epsilon veya yeni bir adacık hücre grubu tarafından üretildiği ileri sürülmektedir (56,57,58).

Beypinde lateral hipotalamus, arkuat nükleus (ARC), venteromedial nükleus (VMN), dorsomedial nükleus (DMN), paraventriküler nükleus (PVN) ve üçüncü ventrikülün ependimal tabakasındaki çekirdekler arası boşlukta ghrelin ekspresyonu mevcuttur (59). Ayrıca hipotalamus dışında yer alan stria terminalis, amygdala, talamus ve habenulanın nükleusunda da ghrelin ekspresyonu bulunmaktadır (60). Ghrelin mRNA'sının böbrekte özellikle glomerülda bulunduğu açıklanmıştır (61). İmmünoreaktif ghrelin hücreleri, interstisyel leydig hücreleri ve sertoli hücrelerinde de tanımlanmıştır. Caminos ve ark. İlk kez kondrositlerde ghrelinin sentez ve sekresyonunu göstermişlerdir. Tükürük bezinde ve dış dokusunda ghrelinin varlığı immunohistokimyasal ve RIA yöntemleriyle gösterilmiştir. Aynı zamanda tükürüğün serumdan daha fazla hormon içerdiği rapor edilmiştir. Yine meme dokusunun ghrelin sentezlediği bildirilmiş olup anne sütündeki miktarı RIA ile belirlenmiştir (35, 36, 44).

Ghrelin normal insan dokularının yanı sıra hipofiz adenomları, nöroendokrin tümörler, tiroid ve medüller tiroid karsinomları, pankreas endokrin tümörleri ve akciğer tümörlerinde de tanımlanmıştır (44).

3.2. Ghrelin reseptörleri

En iyi bilinen ghrelin reseptörü GHS-R1'in iki alt tipi (GHS-R1a, GHSR1b) vardır. Bu varyantlar aynı genin pre-mRNA'sından alternatif yöntemlerle meydana gelmektedir. GHS-R1a'da GSH-R1b'de geniş olarak eksprese edilmekte fakat GSH-R1b, GHS-R1a'dan farklı olarak ghrelin veya sentetik ghrelinlere bağlanmamaktadır ve fonksiyonu bilinmemektedir (48). Bununla birlikte son çalışmalarda GSH-R1b'nin GHS-R1a ile birlikte etki ediyor olabileceği ve GSH-R1b'nin biyolojik olarak önemli bir rolü olabileceği öne sürülmüştür (62).

GHS-R1a hipotalamus ve pituiter bezlerde yaygın olarak eksprese edilmektedir. Bu da onun enerji dengesi, gıda alımı ve iştah artışı gibi pituiter bezi üzerinden gözlenen etkileri ile uyum göstermektedir (63). GHS-R1a'nın hipokampus, substansia nigranın pars kompaktası, ventral tegmental bölge, dorsal ve medial nükleer raphe, Edinger- Westphal çekirdeği ve piriform korteks gibi santral sinir sisteminin biyolojik ritm, davranış, kavrama, hafıza ve öğrenmeye etkili kısımlarında da eksprese olduğu gösterilmiştir (64).

Ayrıca GHS-R1a, ghrelinin etkilerine aracılık eden vagal ganglion düğümlerinde de eksprese olmaktadır. Bunlara ek olarak mide, bağırsaklar, pankreas, tiroid bezi, gonadlar, adrenal bezler, kalp ve damarları, kemik, çok çeşitli tümörler ve hücre zarları GHS-R1a içermektedir (48). Bu bilgiler

ghrelinin gittikçe daha çok açığa çıkartılan etkileri ile paralellik göstermektedir. GHS-R1a'nın GH salınmasının uyarılması ve etkilerinin ortaya çıkması için gerekli olduğu gösterilmiştir (65).

GHS-R1a, G proteinine bağlı bir reseptördür. Ser3' deki oktanil grubu ve N terminal ucundaki 4–5 amino asidler ghrelin tarafından aktifleştirilebilmesi için gereklidir (46). Ghrelininin GHS-R1a reseptörüne bağlanması hücreye spesifik birçok intrasellüler yolların aktifleşmesine neden olur. Somatotrofik hücrelerde GHS-R1a'nın uyarılması sonucunda Gq11-fosfotidil inositol- fosfolipaz C sistemi aracılığı ile Ca mobilizasyonu ile gerçekleşmektedir (63). Nöropepetid Y içeren nöronlarda, GHS-R1a reseptörünün aktivasyonu Gs-cAMP-protein kinaz A (PKA) sinyal yolu ile Ca mobilizasyonuna neden olmaktadır. Ghrelinle uyarılmış cAMP-PKA ghrelinin GSH-R1a dışındaki reseptörelere bağlanması sonucuyla da oluşabilir. GSHR1a aktivasyonu aynı zamanda 5'-AMP-aktif protein kinaz (AMPK) aktivitesini fare hipotalamusunda arttırarak, fare karaciğerinde ise azaltarak düzenler (48,66). AMPK' nın ghrelinin glukojenik, lipojenik ve oreksijenik etkileriyle ilişkisinin olması muhtemeldir. Buna ek olarak ghrelin adrenal hücrelerde, preadipositlerde, osteoblastlarda, hepatomada ve pankreatik adenokarsinom hücrelerinde mitojen aktive protein kinaz kaskadını aktive ederek proliferasyonu uyarır (48).

İn vitro olarak GHS-R1a reseptörünün maksimal kapasitesinin %50' sinin aktif olduğu gösterilmiştir (48). Ghrelin reseptörlerinin temel aktivitelerinde kayba neden olan mutasyonları gösterilmiş, fakat bu durumun reseptörün ghreline olan afinitesinde, güç ve etkilerinde azalmaya neden

olmadığı gözlenmiştir. Bu ghrelin reseptörlerindeki sinyal sisteminde meydana gelen kayıplar özellikle puberte sırasında obesite ve boy kısalığı ile karakterize olan sendroma neden olabilmektedir (67,68).

3.3. Ghrelinin biyokimyasal ve fizyolojik etkileri

Ghrelinin büyüme hormonu (GH), adenokortikotropik hormon (ACTH) ve prolaktin salınımı, beslenme, gastrik asit sekresyonu, gastrik motilite ve hücre proliferasyonu gibi birçok farklı sistemi etkilediği bilinmektedir (44).

3.3.1 Ghrelinin büyüme hormonu üzerine etkileri

Ghrelini GH üzerine olan etkileri ilk keşfedilen etkilerindedir. GH salınımı iki farklı yoldan gerçekleşmektedir. Birincisinde büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) hipofiz içine büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörü (GHRH-R) aracılığı ile girer ve intraselüler cAMP seviyesini yükselterek GH salınımını uyarır. İkincisinde ise büyüme hormonu salgılatıcı (GHS) ya da ghrelinin hipofiz mebranında bulunan büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) vasıtası ile hipofiz içine girmesi ve fosfolipaz C aktivasyonu sonucu intraselüler Ca iyonu derişimini yükseltmesiyle GH salınımı uyarılır.

Ghrelin büyüme hormonu salınımını hem in vitro hem de in vivo şartlarda doz bağımlı olarak arttırmaktadır (39). İnsan ve köpeklerde ghrelinin intravenöz verilmesinin büyüme hormonu salınımını uyardığı gösterilmiştir (33). Ghrelin, büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) salınımını artırırken somatostatin salınımını azaltmaktadır. Ghrelin memelilerin dışındaki canlılarda da büyüme hormonu salınımını arttırmaktadır.

Ghreltin ve GHRH'ın birlikte verimesi sinerjik olarak, tek tek verilmesine nazaran büyüme hormonu salınımını daha fazla arttırmaktadır. Ghreltinin büyüme hormonu salgılatıcı özelliği ile vagus siniri arasında bir ilişki bulunmaktadır. Vagus siniri kesildiğinde ghreltin verilmesine rağmen büyüme hormonu salınımının aşırı derecede düşmekte olduğu gösterilmiştir (69).

Büyüme hormonunun anabolizan etkisi ile makrofajları uyararak anastomoz iyileşmesini hızlandırdığı ve anastomozdaki kollojen birikimini arttırarak anastomoz kuvvetini arttırdığı gösterilmiştir (70).

3.3.2 Ghreltinin kardiyovasküler sistem üzerine etkileri

Ghreltin mRNA'sının kalp ve aortada bulunduğu rapor edilmiştir (38, 71). Ghreltin verilen gönüllü insanlarda kalp atım hızının arteryel basınç değişmeden düştüğu bulunmuştur (71). Ratlarda yapılan bir çalışmada ise ghreltinin nükleus traktus salitarii' ye intraserebroventriküler (İCV) enjeksiyonunun kalp hızını ve kan basıncını sempatik aktiviteyi baskılayarak düşürdüğu gösterilmiştir (72). Büyüme hormonu salgılatıcı ve ghreltin verilmesi sol ventrikül atım hacminde yükselmeye neden olmaktadır.

Hipofizektomi yapılan sıçanlarda yapılan bir çalışmada ghreltin uygulaması ile sağlıklı kalp gelişimi tespit edilmiştir. Ek olarak ghreltin arterlerdeki endotelin- 1' in damar daraltıcı etkisini ortadan kaldırmaktadır (44).

3.3.3 Ghrelinin kemik ve diş dokusuna etkileri

Ghrelinin ratlarda osteoblast proliferasyon ve farklılaşmasını uyardığı gösterilmiştir. Dişi sıçanlarda 12 hafta süre ile GHRP-6 veya peptid analogu olan ipamorelin verilmesi sonrası in vivo kemik minerilizasyonunun arttığı dansitometrik ölçümlerle gösterilmiştir. Gastrektomi canlılarda kemik kaybına neden olmaktadır. Bunun nedeninin ghrelinin ana sentez yerinin mide fundus bölgesi olması ve gastrektomi sonrası meydana gelen ghrelin havuzunda eksiklik sonucu kemik doku kaybı ortaya çıkması olarak düşünülmüştür.

Dişlerde bulunan ghrelinin diş dokusunun yenilenmesinde ve dişlerin oluşum sürecinde diş gelişimine katkı yaptığı ileri sürülmüştür (44).

3.3.4. Ghrelinin gastrointestinal sistem üzerine etkileri

Ghrelinin gastrointestinal sistemin ekzokrin salgısı, epitelyum proliferasyonu ve motilitesi de dahil olmak üzere pek çok fonksiyonuna etkisi bulunmaktadır (48).

3.3.5. Ghrelinin otonomik sinir sistemi üzerine etkileri

Ghrelin, sempatik aktiviteyi önleyerek ve vazodilatasyona neden olarak kan basıncını düşürmektedir. İntraserebrovasküler (İCV) ghrelin enjeksiyonu, nükleus traktus solitarius yolu ile kan basıncı ve otonom sinir sisteminin düzenlenmesinde görevli vagusun dorsomotor nükleusunda c-fos ekspresyonuna neden olmaktadır. Ghrelinin üçüncü ventriküle 1 nmol enjeksiyonu, kahverengi yağ dokusunda ısı düzenlenmesinde etkili sempatik aktiviteyi azaltmaktadır. Ghrelinin semptatik aktivitedeki kardiyovasküler ve

vagal boşalma üzerine durdurucu, gastrointestinal parasempatik aktivite üzerine ise hızlandırıcı etki yaptığı bulunmuştur (44).

3.3.6. Ghrelinin diğer metabolik etkileri

Ghrelinin uygulaması sonrası deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda hipofizden salgılanan adrenokortikotropik hormon (ACTH), prolaktin, folikül stimüle edici hormon (FSH), lüteinize edici hormon (LH), veya tiroid stimüle edici hormon (TSH) üzerine etki yapmazken GH salgısını arttırdığı gösterilmiştir (44).

3.3.7. Ghrelinin antioksidan etkileri

Ghrelinin büyüme geriliği, kalp yetmezliği, osteoporoz ve immün sistem baskılanması gibi birçok hastalık durumlarında tedavi amacıyla kullanılabilmektedir (73). Bu etkilerinin yanında ghrelinin antioksidan etkiye sahip olduğunu böylelikle dokularda oluşabilecek oksidatif stresi ve apoptozisi önlediği gösterilmiştir (74,75).

3.3.8. Ghrelinin antiinflamatuvar etkileri

Ghrelinin enerji dengesi üzerindeki etkisinin yanı sıra, hücre proliferasyonu ve sağ kalımın modüle edilmesi, inflamasyonun engellenmesi, immün fonksiyonların düzenlenmesi ve kardiyovasküler eylemlerin düzenlenmesi gibi çok sayıda biyolojik etkileri vardır (76,77,78,79,80,81,82)

4.GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı tarafından İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Anabilim Dallarının katkıları ile gerçekleştirildi.

İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklendi (proje no 2013/194). Deneysel ve Klinik Araştırma Kurulu onayı alındı (proje no:2007/17). Çalışmada deney hayvanları araştırma merkezinde yetiştirilen, standart yem ve çeşme suyu ile beslenen, aynı odada 12 saat gece ve 12 saat gündüz ortamında tutulan ağırlıkları 250–300 gr arasında değişen ~ 4 aylık 28 adet “Wistar Albino” cinsi erişkin erkek ratlar kullanıldı.

Deney gruplarının her biri 7 rattan oluşturuldu.

Deney Grupları

Sham Grubu : Bu gruptaki ratlara laparotomi yapıp retroperitoneal alanda üreter bulundu ve serbestleştirildi üreter obstrüksiyonu yapılmadan tekrar kapatıldı. On beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra ratlar sakrifiye edildi (n=7).

Ghrelın Grubu : Parsiyel üreteral obstrüksiyon uygulanmadı. Yedi gün boyunca intraperitoneal Ghrelın uygulandı ve on beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra sakrifiye edildi (n=7).

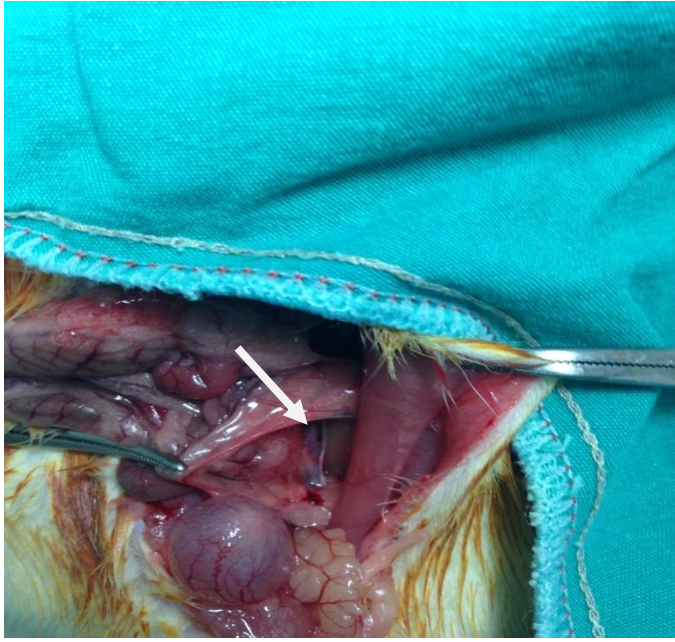
PUO Grubu : Bu gruptaki ratlara laparotomi yapıp retroperitoneal alanda üreter bulundu ve parsiyel üreteral obstrüksiyon uygulandı. Bu işlemi takiben yedi gün beklendi ve sonraki yedi gün boyunca intraperitoneal 0.5 ml/gün

serum fizyolojik verildi. On beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra ratlar sakrifiye edildi (n=7).

PUO+Ghrelin Grubu: Parsiyel üreteral obstrüksiyon yapıp yedi gün beklendi. Daha sonraki yedi gün boyunca intraperitoneal yolla 10ng/kg/gün dozunda Ghrelin uygulandı ve on beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra ratlar sakrifiye edildi (n=7).

4.1. Cerrahi işlem

Ratların tümüne operasyon öncesi cerrahi profilaksi için 100 mg/kg dozda sefazolin sodyum, intraperitoneal yolla verildi. Ratlara cerrahi işlemden önce 12 saat aç bırakıldı ancak su alımı kısıtlanmadı. Cerrahi işlem öncesi 40 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, İstanbul) ve 8 mg/kg xylazin (Rompun, Bayer Ag, Leverkusen, Germany) kombinasyonu intraperitoneal enjeksiyon yolu ile anestezi oluşturmak amacıyla uygulandı. Sham grubundaki ratlara batın orta hat kesisi ile laparotomi uygulandı, sol üreter bulunup serbestleştirildi ve usülüne uygun olarak tekrar kapatıldı. On beşinci gün ratlara nefrektomi uygulandı. PUO grubu ve PUO+Ghrelin grubundaki ratların sol üreterlerine, kısmi üreter obstrüksiyonu Ulm ve Miller'in tanımladığı tekniğe uygun olarak gerçekleştirildi (H25). Ratların karın derisi traş edilip steril koşullarda orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı ve bağırsaklar mediale alınarak sol böbrek ve sol üreter bulundu (Resim 3). Psoas kasında oluşturulan yarığa sol üreter yerleştirildikten sonra psoas kasının iki tarafı 6/0 polypropylene (Prolen, Ethicon) suturele yaklaştırıldı (Resim 4). Karın ön duvarı 4/0 ipek sutureler ile tek tek kapatıldı.



Resim 3: Ratlarda orta hat kesi ile bağırsakların orta hatta deviasyonu ve sol böbrek ve üreterin bulunması.



Resim 4: Sol üreterin psoas kasında yarığa gömülmesi ve psoas kasının prolens suture ile kapatılması.

Ghrelin grubundaki ratlara yedi gün boyunca 10 ng/kg/gün dozunda ghrelin intraperitoneal yolla verilirken, PUO+Ghrelin grubundaki ratlara ise

yedi günlük obstrüksiyonu takip eden yedi gün boyunca 10 ng/kg/gün dozunda ghrelin intraperitoneal yolla verildi. Ghrelin grubundaki ratlara ve PUO+Ghrelin grubundaki ratlara on beşinci gün nefrektomi uygulandı. Tüm gruplarda Ghrelinin kesin etkisini değerlendirmek ve çalışmanın kendi içerisindeki normal değerlerini yani standartlarını ortaya koymak için, nefrektomi işlemi uygulanarak cerrahi işlemler sonuçlandırıldı.

Çalışma sonunda ratlar genel anestezi altındayken, yüksek doz ketamin klörür ile sakrifiye edildi.

4.2. Histolojik Analiz

Histopatolojik değerlendirme için sıçanların böbrek dokuları 3-4 mm' lik küçük parçalara ayrıldı. Daha sonra plastik doku takip kasetlerine konularak %10' luk formaldehit içerisinde 24 saat süre ile fikse edildi. Fiksasyon işleminin ardından dokular 24 saat boyunca akan çeşme suyunda yıkandılar. Dereceli alkollerde dehidrate edilerek, ksilende şeffaflaştırılıp parafine gömüldüler. Parafin bloklardan Leica RM2145 marka mikrotom yardımıyla 5'er mikron'luk kesitler alındı. Kesitlere genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla Hematoksilen ve eozin boyama yöntemi uygulandı. Renal hasar; intertubuler hemoraji, peritubuler infiltrasyon, glomerüler konjesyon ve glomerüler kapiller kollaps yönünden değerlendirildi. Her kesitten X20' lik büyütmede 10 alan incelendi ve histopatolojik skorlama renal hasarın derecesi ve yaygınlığına göre belirlendi. Hasarın şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak değerlendirildi. Preparatlar Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica Micros Imaging solution Ltd,

Cambrige, UK) görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlandı, fotoğrafları çekildi.

4.3. Biyokimyasal Analiz

4.3.1. Homojenizasyon

Dokular buz soğukluğundaki salin tamponlu fosfat (PCV Kinematica Durum Homojenizatör) içinde homojenize edildi (pH 7.4). Homojenat (buz üzerinde 20-s Sonikatör ve 40-s pause) ile ultra sonifiyer (450 sonifier Branson) ile 3 aşamada sonifiye edildi. Santrifüjlenmiş homojenat (15,000 xg, 10 dakika, 4 °C) ve hücre içermeyen süpernatant hemen enzim analizine tabi tutuldu (83).

4.3.2. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

4.3.2.1. Katalaz (CAT) Analizi

CAT aktivitesi 240 nm ve 37 °C'de, hidrojen peroksit'in (H₂O₂) kaybolma hızı takip edilerek ölçüldü (~240=40 M⁻¹ cm⁻¹) (84). Katalaz aktivitesi birimi 37 °C de dakika başına 1 µ mol H₂O₂ bozulması ve substratın (µ mol olarak) dönüşümüne karşılık gelen dakika başına mg protein spesifik aktivite (H₂O₂) ortalaması enzim katalize miktarı olarak tanımlanmıştır.

4.3.2.2. Süperoksit dismutaz (SOD) Analizi

SOD (Cu, Zn-SOD) aktivitesi süpernatant fraksiyonun ksantin oksidaz / sitokrom c yöntemiyle 1 ünite (U) sitokrom c aktivitesinin maksimum inhibisyonunun yarısına indirgemek için ihtiyaç duyulan enzim miktarı

şeklinde ölçülmüştür. Ekstrakttaki SOD enzim miktarı standart ticari bir SOD kullanılarak mg-1 U proteini olarak belirlendi.

4.3.2.3. Miyeloperoksidaz (MPO) Analizi

Doku ilişkili MPO aktivitesi Hillegas ve arkadaşları tarafından yapılan işleme benzer bir prosedür kullanılarak ölçüldü (85). Böbrek örnekleri 50 mmol / L potasyum fosfat tampon maddesi içinde homojenize edildi (PB, pH 6.0), 41400g santrifüjlendi (10 dakika) ve peletler % 0.5 hekzadesiltrimetilamonyum bromür (HETAB) içeren 50 mmol / L PB içerisinde süspansiyon haline getirildi. Üç donma-çözülme döngüsünden sonra, döngüler arasında sonikasyon yapılarak, numuneler, 10 dakika boyunca 41 400g santrifüjlendi. Alikolar (0.3 ml), 50 mmol / L PP, o'dianisidine ve 20 mmol / L H₂O₂ çözeltisi ihtiva eden tepkime karışımına 2.3 ml ilave edildi. Enzim aktivitesinin bir ünitesi, 3 dakika boyunca 460 nm de ölçülen absorbans değişimine neden olan mevcut MPO miktarı olarak tanımlandı. MPO aktivitesi U / g yaş doku olarak tanımlandı.

4.3.2.4. Lipid Peroksidasyonu analizi (MDA)

Lipid peroksidasyonunun analizi tarif edilenin küçük bir modifikasyonu ile gerçekleştirildi (86). Reaksiyon karışımı, 2 ml reaksiyon çözeltisi içine 250 uL homojenatı ilave edilerek hazırlandı (15% triklorasetik asit: 0.375% tiyobarbitürik asit: 0.25 N HCl, 1:1:1, w/v) ve 15 dakika boyunca 1000 °C ısıtıldı. Karışım, oda sıcaklığına kadar soğutuldu, santrifüje edildi (10 dakika boyunca 10,000 g) ve 532 U / g süpernatant ıslak doku elde edildi.

4.3.2.5. Total Glutasyon (tGSH) Analizi

5-tiyo-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumu, 412 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmektedir (87). Ekstrakttaki GSH miktarı ticari bir GSH standardı kullanılarak nmol / mg protein olarak belirlendi.

4.3.2.6. Protein Tayini

Doku numunelerinin protein seviyeleri Bradford metodu ile ölçüldü (88). Absorbans ölçümü, 595 nm 'de bir UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak yapıldı. Protein standardı olarak sığır serum albümini (BSA) kullanılmıştır.

4.4. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS programı (SPSS for Windows version 17) ile yapıldı. Sonuçlar one-way ANOVA, Tamhane's T2 ve bağımsız t testi kullanılarak değerlendirildi. Tek yönlü varyans analizi (Oneway Anova testi), gruplar arası çoklu karşılaştırmalarda Tamhane ve bağımsız t-testleri kullanıldı. Tüm sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart hata ($X \pm SE$) olarak belirtildi, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Histopatolojik Bulgular

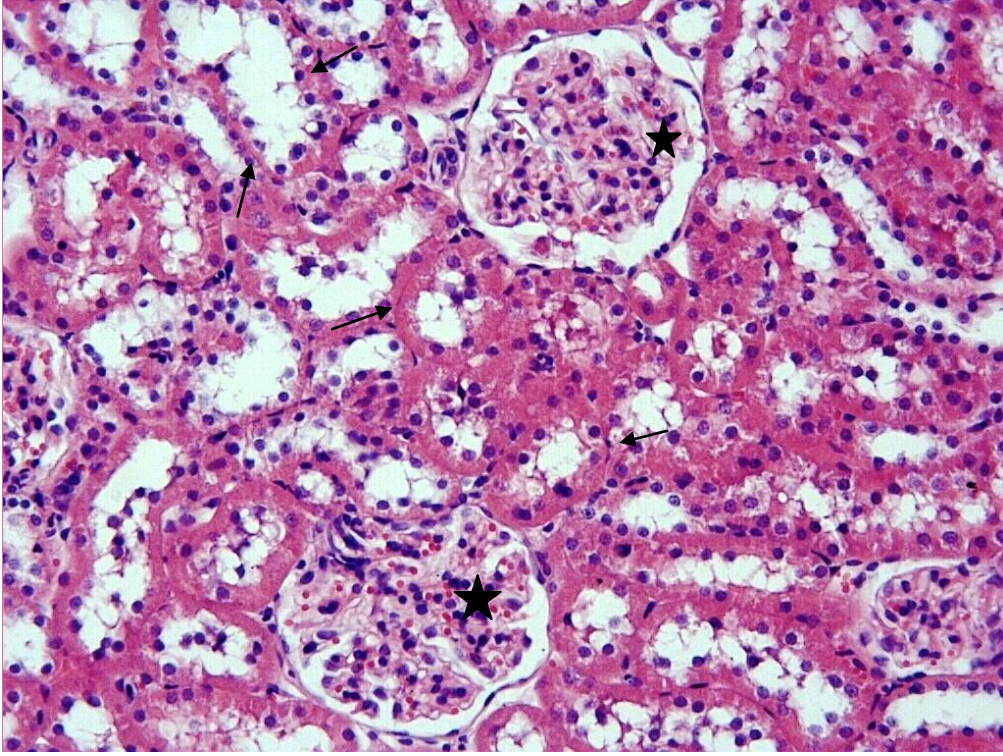
Tüm ratların böbrek dokularına genel histolojik yapıyı gözlemlemek amacıyla Hematoksilen ve eozin boyama yöntemi uygulandı. Renal hasar; intertubuler hemoraji, peritubuler infiltrasyon, glomerüler konjesyon ve glomerüler kapiller kollaps yönünden değerlendirildi. Her kesitten X20' lik büyütmede 10 alan incelendi ve histopatolojik skorlama renal hasarın derecesi ve yaygınlığına göre belirlendi. Hasarın şiddetine göre; 0 (değişiklik yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (ağır) olarak değerlendirildi.

Sham grubundaki ratların böbrek kesitlerinde kortekste yer alan glomerül ve tübül yapıları normal histolojik yapıda izlendi (Resim 5).

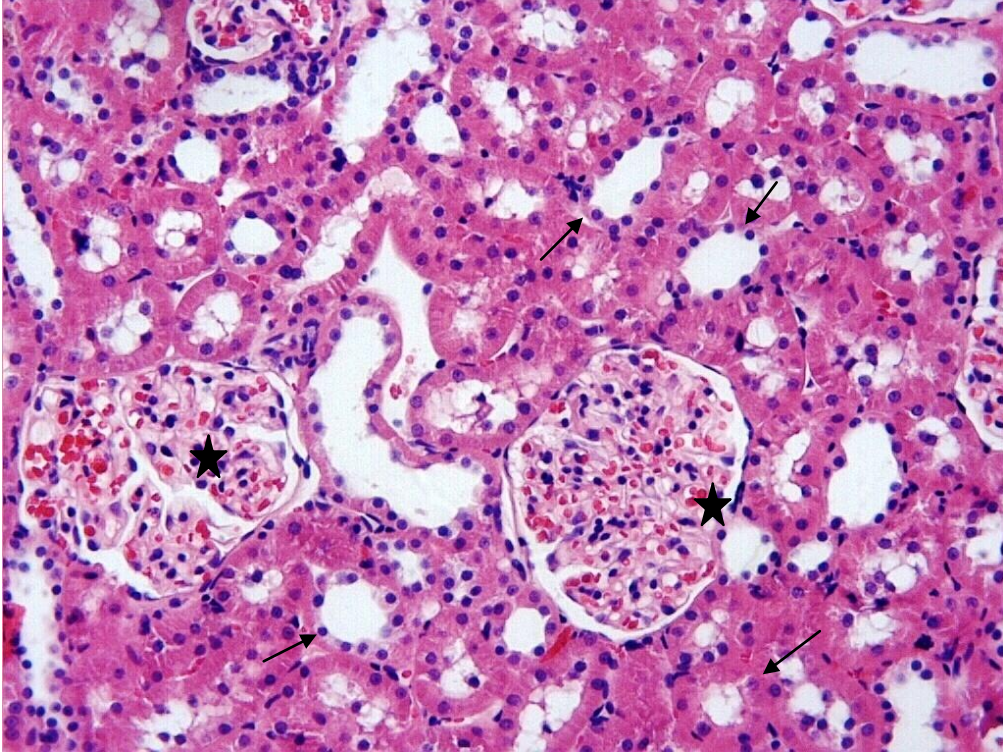
Ghrelin grubundaki ratların böbrek kesitlerinde böbrek korteksi içerisinde yer alan glomerüllerin ve tübüllerin histolojik görünümü kontrol grubuna benzer şekildeydi (Resim 6).

PUO grubundaki rat böbrek dokusu preparatlarında, kortekste intertübüler alanda belirgin hemoraji ve infiltrasyon izlendi (Resim 7). Bazı glomerüllerde ise glomerüler konjesyon ve kollaps gibi değişiklikler gözlemlendi (Resim 8). Bu grupta histopatolojik hasar skoru 5.71 ± 0.18 olarak tespit edildi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p=0.001$) (Tablo 6).

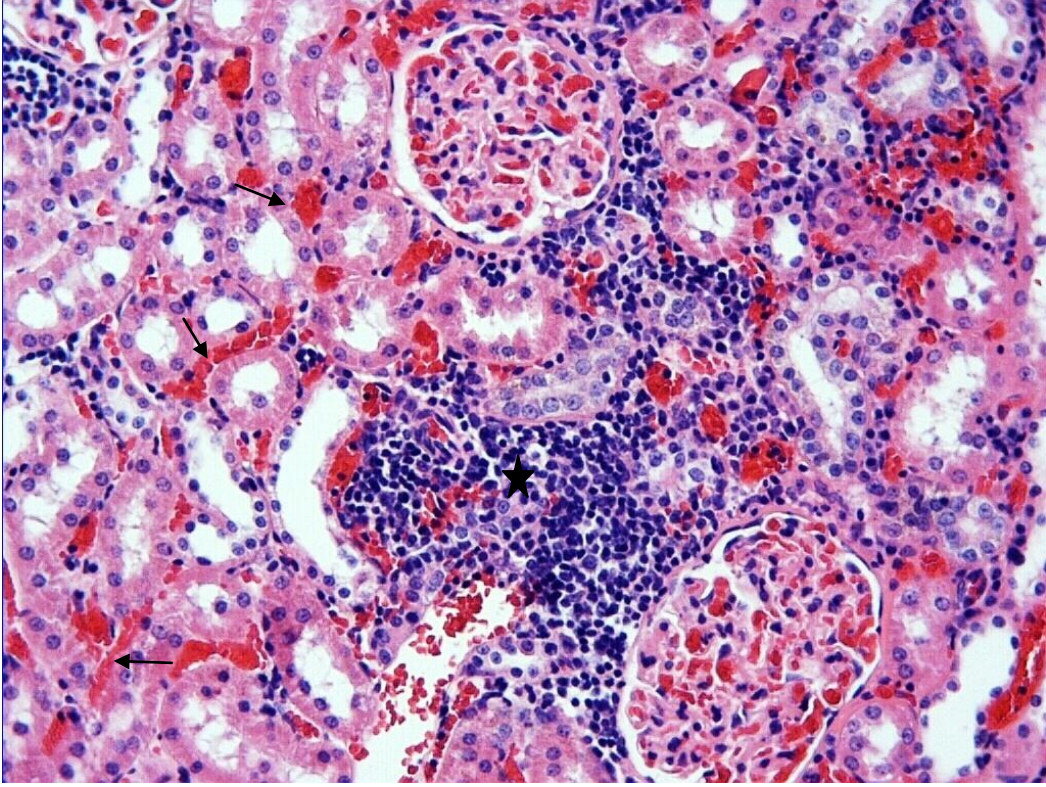
PUO+Ghrelin grubundaki kesitlerde böbrek dokusu histolojik olarak normal görünmesine rağmen lokal inflamatuvar inflamasyon alanları izlenmekteydi (Resim 9). PUO grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta (1.42 ± 0.52) histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p=0.001$).



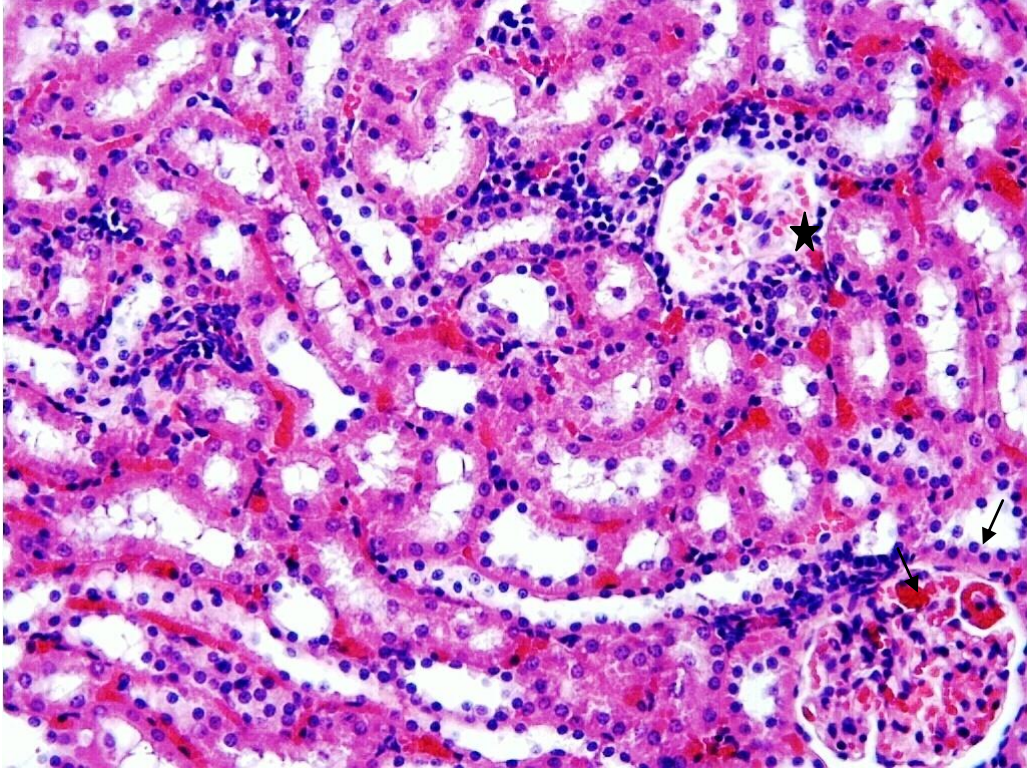
Resim 5. Kontrol grubuna ait böbrek dokusunda glomerul (yıldız) ve tubul yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20



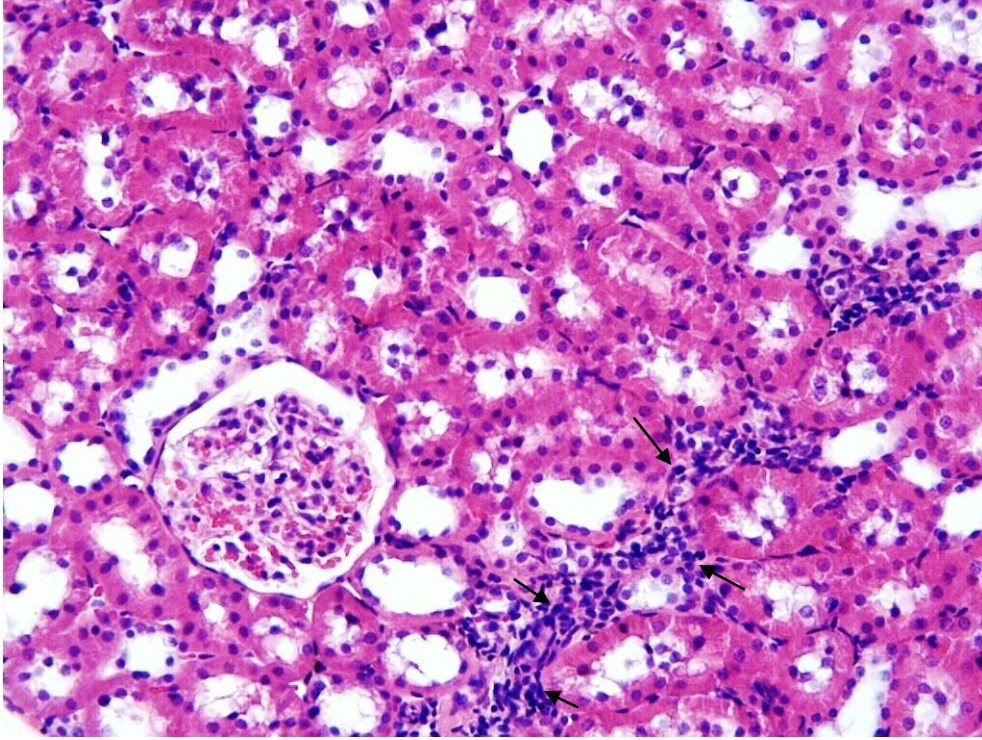
Resim 6. Ghrelin grubuna ait böbrek dokusunda glomerul (yıldız) ve tubul yapıları (oklar) normal olarak izlenmekte H-E; X20



Resim 7. PUO grubuna ait böbrek dokusunda intertubuler hemoraji (oklar) ve infiltrasyon alanları (yıldız) izlenmekte H-E; X20



Resim 8. PUO grubunda bazı glomerüllerde glomerüler konjesyon (oklar) ve kollaps (yıldız) izlenmekte H-E; X20



Resim 9. PUO+ Ghrelin grubunda böbrek dokusu histolojik olarak normal görünmesine rağmen bazı alanlarda hala inflamatuvar inflamasyon izlenmekte (oklar) H-E; X20.

Tablo 6.Tüm gruplara ait histolojik hasar skorlaması

Gruplar	Histolojik hasar
Sham	0.42±0.20
Ghrelin	0.57±0.20
PUO	5.71±0.18 ^a
PUO+Ghrelin	1.42±0.52 ^b

^aSham grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p=0.001)

^bPUO ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p=0.001)

5.2. Biyokimyasal Bulgular

Biyokimyasal bulgular açısından sham grubu ile parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu (PUO) karşılaştırıldığında CAT, GSH ve MPO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanırken, SOD ve MDA düzeylerinde herhangi bir fark tespit edilmemiştir. PUO ile PUO+Ghrelin gurubu karşılaştırıldığında ise SOD ve GSH düzeylerinde istatistiksel anlamlılık tespit edilirken, CAT, MDA ve MPO düzeylerinde herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (Tablo 7).

Tablo 7. Tüm gruplara ait biyokimyasal analiz sonuçları

	CAT (U/mg protein)	SOD (U/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	MDA (nmol/g ıslak doku)	MPO (U/g ıslak doku)
Sham	590.77±56.22	3.82±0.14	3.02±0.28	69.39±19.36	8.65±2.73
Ghrelin	681.77±126.55	4.65±0.37	2.67±0.23	48.53±20.09	8.85±2.41
PUO	484.81±73.32 ^a	3.52±0.39	1.59±0.41 ^a	100.47±22.36	18.54±3.25 ^a
PUO+ Ghrelin	571.19±126.25	4.16±0.28 ^b	2.77±0.19 ^b	51.90±7.54	10.42±1.62

^aSham grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

^bPUO grubu ile istatistiksel olarak anlamlı fark (p<0.05)

6. TARTIŞMA

Parsiyel üreteral obstrüksiyon, üreterin herhangi bir yerinde meydana gelen ve idrar akışını engelleyen bir patolojidir (1). Obstrüksiyonun giderilmemesi halinde böbrek kaybına kadar ilerleyebilen bu durum birçok etyolojik neden sonucunda meydana gelebilmektedir. Obstrüksiyon durumunda obstrüksiyonun giderilmesine rağmen böbrekte hasar gelişebilmektedir. Tedavi edilmemesi halinde morbidite ve mortalitelere neden olabilmektedir. Postrenal obstrüksiyon sonrası basınç artışı meydana gelmekte ve bu artış toplayıcı sistemde dilatasyona, intertisyel alanda fibroblast aktivitesinin artışına, mononükleer hücre artışına, makrofaj sayısında artışa sebep olmakta ve hücrelerde inflamatuvar bir süreç başlamaktadır (12). Serbest oksijen radikallerin oluşumu, sitokinlerin salınımı sonrasında başlayan ve günümüzde tam olarak aydınlatılmamış olaylar zincirini takiben hücrelerde apoptozis ve intersitisyel fibrozis yoluyla nefron kaybı meydana gelmektedir. Böbrekte nefron hasarı oluştuktan sonra bu nefronlar mitotik aktiviteleri olmadığından sayılarını arttıramazlar (21). Bu aşamaların herhangi birisine yapılacak bir müdahale veya verilecek herhangi bir madde nefron hasarının ilerlemesini önleyebilir. Obstrüksiyonun giderilmesini takiben meydana gelen böbrek fonksiyonlarındaki bozulmanın mekanizmaları ortaya çıkarılabilirse bu durum için kullanılacak farmakolojik ajanlar ile böbreğin zarar görmesi azaltılabilir.

PUO sonucu böbrekte meydana gelen hasarı azaltmak ve/veya ortadan kaldırmak için antiinflamatuvar, antoksidan ve antiapoptotik etkileri olan ajanlarla yapılan birçok çalışma mevcuttur.

Miyajima ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada UUO yapılan ratlara 2 hafta boyunca COX-2 inhibitörü olan Etodolak 10 mg/kg verilerek renal tübüler hasar ve intertisyel fibrozis üzerindeki etkileri araştırılmış ve obstrükte böbrekte, doku PGE2 yapımı, TGF-B düzeyi, tübüler apopitozis ve intertisyel fibrozisin arttığı saptanmıştır. Etodolak tedavisi verilen grupta doku PGE2 yapımı, TGF-B konsantrasyonu, tubuler apopitozis ve intertisyel fibrozisin belirgin şekilde azaldığı saptanmış olup Etodolak'ın UUO'a bağlı renal hasarı önleme açısından umut verici bir ajan olduğu belirtilmiştir (89).

Miyajima ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada UUO oluşturulmuş ratlarda antialerjik bir ajan olan N-antranilic acid (tranilast) operasyondan bir gün önce başlayarak postoperatif dönemde 14 gün boyunca 150 mg/kg verilmiş ve Tranilast'ın kontrol grubuna göre dokuda tübüler apopitozisi azalttığı ve tübüler proliferasyonu arttırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, UUO' da renal tübüler hasarı önleme açısından Tranilast'ın önemli bir ajan olduğunu göstermektedir.(90)

He ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada ratlarda UUO oluşturulmuş ve losartanın renal tübüler hücre apopitozisi ve renal hücre fibrozisi üzerine etkisi amaçlanmış, sonuç olarak losartanın UOO'da renal fibrozisi ve tübül hücre apopitozisini hafiflettiği gösterilmiştir (91).

Topçu ve ark. yaptığı çalışmada ise parsiyel UUO oluşturulan ratlarda Verapamil'in renal tübüler apopitozu azalttığı tespit edilmiştir (92).

Bu çalışmada da antinflamatuar ve antioksidan özellikleri bilinen Ghrelin'in PUO sonucu meydana gelen böbrek hasarı üzerine olan etkileri biyokimyasal ve histopatolojik açıdan incelendi.

Literatür incelendiğinde farklı deney modellerinde Ghrelin' in etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur.

Güven ve ark. yaptığı çalışmada travma nedeniyle meydana gelen akut akciğer hasarı oluşturulan ratların bir kısmına ghrelin verilmiş ve bu hasarın anlamlı ölçüde geri döndüğü tespit edilmiştir. Bunun ghrelinin antiinflamatuar etkinliğine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (93).

Travmatik beyin hasarı sonucu oluşturulan nörolojik yaralanma modellerinde ghrelin verilen ratlarda diğer gruplara göre apoptozda anlamlı derecede azalma saptanmış ve bunun ghrelinin antiinflamatuar, antioksidan ve nörokoruyucu etkilerine bağlı olduğu düşünülmüştür (94).

Koroner arter ligasyonu yapıp akut myokard infarktüsü oluşturulmuş ratlarda, infarktüs sonrası ventiküler remodelingin araştırıldığı bir çalışmada ghrelin verilen grupta diğer gruplara göre ghrelinin inflamatuvar yanıtı inhibe ettiği ve bu antiinflamatuar etkisinden dolayı ventriküler remodelingi hafiflettiği görülmüştür (95).

Aşırı dozda asetaminofen alımı sonucu oluşan karaciğer toksisitesinde ghrelinin koruyucu rolünün değerlendirildiği Golestan ve ark. yaptığı çalışmada ghrelin verilen grupta diğer gruplara göre karaciğer hasarını antioksidan ve antiinflamatuar etkileri yoluyla azalttığı tespit edilmiştir (96).

Kronik karaciğer hasarında ghrelinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ghrelinin antioksidan etkilerini NO ile sağladığı ve başta MDA olmak üzere diğer serbest oksijen radikallerin göstergesi olan maddeleri azalttığı tespit edilmiştir (97)

Ghrelinin immun sistem ve inflamasyon üzerinde etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada ghrelinin dolaşımında bulunan proinflamatuvar sitokinleri azaltarak oluşturduğu antiinflamatuvar etkilerinden dolayı inflamatuvar hastalıklarda ve yaralanma sonucu oluşan inflamasyonda tedavi edici bir ajan olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır (5).

Osteoporoz ve diğer kemik hastalıklarının korunmasında kullanılan ve bir aminopeptid olan alendronat sodyum kullanılarak mide hasarı oluşturulan ratlarda ghrelinin diğer gruplara göre koruyucu ve tedavi edici etkileri olduğu bulunmuştur. Ghrelinin bu etkisini dokularda serbest oksijen radikallerinin göstergesi olan MPO ve MDA düzeylerini azaltarak aynı zamanda antoksidan bir enzim olan GSH' yı da arttırarak oluşturmaktadır. Bunun yanında antiinflamatuvar etkisi olduğu da gösterilmiştir (98).

İnflamatuvar barsak hastalığı oluşturulmuş hayvan modellerinde ghrelinin lenfosit aracılıklı antin inflamatuvar etkilerinden dolayı tedavide kullanılabilirliği gösterilmiştir (99).

Parasetamol kaynaklı akut hepatotoksisite oluşturulmuş ratlarda ghrelinin koruyucu etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ghrelin verilen grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında CAT, SOD, GSH da artış, MPO ve MDA düzeylerinde anlamlı derecede azalma olduğu ve histopatolojik değişikliklerin

ghrelin grubunda iyileştirici yönde değişiklik gösterdiği görülmüştür. Bu etkilerin ghrelinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (100).

Pamukçu ve ark. nın yaptığı dextran sülfat sodyum ile oluşturulmuş rat kolit modelinde ghrelinin antiinflamatuvar etkinliği araştırılmış. Dokularda oksidatif hasarın majör göstergesi olan MDA ve inflamasyonun göstergesi olan MPO düzeylerinde ghrelin grubunda diğer gruplara göre anlamlı derece düşüş tespit edilmiştir. Ayrıca ghrelin verilen grupta inflamatuvar sitokinlerin azaldığı ve buna yanıt olarak antiinflamatuvar sitokinlerin arttığı tespit edilmiştir (101).

Sepsis kaynaklı akut böbrek hasarında ghrelinin etkilerinin araştırıldığı Khowailed ve ark. nın yaptığı çalışmada ghrelin verilen grupta kontrol grubu ve diğer gruplara göre doku MPO düzeylerinde azalma tespit edilmiş antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinden dolayı bu hasarı tedavi ettiği saptanmıştır (102).

Fokal serebral iskemi yapılarak iskemik beyin hasarı oluşturulmuş ratlarda ghrelinin nöroprotektif etkilerinin araştırıldığı çalışmada ghrelin ile tedavi edilen grupta ghrelinin anti-apoptotik ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı iyileşme gözlenmiştir (103).

Subaraknoid kanamanın neden olduğu oksidatif beyin hasarı oluşturulan ratlarda ghrelinin antiinflamatuvar ve nöroprotektif etkilerinin araştırıldığı Erşahin ve ark. nın yaptığı çalışmada ghrelin verilen gruptaki ratların beyin dokularında diğer gruplara göre MDA, MPO, Na-K ATPaz

aktivitesi ve DNA fragmantasyon oranlarının azaldığı görülmüştür. Oksidatif beyin hasarında ghrelinin antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı nöroprotektif rol oynadığı tespit edilmiştir (104).

Spinal kord hasarı yapılan ratlarda ghrelinin antiinflamatuvar etkilerinin araştırıldığı çalışmada ghrelinin omurilik dokusunda inflamasyonu ve oksidatif hasarı azaltarak histolojik ve biyokimyasal değişikliklerde anlamlı düzelmeye sağladığı görülmüştür (105).

Karbon tetraklorür ile akut karaciğer toksisitesi oluşturulmuş ratlarda ghrelinin rolünün araştırıldığı bir diğer çalışmada ghrelin grubunda kontrol grubu ile diğer gruplara oranla doku MDA ve MPO seviyelerinde anlamlı derecede azalma tespit edilirken diğer yandan histopatolojik değerlendirmede akut konjesyon ve inflamasyonu anlamlı derecede azalttığı tespit edilmiştir (106).

Bu çalışmada, histolojik incelemede PUO sonrası yedi gün boyunca Ghrelin tedavisi ile böbrek glomerül yapısında konjesyon, intersitisyel inflamasyon ve glomeruler hemorajik alanlarda diğer gruplara oranla belirgin azalma olduğu görüldü. Aynı dokularda inflamatuvar süreçte rol oynayan, lökositlerden salgılanan MPO düzeyinde azalma saptandı. Ayrıca Ghrelin tedavisinin oksidatif hasara bağlı artış gösteren MDA düzeyini azaltırken, CAT, SOD ve GSH gibi antioksidanların seviyesinde artışa neden olduğu gözlemlendi.

Ghrelın antiinflamatuvar ve antioksidan etkileri olması sebebiyle inflamatuvar süreçte fibrozisi önleyerek ve ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin etkilerini ortadan kaldırarak böbrek hasarını azaltabilir.

Sonuç olarak, PUO sonrası böbrek hasarının önlenmesinde yapılan çalışmalarda çeşitli ajanlar kullanılmasına ve nerilmesine rağmen tedavi konusunda bir standart oluşturulamamıştır. Bunun sebebi böbrek hasarı nedenin tam olarak ortaya konulamamış olması ve çalışmaların hala deneysel aşamada olması olarak değerlendirilebilir. Yapılacak çalışmaların, bir sonraki çalışmaya ışık tutması önemlidir. Biz alışmamızda obstrükte böbrekte fonksiyon kaybının azalmasında ghrelinin hem histopatolojik olarak hem de kısmen de olsa biyokimyasal olarak olumlu etkileri olduğunu tespit ettik. Dolayısıyla klinik olarak üriner obstrüksiyonla karşılaşılan durumlarda obstrüksiyonun daha fazla fonksiyon kaybına neden olmaması için, obstrüksiyon ortadan kaldırılana kadar ghrelın tedavisinin kullanılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER :

Histopatolojik değerlendirme sonucunda; Sham grubu ile PUO grubu karşılaştırıldı. PUO grubunda bazı glomerüllerde konjesyon alanları, kollaps ve peritübüler inflamasyon alanları olduğu görüldü. Bu iki gruptaki histopatolojik hasar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

PUO+Ghrelın verilen grupta ise histopatolojik olarak glomerüler konjesyon alanlarının ve inflamasyonun ghrelının antiinflamatuvar etkisine bağılı olarak istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi.

Biyokimyasal analiz sonucunda ise kontrol grubu ile parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu karşılaştırıldığında CAT, GSH ve MPO seviyelerinde istatistiksel anlamlılık saptanırken, PUO ve PUO+Ghrelın grubu karşılaştırıldığında SOD ve GSH düzeylerinde bu anlamlılık tespit edilmiştir.

Bu sonuçlar ışığında parsiyel üreteral obstrüksiyon oluşturulmuş rat böbrek dokusunda ghrelın histopatolojik olarak antiinflamatuvar etki göstermesine rağmen, antioksidan etkiyi kısmen oluşturmuştur.

Obstrüktif üropati bazen geri dönüşümsüz hasara sebebiyet vererek kişinin yaşam kalitesini bozmakta ve oluşabilecek hasarı ortadan kaldırmak için yüksek maliyetli tedavilere gerek duyulmaktadır. Bunu önlemek için kullanılabilir Ghrelın'ın klinik kullanıma girebilmesi için daha geniş serili ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

8.ÖZET

Amaç

Parsiyel üreteral obstrüksiyon oluşturulmuş ratlarda böbrekte meydana gelen hasarın önlenmesinde antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği olan Ghrelin'in koruyucu ve tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Wistar Albino cinsi erişkin 28 rat dahil edildi ve ratlar 4 gruba ayrıldı. Sham grubuna laparotomi yapıldıktan sonra retroperitoneal alanda üreter bulundu ve usülüne uygun olarak tekrar kapatıldı (n=7). Ghrelin grubuna yedi gün boyunca intraperitoneal Ghrelin uygulandı ve on beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra sakrifiye edildi (n=7). Parsiyel üreteral obstrüksiyon grubuna laparotomi sonrası parsiyel üreteral obstrüksiyon yapıldı. Bu işlemi takiben yedi gün beklendi ve sonraki yedi gün intraperitoneal serum fizyolojik verildi. On beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra ratlar sakrifiye edildi (n=7). Parsiyel üreteral obstrüksiyon+Ghrelin Grubuna laparotomi sonrası parsiyel üreteral obstrüksiyon yapıp yedi gün beklendi. Bunu takip eden yedi gün boyunca intraperitoneal 10ng/kg/gün dozunda Ghrelin uygulandı ve on beşinci gün nefrektomi uygulandıktan sonra ratlar sakrifiye edildi (n=7). Tüm gruplar histolojik hasar yönünden değerlendirildi ve aynı dokularda Katalaz, Süperoksit Dismutaz, Total Glutasyon, Malon Dialdehit ve Myeloperoksidaz ölçümü yapıldı.

Bulgular

Histolojik değerlendirmede Parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında parsiyel üreteral obstrüksiyon grubunda hasarın istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi ($p=0.001$). Parsiyel üreteral obstrüksiyon+Ghrelin grubu ile parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu karşılaştırıldığında ise bu grupta histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edildi ($p=0.001$). Biyokimyasal analiz yapıldığında parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında biyokimyasal değişikliklerin Katalaz, Total Glutasyon ve Myeloperoksdaz düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlılığı ($p<0.05$) tespit edildi. parsiyel üreteral obstrüksiyon grubu ile parsiyel üreteral obstrüksiyon+Ghrelin grubunun karşılaştırılmasında Süperoksit Dismutaz ve Total Glutasyon düzeylerinde istatistiksel anlamlılık saptandı ($p<0.05$).

Sonuç

Deneyssel parsiyel üreteral obstrüksiyon oluşturulmuş ratlara Ghrelin verilmesi antiinflamatuvar ve antioksidan etkilerinden dolayı doku hasarını azaltmaktadır. Ostrüktif üropati gelişen durumlarda Ghrelin verilmesi biyokimyasal ve histopatolojik olarak doku hasarını önleyebilir. Ghrelin'in klinik kullanıma girebilmesi için bu konuda daha geniş serili ve çok merkezli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler : Parsiyel Üreteral Obstrüksiyon, Ghrelin

9.ABSTRACT

Object

Protective and therapeutic effects of Ghrelin which has the antioxidant and anti-inflammatory activity on preventing kidney damage that was occurred by induced partial ureteral obstruction in rats was aimed to investigate.

Material and Method

28 adult male rats are breed of Wistar albino were included to the study and rats were divided into 4 groups. After the laparotomy operation to Sham group ureter was identified at the retroperitoneal area and was duly sutured (n = 7), Ghrelin was performed for seven days intraperitonealy and after the nephrectomy at the fifteenth day rats were sacrificed (n=7). Partial ureteral obstruction was performed after the laparotomy to the PUO. We waited for seven days after this procedure and salin infusion was performed intrapetionealy for next seven days. Rats were sacrificiated after the nephrectomy operation at fifteenth day (n=7). Partial ureteral obstruction was performed after the laparotomy and waited for seven days in the PUO+Ghrelin group. Ghrelin was given at the 10ng/kg/day dose intraperitonealy for next seven days and rats were sacrificed after the Nephrectomy operation at fifteenth day (n=7). All groups were evaluated for histological damage and Catalase, Superoxide Dismutase, Total Glutathione, Malondialdehyde and Myeloperoxidase levels were measured in the same tissues.

Results

When second group and the group with sham were compared histologically, it was observed that damage had increased in statistically significant in partial ureteral obstruction group ($p=0.001$). When ghrelin-treated after partial ureteral obstruction group was compared with the group of just partial ureteral obstruction, histopathological changes were found to be significantly reduced in this group ($p=0.001$). While Statistical significance on CAT, GSH and MPO enzymes levels were detected on biochemical changes in the second group when compared with the sham group ($p < 0.01$), the third group showed a statistically significant difference in the levels of SOD and GSH enzymes compared with the fourth group ($p < 0.05$).

Conclusion

Ghrelin administration to the rats after experimental partial unilateral ureteral obstruction forming, ghrelin administration reduces tissue damage due to ghrelin's anti-inflammatory and antioxidant effects. Ghrelin administration may prevent tissue damage by biochemically and histopathologically in cases of obstructive uropathy events. In order to get in to the clinical use of Ghrelin, larger series and multicenter studies are needed in this regard.

Keywords : Partial Ureteral Obstruction, Ghrelin

10.KAYNAKLAR

1. Lameire N., Van Biesen W., Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet* 2005; 365(9457): 417-430.
2. Yokoyama H., Tsuji Y. Diuretic doppler US in chronic unilateral partial ureteric obstruction in dogs. *BJU International* 2002; 90:100-4.
3. Klahr S. New insights into the consequences and mechanisms of renal impairment in obstructive nephropathy. *Am J Kidney Dis.*1991;18(6): 689-99.
4. Klahr S., Purkerson ML. The pathophysiology of obstructive nephropathy: the role of vasoactive compounds in the hemodynamic and structural abnormalities of the obstructed kidney. *Am J Kidney Dis.* 1994; 23(2): 219-23.
5. Baatar D., Patel K., Taub DD. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 340(1): 44-58.
6. Tanagho EA. Embryology of the genitourinary system. In: Tanagho EA, McAninch JW (Eds.). *Smith's General Urology* 16th ed. New York: McGraw-Hill Co; 1994. s.17-9.
7. Hinman FJ. Development of the kidney, ureter and adrenal gland. In: Hinman FJ(eds). *Atlas of urosurgical anatomy.* WB Saunders Company, Philadelphia 1996; s.235-54.
8. Redman JF. Anatomy of genitouriner system. in: Gillenwater JY (eds). *Adult and pediatric urology.* Mosby Year Book Inc., St.Louis 1991; s.1-631.
9. Tisher CC., Madsen KM. Anatomy of the kidney. In: Brenner BM(eds). *The Kidney.* WB Saunders Company, Philadelphia 1996; s.3-72.
10. Artur C.G., John E. H. *Tibbi fizyoloji* 9. baskı. 1996; s.317.
11. Carlos LJ., Jose C., Robert O. K. *Temel Histoloji.* 8. baskı.1998; s.559.
12. Eddy A. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7(12): 2495-508.

13. Pimentel JL Jr., Martinez-Maldonado M., Wilcox JN., Wang S., Luo C. Regulation of renin-angiotensin system in unilateral ureter obstruction. *Kidney Int* 1993; 44(2) :390-400.
14. Morrissey JJ., Klahr S. Effects AT2 receptor blockade on the patogenesis of renal fibrosis. *Am J Physiol* 1999; 276(1): F39-45.
15. Strong K. Plastic studies in abnormal renal architecture. *Arch Pathol* 1940; 29: 77-119.
16. Sheehan H., Davis J. Experimental hydronephrosis. *Arch Pathol* 1959: 68: 185.
17. Heyman SN., Fuchs S., Jaffe R., Shina A., Ellezian L., Brezis M. et all. Renal microcirculation and tissue damage during acute ureteral obstruction in the rat: Effect of saline infusion, indomethacin and radiocontrast. *Kidney Int* 1997; 51(3): 653-63.
18. Nagle RB., Bulger RE. Unilateral obstructive nephropathy in the rabbit. II.late morphologic changes. *Lab Invest* 1978; 38(3): 270-8.
19. Sharma A., Maver S., Kim Y., Michael A. Interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Kidney Int* 1993; 44(4): 774-88.
20. Wright EJ., Mc Caffrey TA., Robertson AP., Vaughan ED Jr., Felsen D. Chronic unilateral ureteral obstruction is associated with interstitial fibrosis and tubular expression of transforming growth factor-beta. *Lab Invest* 1996; 74(2): 528-37.
21. Truong LD., Petrussevska G., Yang G., Gurpinar T., Shappell S., Lechago J., et al. Cell apoptosis and proliferation in experiment chronic obstructive uropathy. *Kidney Int* 1996; 50(1): 200-7.
22. Choi YJ., Baranowska-Daca E., Nguyen V., Koji T., Ballantyne CM., Sheikh-Hamad D., et all. Mechanism of chronic obstructive uropathy: increased expression of apoptosis-promoting molecules.. *Kidney Int.* 2000; 58(4): 2301-13.

23. Nagle RB., Bulger RE., Cutler RE., Jervis HR., Benditt EP. Unilateral obstructive nephropathy in the rabbit. I. Early morphologic, physiologic and histo chemical chonger. *Lab Invest* 1973; 28(4): 456-67.
24. Okegawa T., Jonas PE., DeSchryver K., Kawasaki A., Needleman P. Metabolic and cellular alterations underlying the exaggerated renal prostaglandin and thromboxane synthesis in ureter obstruction in rabbits. Inflammatory response involving fibroblasts and mononuclear cells. *J Clin Invest* 1983; 71(1): 81-90.
25. Lefkowitz JB., Okegawa T., DeSchryver-Kecsckemeti K., Needleman P. Macrophage-dependent arachidonate metabolism in hydronephrosis. *Kidney Int* 1984; 26(1): 10-7.
26. Diamond JR., Kees-Folts D., Ding G., Frye JE., Restrepo NC. Macrophages, Monocyte chemoattractant peptide-1 and TGF-beta 1 in experimental hydronephrosis. *Am J physiol* 1994; 266(6): F926-33.
27. Kloth S., Morrissey JJ. Comparative study of ACE inhibitors and angiotensin II receptor antagonists in interstitial scarring. *Kidney Int Suppl* 1997; 63: 111-4.
28. Ma J., Nishimura H., Fogo A., Kon V., Inagami T., Ichikawa I. Accelerated fibrosis and collagen deposition develop in the renal interstitium of angiotensin type 2 receptor null mutant mice during ureteral obstruction. *Kidney Int.* 1998; 53(4): 937-44.
29. Uluç Y., Öztürk Y., Büyükgebiz B. Ghrelin: enerji metabolizmasının düzenlenmesinde yeni bir hormon. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2005; 48: 196-201.
30. Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangava K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402(6762): 656-60.
31. Bowers CY. Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(4): 1464-9.

32. Date Y., Kojima M., Hosoda H., Sawaguchi A., Mondal MS., Suganuma T., et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tract of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 14(11): 4255-61.
33. Kojima M., Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85(2): 495-522.
34. Aydın S., Ozkan Y., Caylak E., Aydın S. Ghrelin and its biochemical function: Review. *Türkiye Klinikleri J. Med Sci* 2006; 26(3): 272-83.
35. Aydın S., Aydın S., Ozkan Y., Kumru S. Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. *Peptides* 2006; 27(4): 878-82.
36. Kierson JA., Dimatteo DM., Locke RG., Mackley AB., Spear ML. Ghrelin and cholecystokinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatr.* 2006; 95(8): 991-5.
37. Aydın S., Ozercan IH., Dagli F., Aydın S., Kumru S., Kilic N., et al. Ghrelin is present in teeth. *J. Biochem Mol Biol* 2007; 40(3): 368-72.
38. Gnanapavan S., Kola B., Bustin SA., Morris DG., Mc Gee P., Fainclough P., et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6): 2988-91.
39. Takaya K., Ariyasu H., Kanamoto N., Iwakura H., Yoshimoto A., Harada M., et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(12): 4908-11.
40. Davenport AP., Bonner TI., Foord SM., Harmar AJ., Neubig RR., Pin JP., et al. International Union of Pharmacology. LVI. Ghrelin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol Rev* 2005; 57(4): 541-6.
41. Tritos NA., Kokkotou EG. The physiology and potential clinical applications of ghrelin, a novel peptide hormone. *Mayo Clin Proc* 2006; 81(5): 653-60.

42. Hosoda H., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem. Biophys Res Commun* 2000; 279(3): 909-13.
43. Banks WA., Tschöp M., Robinson SM., Heiman ML. Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 302(2): 822-7.
44. S. Aydın. Ghrelin Hormonun Keşfi: Araştırma ve Klinik uygulamaları. *Türk Biyokimya Dergisi (Turkish Journal of Biochemistry- Turk J Biochem)* 2007; 32(2): 76-89.
45. Hosoda H., Kojima M., Mizushima T., Shimizu S., Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278(2): 64-70.
46. Bednarek MA., Feighner SD., Pong SS., McKee KK., Hreniuk DL., Silva MV., et al. Structure-function studies on the new growth hormone-releasing peptide, ghrelin: minimal sequence of ghrelin necessary for activation of growth hormone secretagogue receptor 1a. *J Med Chem* 2000; 43(23): 4370-6.
47. Gauna C., Delhanty PJ., Hofland LJ., Janssen JA., Broglio F., Ross R.J., et al. Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(2): 2585-90.
48. Leite-Moreira AF., Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discovery Today* 2007; 12(8): 276-88.
49. Aydın S., Geckil H., Zengin F., Ozercan IH., Karatas F., et al. Ghrelin in plants: what is the function of an appetite hormone in plants? *Peptides* 2006; 27(7): 1597-602.
50. Tomasetto C., Wendling C., Rio MC., Poitras P. Identification of cDNA encoding motilin related peptide/ghrelin precursor from dog fundus. *Peptides* 2001; 22(12): 2055-9.

51. Korbonits M., Goldstone AP., Gueorguiev M., Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Front Neuroend* 2005; 25(1): 27-68.
52. Groschl M., Topf HG., Rauh M., Kurzai M., Rascher W., Kohler H. Postprandial response of salivary ghrelin and leptin to carbohydrate uptake. *Gut* 2006; 55(3): 433-4.
53. Davis JC. (1954) The relation between the pancreatic alpha cells and certain cells in the gastric mucosa. *J Pathol Bacteriol* 1954; 67(1): 237-40.
54. Solcia E., Capella C., Vassallo G., Bufa R. Endocrine cells of the gastric mucosa. *Int Rev Cytol* 1975; 42: 223-86.
55. Stenstrom B., Furnes MW., Tommeras K., Syversen U., Zhao CM., Chen D. Mechanism of gastric bypass-induced body weight loss: one year follow-up micro-gastric bypass in rats. *J Gastrointest Surg* 2006; 10(10): 1384-91.
56. Doyle MJ., Loomis ZL., Sussel L. Nkx2.2-repressor activity is sufficient to specify alpha-cells and a small number of beta-cells in the pancreatic islet. *Development* 2007; 134(3): 515-523.
57. Heler RS., Jenny M., Collombat P., Mansouri A., Tomasetto C., Madsen OD., et al. Genetic determinants of pancreatic epsilon-cell development. *Dev Biol* 2005; 286(1): 217-24.
58. Doi A., Shono T., Nishi M., Furuta H., Sasaki H., Nanjo K. IA-2beta, but not IA-2, is induced by ghrelin and inhibits glucose-stimulated insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 103(4): 571-9.
59. Mitchell SE., Nogueiras R., Rance K., Rayner DV., Wood S., Dieguez C., et al. Circulating hormones and hypothalamic energy balance: regulatory gene expression in the Lou/C and Wistar rats. *J Endocrinol* 2006; 190(3): 571-9.
60. Carlini VP., Varas MM., Cragolini AB., Schioth HB., Scimonelli TN., de Barioglio SR. Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 313(3): 635-41.

61. Mori K., Yoshimoto A., Takaya K., Hosoda K., Ariyasu H., Yahata K., et al. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 2000; 486 (3): 213-6.
62. Chan CB., Cheng CH. Identification and functional characterization of two alternatively spliced growth hormone secretagogue receptor transcripts from the pituitary of black seabream *Acanthopagrus schlegeli*. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 214(1): 81-95.
63. Howard AD., Feighner SD., Cully DF., Arena JP., Liberator PA., Rosenblum CI., et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996; 273(5277): 974-7.
64. Guan XM., Yu H., Palyha OC., McKee KK., Feighner SD., Sirinathsinghji DJ., et al. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997; 48(1): 23-9.
65. Sun Y., Wang P., Zheng H., Smith RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci* 2006; 101(13): 4679-84.
66. Andersson U., Filipsson K., Abbott CR., Woods A., Smith K., Bloom SR., et al. AMP-activated protein kinase plays a role in the control of food intake. *J Biol Chem* 2004; 279(13): 12005-8.
67. Pantel J., Legendre M., Cabrol S., Hilal L., Hajaji Y., Morisset S., et al. Loss of constitutive activity of the growth hormone secretagogue receptor in familial short stature. *J Clin Invest* 2006; 116(3): 760-8.
68. Wang HJ., Geller F., Dempfle A., Schäuble N., Friedel S., Lichtner P., et al. Ghrelin receptor gene: identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(1): 157-62.
69. Date Y., Murakami N., Toshinai K., Matsukura S., Nijima A., Matsuo H., et al. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding

and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 2002; 123(4): 1120-8.

70. Christensen H., Chemnitz J., Christensen BC., Oxlund H. Collagen structural organization of healing colonic anastomoses and the effect of growth hormone treatment. *Dis Colon Rectum* 1995; 38(11): 1200-5.

71. Tümer A. *Endokrinolojiye Giriş*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 1989, s1-4.

72. Nagaya N., Kojima M., Uematsu M., Yamagishi M., Hosoda H., Oya H., et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280(5): R1483-7.

72. Lin Y., Matsumura K., Fukuhara M., Kagiya S., Fujii K., Iida M. Ghrelin acts at the nucleus of solitary tract to decrease arterial pressure in rats. *Hypertension* 2004; 43(5): 977-82.

73. Aydın S. Ghrelin hormonunun keşfi: araştırmaları ve klinik uygulamaları. *Turk J Biochem* 2007; 32; 76-89.

74. Takeda R., Nishimatsu H., Suzuki E., Satonaka H., Nagata D., Oba S., et al. Ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(1): 113-21.

75. Chung H., Kim E., Lee DH., Seo S., Ju S., Lee D., et al. Ghrelin inhibits apoptosis in hypothalamic neuronal cells during oxygen-glucose deprivation. *Endocrinology* 2007; 148(1): 148-59.

76. Baldanzi G., Filigheddu N., Cutrupi S., Catapano F., Bonisconi S., Fubini A., et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 2002; 159(6): 1029-37.

77. Ersahin M., Toklu HZ., Erzik C., Cetinel S., Akakin D., Velioglu Ogunc A., et al. The antiinflammatory and neuroprotective effects of ghrelin in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. *J Neurotrauma* 2010; 27(6): 1143-55.

78. Iseri SO., Sener G., Saglam B., Ercan F., Gedik N., Yegen BC. Ghrelin alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. *Regul Pept* 2008; 146(1): 73-9.
79. Li WG., Gavrilu D., Liu X., Wang L., Gunnlaugsson S., Stoll LL., et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation* 2004; 109(18): 2221-6.
80. Nakazato M., Murakami N., Date Y., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K., et al. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409(6817): 194-8.
81. Sehirli O., Sener E., Sener G., Cetinel S., Erzik C., Yegen BC. Ghrelin improves burn-induced multiple organ injury by depressing neutrophil infiltration and the release of pro-inflammatory cytokines. *Peptides* 2008; 29(7): 1231-40.
82. Shimizu Y., Nagaya N., Teranishi Y., Imazu M., Yamamoto H., Shokawa T., et al. Ghrelin improves endothelial dysfunction through growth hormone-independent mechanisms in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310(3): 830-5.
83. Ulm AH., Miller F. An operation to produce experimental reversible hydronephrosis in dogs. *J Urol* 1962; 88: 337-41.
84. Luck H. *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie, Academic Press. New York, USA. 1963, s885-8.
85. Hillegas LM., Griswold DE., Brickson B., Albrightson-Winslow C. Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J. Pharmacol. Methods* 24 1990; 24(4) 285-95.
86. Buege AJ., Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-10.
87. Theodorus P., Akerboom M., Sies H. Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 1981; 77: 373- 82.

88. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976; 72: 248-54.
89. Miyajima A., Ito K., Asana T., Seta K., Ueda A., Hayakawa M. Does cyclooxygenaz-2 inhibitör prevent renal tissue damage in unilateral ureteral obstruction? *J Urol* 2001; 166(3): 1124-9.
90. Miyajima A., Asano T., Asano T., Yoshimura I., Seta K., Hayakawa M. Tranilast ameliorates renal tubular damage in unilateral ureteral obstruction. *J Urol* 2001; 165(5): 1714-8.
91. He P., Li D., Zhang B. Losartan attenuates renal interstitial fibrosis and tubular cell apoptosis in a rat model of obstructive nephropathy. *Mol Med Rep* 2014; 10(2): 638-44.
92. Topcu SO., Erbagci A., Erturhan S., Yagci F., Ucak R. Verapamil attenuates renal tubular apoptosis in response to partial unilateral ureteral obstruction. *Urol Int* 2008; 80(1): 84-9.
93. Guven B., Gokce M., Saydam O., Can M., Bektas S., Yurtlu S. Effect of ghrelin on inflammatory response in lung contusion. *J Med Sci* 2013; 29(2): 69-74.
94. Lopez NE., Gaston L., Lopez KR., Coimbra RC., Hageny A., Putnam J., et al. Early ghrelin treatment attenuates disruption of the blood brain barrier and apoptosis after traumatic brain injury through a UCP-2 mechanism. *Brain Res* 2012; 13(1489): 140-8.
95. Huang CX., Yuan MJ., Huang H., Wu G., Liu Y., Yu SB., et al. Ghrelin inhibits post-infarct myocardial remodeling and improves cardiac function through anti-inflammation effect. *Peptides* 2009; 30(12): 2286-91.
96. Golestan Jahromi M., Nabavizadeh F., Vahedian J., Nahrevanian H., Dehpour AR., Zare-Mehrjardi A. Protective effect of ghrelin on acetaminophen-induced liver injury in rat. *Peptides* 2010; 31(11): 2114-7.

97. Kabil NN., Seddiek HA., Yassin NA., Gamal-Eldin MM. Effect of ghrelin on chronic liver injury and fibrogenesis in male rats: possible role of nitric oxide. *Peptides* 2014; 52: 90-7.
98. Iseri SO., Sener G., Yüksel M., Contuk G., Cetinel S., Gedik N., et al. Ghrelin against alendronate-induced gastric damage in rats. *J Endocrinol* 2005; 187(3): 399-406.
99. Deboer MD. Use of ghrelin as a treatment for inflammatory bowel disease: mechanistic considerations. *Int J Pept* 2011; Volume 2011, Article ID 189242, doi:10.1155/2011/189242.
100. Alantary AK., Rezk MY., Khaled EAS. Protective effect of ghrelin on paracetamol induced acute hepatotoxicity in rats. *J Physiol Pathophysiol* 2014; 5(2): 7-14.
101. Pamukcu O., Kumral ZN., Ercan F., Yegen BC., Ertem D. Anti-inflammatory effect of obestatin and ghrelin in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 57(2): 211-8.
102. Khowailed A., Younan SM., Ashour H., Kamel AE., Sharawy N. Effects of ghrelin on sepsis-induced acute kidney injury: one step forward. *Clin Exp Nephrol* 2014 Jul 8 [Epub ahead of print].
103. Spencer SJ., Miller AA., Andrews ZB. The role of ghrelin in neuroprotection after ischemic brain injury. *Brain Sci* 2013; 3(1): 344-59.
104. Ersahin M., Toklu HZ., Erzik C., Cetinel S., Akakin D., Velioglu-Ogunc A., et al. The anti-inflammatory and neuroprotective effects of ghrelin in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. *J Neurotrauma* 2010; 27(6): 1143-55.
105. Ersahin M., Toklu HZ., Erzik C., Akakin D., Tetik S., Sener G., et al. Ghrelin alleviates spinal cord injury in rats via its anti-inflammatory effects. *Turk Neurosurg* 2011; 21(4): 599-605.
106. Sahin S., Alata O. The role of ghrelin against acute carbon tetrachloride hepatotoxicity in rats. *Nobel Med* 2013; 9(3): 43-8.