

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TAVŞAN BÖBREK DOKUSUNDA ESWL İLE İNDÜKLENEN
OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE ANTİOKSİDAN (TAURİN) VE
OZON TERAPİ ETKİLERİNİN
BİYOKİMYASAL VE HİSTOMORFOMETRİK
KARŞILAŞTIRILMASI**

DR. NART GÖRGÜ

UZMANLIK TEZİ

**KIRIKKALE
2011**

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TAVŞAN BÖBREK DOKUSUNDA ESWL İLE İNDÜKLENEN
OKSİDATİF HASAR ÜZERİNE ANTİOKSİDAN (TAURİN) VE
OZON TERAPİ ETKİLERİNİN
BİYOKİMYASAL VE HİSTOMORFOMETRİK
KARŞILAŞTIRILMASI**

DR. NART GÖRGÜ

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. M. MURAD BAŞAR**

**KIRIKKALE
2011**

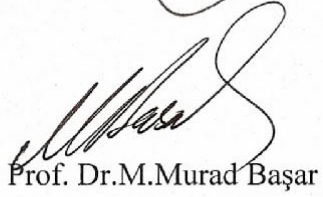
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

Üroloji Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından **UZMANLIK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/07/2011



Prof. Ertan Batislam
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji AD Başkanı
Jüri Başkanı



Prof. Dr. M. Murad Başar

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji AD Öğretim Üyesi
Jüri Üyesi



Prof. Dr. Erdal Yılmaz

Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji AD Öğretim Üyesi
Jüri Üyesi

TEŞEKKÜR

Tıpta uzmanlık eğitimim süresince teorik ve pratik bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım belki de en önemlisi yaşama dair birçok tecrübeler edindiğim, sonsuz hoşgörülerini esirgemeyen çok değerli bölüm hocalarım Sayın Prof. Dr. Ertan Batislam, Sayın Prof. Dr. M. Murad Başar, Sayın Prof. Dr. Erdal Yılmaz ve Prof. Dr. Halil Başar'a,

Tezimin hazırlanmasında bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli tez hocam Prof. Dr. Murad Başar'a,

Tezimin laboratuvar aşamasının her basamağında bilgisini ve emeğini esirgemeyen Biyokimya AD. Öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Üçler Kısa ve Dr. Arkut İzzet Demet'e,

Materyal ve metot bölümünün oluşturulmasında ve laboratuvar ortamının sağlanmasında Sayın Doç. Dr. Tolga R. Aydos ve Dr. Gülhan Ünlü'ye,

Patoloji örneklerinin değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Petek Korkusuz ve Dr. Elif Güzel'e,

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve hep sevgiyle hatırlayacağım çalışma arkadaşlarım Dr. Ercan Yuvaç, Dr. Serhan Alpcan, Dr. Ahmet Hacıslamoğlu, Dr. Timuçin Şipal, Dr. Fatih Bal'a,

Bana her türlü desteği sağlayan, her zaman yanımda olan ve bugünlere ulaşmamda büyük paya sahip aileme,

Bu yoğun süreçte sevgisini ve desteğini her zaman yanında hissettiğim sevgili eşim Özlem ve oğlum Çınar'a,

En derin saygı, hürmet ve sevgilerimle teşekkür ederim.

Dr. Nart Görgü

ÖZET

Görgü N, Tavşan Böbrek Dokusunda Eswl İle İndüklenen Oksidatif Hasar Üzerine Antioksidan Taurin Ve Ozon Terapi Etkilerinin Biyokimyasal Ve Histomorfometrik Karşılaştırılması. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, KIRIKKALE, 2011.

Bu çalışmanın amacı; antioksidan etkiye sahip bir aminoasit olan taurin ve potansiyel oksidatif toksik etkilerine rağmen uygulama dozuna bağlı olarak oksidatif strese bağlı doku hasarı üzerine koruyucu etkileri olan ozon ESWL'nin yol açtığı böbrek dokusu oksidatif hasarı üzerine etkilerini tavşan modelinde karşılaştırmaktır.

Çalışmada ortalama yaşları $5,76 \pm 0,12$ ay (5-8 ay) ve ortalama ağırlıkları $2518,33 \pm 49,8$ gr (2200–3500 gr) olan 30 adet erişkin (15 dişi, 15 erkek) Yeni Zelanda Albino tipi tavşan kullanıldı. Denekler eşit sayıda denek içeren beş çalışma grubuna ayrıldı. Grup I kontrol grubu olarak değerlendirildi. Grup II (ESWL): Sağ böbreğe gün aşırı, üç seans ESWL (18 kV, 2000 şok dalgası) uygulandı. Grup III (ESWL+ Taurin): 7 gün 7,5 ml/kg/gün dozda intraperitoneal (i.p.) taurin (%10'luk sulu çözelti) uygulamasını takiben gün aşırı üç seans ESWL uygulaması yapıldı. Grup IV (ESWL+Ozon terapi): 7 gün, gün aşırı 2 mg/kg dozda i.p. ozon terapi uygulamasını takiben gün aşırı üç seans ESWL uygulaması yapıldı. Grup V (ESWL+ Taurin+Ozon terapi): 7 gün süre ile i.p. taurin yanı sıra gün aşırı i.p. ozon terapi uygulaması yapıldıktan sonra gün aşırı üç seans ESWL yapıldı.

İzole edilen böbrek dokularında biyokimyasal olarak MDA, NO, t-SH, SOD, GSH-Px, Katalaz düzeyi ölçümleri yanı sıra histomorfometrik incelemeler gerçekleştirildi.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, ESWL uygulanan tüm gruplarda katalaz değerlerinde hafif bir artış izlenirken, tek başına taurin veya tek başına ozon terapi uygulamasının ESWL'nin yol açtığı artışı engellediği; hatta kontrol değerlerinin de altına düşürdüğü saptandı. ESWL sonrası taurin ve ozon terapinin birlikte uygulandığı grupta ise katalaz düzeyinin ESWL sonrası değere kıyasla anlamlı düzeyde düştüğü gözlemlendi. GSH-Px, SOD, MDA düzeylerinin ise anlamlı olmamakla birlikte ESWL sonrası arttığı, taurin ve/veya ozon uygulaması sonrası ise kontrol değerlerinin de altında bir düzeye indiği; t-SH'nin ESWL sonrası kısmen artmasına rağmen taurin ve/veya ozon terapi uygulaması sonrası kontrol değerlerine düştüğü; ESWL uygulaması sonrası artan NO düzeyinin ise taurin ve/veya ozon terapi uygulaması sonrası daha da yükseldiği tespit edilmiştir. Histomorfometrik incelemede ise ESWL uygulamasının oluşturduğu doku hasarı üzerine taurin ve ozon terapi

uygulamalarının anlamlı olmamakla birlikte koruyucu etkilerinin olduğu, iki yöntemin birlikte kullanılmasının ise ESWL hasarını anlamlı şekilde engellediği gösterilmiştir.

Sonuç olarak, ozon terapi ESWL uygulamasının indüklediği oksidatif doku hasarını azaltmakta ve özellikle diğer antioksidan ajanlar ile birlikte kullanıldığında koruyucu etkisi daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır.

ABSTRACT

Gorgu N, Biochemical And Histomorphometric Comparison Of The Effects Of Antioxidant Taurine And Ozonotherapy On Ewsl Induced Oxydative Stress In Rabbit Kidney Tissue . Department of Urology, Faculty of Medicine, University of Kirikkale, Kirikkale, Turkey.

The aim of the present study is to compare the effects of taurine which is an aminoacide showing antioxidant effect, and ozone therapy which has protective role depending on application dose even though expressing some potential oxidative effect on ESWL induced oxidative damage in rabbit kidney tissue.

A total of 30 adult (15 male and 15 female) New Zealand Albino rabbits having an average age of 5.76 ± 0.12 months (5-8 months) and average weight of 2518.33 ± 49.8 gram were used in the study. All subjects were divided into five working groups including equal number of subjects in each group. Group I was considered as control group. Group II (ESWL): ESWL was performed on the right kidney for three sessions on alternate days (18 kV, 2000 shock wave). Group III (ESWL+Taurine): Three session of ESWL on alternate days was performed following the administration of 7.5 ml/kg/day dose of intraperitoneal taurine 10% for 7 days. Group IV (ESWL+Ozone therapy): Three session of ESWL on alternate days was performed following the administration 2 mg/kg/day dose of intraperitoneal ozone therapy for 7 days. Group V (ESWL+Taurine+Ozone therapy): Three session of ESWL on alternate days was performed following the administration of 7.5 ml/kg/day dose of intraperitoneal taurine 10% as well as 2 mg/kg/day dose of intraperitoneal ozone therapy for 7 days.

Malondialdehyde, nitric oxide, total sulfhydryl groups, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase levels were measured biochemically in isolated kidney tissue as well as histomorphometric investigations.

When the results are evaluated, while catalase levels slightly increased in all ESWL performed groups, it was observed that only taurine or only ozone therapy inhibited that increment, even though, decreased below than control values. It was also seen that catalase level decreased significantly in ESWL after taurine and ozone therapy applied together when compared to the value observed after ESWL. It was observed that although glutathione peroxidase, superoxide dismutase, malondialdehyde levels increased insignificantly after

ESWL, they decreased to a level lower than the control values after taurine and ozone therapy application; despite partially increase of total sulfhydryl groups after ESWL, it decreased to control values after taurine and ozone therapy application; increased nitric oxide level after ESWL application was found even more raised after taurine and/or ozone therapy administration. In the histomorphometric investigation, it was seen that taurine and ozone therapy had some protective effects on tissue damage induced ESWL. Also using two methods together was found to be more protective meaningfully.

As a result, ozone therapy reduces the ESWL induced oxidative tissue damage, and the protective effect appears to be clearer when used in conjunction with other antioxidant agents.

İÇİNDEKİLER

Sayfa	Sayfa No:
ONAY SAYFASI	I
TEŞEKKÜR	II
ÖZET	III
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR	XI
TABLolar, RESİMLER VE ŞEKİLLER	XIV
EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE LITHOTRIPSY (ESWL)	
1.1. Tarihçe ve Genel Bilgiler	1
1.2. Şok Dalgalarının Özellikleri	5
1.3. Taş Parçalanma Mekanizmaları	5
1.4. ESWL'nin Endikasyonları	6
1.5. ESWL'nin Kontrendikasyonları	6
1.6. ESWL'nin Komplikasyonları	7
1.7. Şok Dalgalarının Biyolojik Etkileri	9
1.8. ESWL'nin Biyolojik Hasar Etkileri	11
1.8.1. Akut ekstrarenal hasar	11
1.8.2. Akut renal yaralanma	12
1.8.3. Kronik renal yaralanma	13
1.8.4. ESWL'nin biyolojik yapılar üzerindeki etkileri	13
1.8.5. ESWL'nin dokularda hasar yapma mekanizmaları	15
SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	
2.1. Doğada Sık Görülen Reaktif Oksijen Partikülleri	17
2.1.1. Süperoksid radikali ($O_2^{\cdot-}$)	17
2.1.2. Hidrojen peroksid (H_2O_2)	18
2.1.3. Hidroksil radikali ($\cdot OH$)	18
2.1.4. Singlet oksijen (1O_2)	19
2.1.5. Perhidroksil radikali (H_2O^{\cdot})	19
2.1.6. Nitrik oksit (NO)	19
2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri	19
2.3. İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Oluşumu	22

ANTIÖKSİDANLAR

3.1. Enzim Karakterli Antioksidanlar	23
3.1.1. Süperoksid dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1.)	23
3.1.2. Katalaz (KAT, EC 1.11.1.6.)	24
3.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9.) ve Glutatyon redüktaz (GSH-Rd, EC 1.6.4.2)	24
3.1.4. Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD, EC 1.1.1.49)	25
3.1.5. Paraoksonaz (PON, EC 3.1.8.1)	25
3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	25
3.2.1. Antioksidan vitaminler	25
3.2.2. Karotenoidler	26
3.2.3. Glutatyon (GSH)	26
3.2.4. Ürik asit (Ürat)	26
3.2.5. Bilirubin	26
3.2.6. Melatonin	27
3.2.7. Seruloplazmin	27
3.2.8. Transferin	27
3.2.9. Ferritin	27
3.3. Total Antioksidan Durum	27
3.4. Böbrek Dokusu ve Serbest Radikaller	28
3.4.1. Glomerül hasar	29
3.4.2. Nefrotoksik hasar	30
3.5. Böbreklerde Antioksidan Sistem	30

OZON/ OKSİJEN KARIŞIMLARININ TIPTA KULLANIMININ TEMEL
ÖZELLİK VE GEREKLİLİKLERİ

4.1. Ozonun Doğadaki Durumu ve Çalışma Alanında Azami Konsantrasyonu	32
4.2. Ozon Nasıl Elde Edilir?	32
4.3. Tedavi Amaçlı Kullanımlar	34
4.3.1. Medikal ozon ve etki mekanizması	34
4.3.2. Medikal ozon tedavisinin klinik uygulamaları ve endikasyonları	39
4.3.3. Medikal ozon tedavisinin yan etki ve kontrendikasyonları	40

4.4. Medikal Ozon Uygulama Biçimleri ve Kullanım Alanları	41
4.4.1. Sistemik uygulama biçimleri	41
4.4.1.1. Ekstrakorporal kan tedavisi, Major otohemoterapi (MAH)	41
4.4.1.2. Rektal O ₂ /O ₃ insüflasyonu	42
4.4.1.3. Minör Otohemoterapi	43
4.4.2. Topikal Uygulamalar	43
4.4.2.1. Düşük basınçlı ozon gazı uygulaması	43
4.4.2.2. Ozona dirençli plastik kaplarda transkutanöz ozon imersiyonu	44
4.4.2.3. Ozonize su uygulaması	44
4.4.2.4. Topikal rektal insüflasyon	45
4.4.2.5. İntraartiküler ozon enjeksiyonu	45
4.4.3. Ozonize edilmiş zeytinyağı	45
4.5. Tıbbi Ozonun Etkime Mekanizmaları	48
4.5.1. Bileşim ve etki	48
4.5.2. Tıbbi Ozonun Reaksiyon Mekanizmaları	49
4.5.2.1. İyonik ve radikal mekanizmalar	49
4.5.2.2. “Ozon peroksitleri” ve peroksitler	50
4.5.3. Ozonun etki mekanizması	50
4.6. Ozon ve Oksidatif Stres	51
TAURİN	
5.1. Taurinin Genel Özellikleri ve Sentezi	54
5.2. Taurinin Taşınması	56
5.3. Taurinin Metabolizması	56
5.4. Taurinin Organizmadaki Fonksiyonel Önemi	59
5.5. Taurinin Organizmadaki Genel Etkileri	61
5.5.1. Taurinin membran stabilize edici fonksiyonu	61
5.5.2. Taurinin hücre Ca ⁺² homeostasisi üzerine etkisi	61
5.5.3. Taurinin lipit metabolizması üzerine etkisi	62
5.5.4. Endokrin ve metabolik etkileri	62
5.5.5. Kardiyovasküler etkileri	62
5.5.6. SSS üzerine etkileri	63

5.5.7. Taurin ve retina	63
5.5.8. Detoksifikasyon	64
5.6. Taurinin Antioksidan Özelliği	64
5.7. Diğer Etkileri	65
GEREÇ VE YÖNTEM	
6.1. Denekler	68
6.2. Deney Grupları	68
6.3. Çalışma Düzeni	68
6.3.1. ESWL uygulaması	68
6.3.2. Taurin uygulaması	69
6.3.3. Ozon terapi uygulaması	69
6.3.4. Taurin-Ozon terapi birlikte kullanımı	70
6.4. Sakrifikasyon	70
6.5. Histopatolojik Değerlendirme	71
6.6. Biyokimyasal İncelemeler	72
6.7. İstatistiksel Analiz	73
SONUÇLAR	
7.1. Biyokimyasal Sonuçlar	74
7.2. Histopatolojik Sonuçlar	75
TARTIŞMA	77
KAYNAKLAR	83

SİMGELER VE KISALTMALAR

- AK: Antioksidan kapasite
AOPP: İleri oksidasyon protein ürünleri
ark.: arkadaşları
ATP: Adenozin trifosfat
BT: Bilgisayarlı tomografi
BOS: Beyin omurilik sıvısı
Ca⁺²: Kalsiyum iyonu
CCl₄: Karbon tetra klorür
CDO: Sistein dioksijenaz
Cl⁻: Klor anyonu
cNOS: Yapısal nitrik oksit sentaz
CO: Karbon monoksit
CSAD : Sistein sülfirik asit dekarboksilaz
Cu/Zn SOD: Bakır ve çinko içeren dismutaz
DNA : Deoksiribonükleik asit
EC-SOD: Ekstrasellüler dismutaz
eNOS : Endotelial nitrik oksit sentaz
ESWL: Extracorporeal Schock Wave Lithotripsi
FDA: Gıda ve ilaç birimi
GFR: Glomerüler filtrasyon hızı
GİS: Gastrointestinal Sistem
GSH : Glutasyon
GSH-Px : Glutasyon Peroksidaz
GSH-Rd: Glutasyon Redüktaz
GSSG : Okside Glutasyon
G6PDH: Glukoz 6 Fosfat Dehidrojenaz
Hb: Hemoglobin
HBV: Hepatit B virüsü
HCV: Hepatit C virüsü
HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein
HIV: İnsan bağışıklık yetmezlik virüsü
HM: Human machine
HO : Hidroksil Radikali
HO-1: Hemoksijenaz-1
H₂O₂ : Hidrojen peroksit

HOCl : Hipoklorik asit
I-131: İodine-131
IL-1: İnterlökin-1
IL-2: İnterlökin-2
IL-6: İnterlökin-6
INF- γ : İnterferon gama
KAT: Katalaz
L: Lipid radikali
LDH: Laktat dehidrogenaz
LDL: Düşük dansiteli lipoprotein
LOO: Lipid peroksil radikali
LOOH: Lipit Hidroperoksid
LOP: Lipid oksidasyon ürünleri
MAH: Major otohemoterapi
MDA : Malondialdehit
MI: Miyokard infaktüsü
Mn-SOD: Mangan içeren dismutaz
MPO :Myeloperoksidaz
MRG: Magnetik rezonans görüntüleme
mRNA: Mesajcı ribonükleik asit
Na⁺: Sodyum iyonu
 β -NADPH : β -Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
Ni-SOD: Nikel içeren dismutaz
NO₂ : Azot dioksit
NO : Nitrik Oksit
NOS : Nitrik Oksit Sentaz
¹O₂ : Singlet oksijen
O₂. : Süperoksit radikali
O₃: Ozon
ONOO: Peroksinitrit
pH: Potansiyel hidrojen
PMNL: Polimorfonükleer lökosit
PNL: Perkütan nefrolitotomi
PON: Paraoksonaz
RNA: Ribonükleik asit
RO• : Alkoksil

ROOH : Peroksil radikali
SGOT: Serum glutamik oksaloasetik transaminaz
SGPT: Serum glutamik piruvik transaminaz
SOR: Serbest oksijen radikalleri
SOD: Süperoksit dismutaz
SSS: Santral sinir sistemi
TauT: Taurin taşıyıcı molekül
TBA: Tiyobarbitürik asit
TGF- β : Transforme edici büyüme faktörü β
TNF- α : Tümör nekroze edici faktör α
t-SH: Total sülfidril grupları
USG: Ultrasonografi
°C: Derece celsius
2,3 DPG: 2,3 Difosfogliserat

TABLolar, RESİMLER VE ŞEKİLLER

Tablo 1. ESWL sırasında oluşabilecek böbrek ve çevre doku değişiklikleri

Tablo 2. Antioksidanların sınıflandırılması

Tablo 3. Tıbbi ozonun spesifik (tıbbi ve fizyolojik) etkileri ve endikasyonları

Tablo 4. Solunan havadaki ozon gazı konsantrasyonu ile artan toksik etkiler

Tablo 5. Tıbbi ozonun endikasyonlarla bağlantılı uygulama biçimleri ve temel etki mekanizmaları

Tablo 6. Tıbbi ozonun ekstra-korporal kan tedavisinde etkisi (sistemik etki)

Tablo 7. Çeşitli dokulardaki taurin konsantrasyonu

Tablo 8. Taurinin çeşitli sistemlere etkisi

Tablo 9. Deney grupları

Tablo 10. Gruplarda ölçülen edilen anti-oksidan enzim ve serbest oksijen radikalleri düzeyleri

Tablo 11. Böbrek dokusunda izlenen hasarın Sharples skora göre değerlendirilmesi

Resim 1. Bir tıbbi ozon jeneratörünün işleyiş ilkesi

Resim 2. Belirli dozda O₂/O₃ karışımının rektal irigasyonu için kullanılan ekipman

Resim 3. Taurinin proksimal tübül hücrelerinden taşınması

Resim 4. Deney hayvanlarına ESWL uygulaması

Resim 5. Ozon terapi için ozon-oksijen gaz karışımı (%95-%5) üretiminde kullanılan cihaz

Resim 6. Denekten çıkarılmış sağ böbrek

Resim 7. Histomorfometrik değerlendirme

Şekil 1. Serbest radikal hasarı

Şekil 2. SOR ve LOP'un organizma içerisindeki etkileri

Şekil 3. Taurin Biyosentez Yolu

Şekil 4. Taurinin vücuttan atılım ürünü

Grafik1. Böbrek dokusundaki hasarın Sharples skora göre gruplardaki dağılımı

EXTRACORPOREAL SHOCK WAVE LITHOTRIPSY (ESWL)

1.1. Tarihçe ve Genel Bilgiler

Beden dışı şok dalgalarıyla taş kırma, üriner sistem taşlarının tedavisinde önemli bir gelişmedir. İlk olarak Sovyetler Birliği'nde 1950'lerde taşları parçalamak için şok dalgalarından yararlanma fikri ileri sürülmüştür. Bu sırada bir Alman uçak şirketi olan Dornier firması, süpersonik uçakların üstündeki pürüzleri incelerken atmosferde uçağın kanatlarına çarpan yağmur damlalarının oluşturduğu şok dalgalarının sert bir cisim aşındırabileceğini saptanmıştır. Bu incelemeler doğrultusunda yapılan çalışmalar sonucu beden dışı şok dalgalarıyla taş kırma (*Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy* = ESWL) yöntemi geliştirilmiştir (1-3).

İlk çalışmalar Almanya'da 1974 yılında başlayıp 1980 yılına kadar devam etmiş; 1980 yılında Dornier firması tarafından Human Machine-I (HM-I) cihazı üretilmiş ve 20 Şubat 1980 yılında dünyada ilk defa bir hastanın taşı kırılarak tedavi edilmiştir. HM-I cihazı 1982 yılında HM-2'ye ve 1983 yılında geniş ölçüde uygulama alanı bulan HM-3'e modifiye edilmiştir. Aralık 1984'de FDA onayı ile Avrupa, Japonya ve Amerika Birleşik Devletleri'nde HM-3'un kabul görmesi, dünya çapında daha etkin bir şekilde kullanılmasını sağlamıştır. Daha sonra 1986 yılında üretilmeye başlanan HM-4 cihazında ise önceki cihazlarda bulunan su havuzu yerine su yastıklığı sistemi kullanılmış ve özellikle sırt üstü pozisyonda kırılabilen üreter alt uç taşları rahatça kırılabilir hale gelmiştir. Bu cihazlarla düşük maliyet, ağrısız uygulama, çok yönlü ve kolay kullanım amaçlanmıştır. Etkili şok dalga enerjisi elektrohidrolik sistem dışında elektromanyetik ve piezoelektrik gibi diğer elementlerden de elde edilir hale gelmiştir. Bugün dünyada ve ülkemizde daha az invaziv olması nedeniyle üriner sistem taşlarının tedavisinde ilk tercih edilen tedavi yöntemi haline gelmiştir (1-3).

Üriner sistem taş hastalığının yüksek oranlarda nüksetmesi, iş gücü ve maddi kayba yol açması, açık cerrahinin travmatik olması, postoperatif komplikasyonlara neden olması gibi sebeplerden dolayı daha az invaziv ve daha az iş gücü kaybına yol açan ve hastanede yatış süresini kısaltan yöntemler düşünülmüştür. ESWL vücut

dışındaki bir kaynaktan elde edilen ses dalgalarının şok dalgaları haline getirilip taşın gönderilmesi suretiyle taşın parçalanmasının sağlandığı minimal invaziv bir yöntemidir. Perkütan nefrolitotomi (PNL) ve üreterorenoskopik litotripsi gibi yöntemlerin de kullanıma girmesi ile taş cerrahisinde önemli değişiklikler olmuştur. Ancak bu iki tedavi yöntemi ameliyathane şartlarında yapılması ve anestezi gerektirmesi nedeniyle ESWL'nin popülerliğini azaltmamıştır (3).

Bütün ESWL cihazlarında bulunan ana sistemler aşağıdaki parçalardan oluşmaktadır (3):

1. Enerji kaynağı
2. Enerji iletim sistemi (komplet su yatağı, parsiyel su yatağı ve su yastığı)
3. Görüntüleme ve odaklama sistemleri.

1.Enerji Kaynağı Sistemleri

Litotriptörleri birbirinden ayıran gerçek fiziksel karakteristik şok dalgası üretim yöntemidir. Şok dalgası üretiminde kullanılan başlıca enerji kaynağı sistemleri şunlardır (1-3):

- a. Spark gap sistemi (elektrohidrolik)
- b. Elektromanyetik sistem
- c. Piezoelektrik sistem

a. Spark gap (elektrohidrolik) sistem: Bu sistemde sualtı iki elektrot aracılığı ile yüksek voltaj deşarjı sonucu su plazmaya dönüştürülmekte ve oluşan patlayıcı etkiyle şok dalgası oluşturulmaktadır. Metal bir elipsoidin f-1 odağına yerleştirilen elektrotların patlaması sırasında oluşan şok dalgaları elipsoidin yüzeyinden yansiyarak f-2 odağındaki taşın ulaşır. Bu jeneratörlerin en belirgin üstünlüğü böbrek taşlarını kırmadaki etkinliğidir. Dezavantajı ise şok dalga enerjisinin yüksek değişkenlik ($\pm\%45$) göstermesi ve enerjisinin gittikçe azalmasıdır (1-3).

b. Elektromanyetik sistem: Bir elektromıknatısın bir membranı çekip bırakması sırasında oluşan enerjinin akustik merceklerle odaklanması esasına dayanır. Şok sırasında oluşan ses ve enerji spark gap sistemine göre daha düşüktür. Ancak, şok dalga enerjisi %3'ten daha az değişkenlikle oldukça yüksek oranda ve enerjisi azalmayacak şekilde tekrar üretilebilmektedir. Bu nedenle enerjisi fazla değişkenlik göstermediği için en uygun sistemdir (1-4).

c. Piezoelektrik sistem: Bir küre parçası üzerine çok sayıda piezoelektrik elemanlar yerleştirilmiştir. Bunların aynı anda titreşimiyle ortaya çıkan enerji kürenin merkezinde odaklanmaktadır. Ağrı ve ses diğer cihazlara göre daha düşük olmakla beraber taşın kırılması için daha çok seans gerekmektedir. Bu sistemin dezavantajı şok dalgası üretim cihazı çapının fazla geniş olmasıdır (1-5).

Spark gap gibi noktasal şok dalgası üreten sistemlerde odaklama amacıyla elipsoid bir yansıtıcı kullanılmaktadır. Buna karşın piezoelektrik sistem gibi düzeysel şok dalgası üreten sistemler şok dalgası üretim cihazının özel küresel bir geometri ile düzenlenmesiyle odaklama yapabilmektedir. Elektromanyetik sistemlerde ise şok dalgalarının odaklanması için akustik bir lens kullanılmaktadır (4,5).

2.Enerji iletim sistemi

Enerji kaynağında meydana gelen şok dalgalarının iletimi için en uygun ortam olarak hava kabarcığı olmayan serum fizyolojik kullanılmaktadır. İlk ESWL cihazı olan HM-3'de hasta vücudu su banyosuna sokulurken Technomed ve Wolf firmaları yalnız bel kısmının suya temas ettiği cihazları imal etmişler; daha sonra içinde su bulunan bir membranın vücuda temas ettiği kuru sistem olarak ifade edilen cihazlar kullanılmaya başlanmıştır. Bu sistemlerde enerji, membran içinde bulunan su aracılığıyla iletilir. Membranın vücuda temas ettiği kısma hava kabarcığı kalmaması ve iletimin sağlanması için özel bir jel sürülür. Günümüzde artık bütün cihazlar membran temalı olarak üretilmektedir. Böylece hasta ıslanmadığı için daha temiz ve seri tedaviler yapılabilmektedir (4,5).

3.Görüntüleme ve odaklama sistemleri

Litotriptörlerde taşın görüntülenmesi için üç çeşit odaklama sistemi kullanılmaktadır (1-3). Bunlar:

- a. Floroskopik odaklama
- b. Ultrasonik odaklama
- c. Ultrasonik-floroskopik odaklama

a. Floroskopik odaklama sistemi: Floroskopik odaklama sistemlerinde nonopak taşlar dışında üriner sistemin bütün lokalizasyonundaki taşların görüntülenmesi ve kırılması önemli bir avantajdır. Üreterlerde obstruksiyon yapan taşlar radyopak madde verilerek floroskopi ile görüntülenebilir ve obstruksiyonun olduğu veya taşın şüphelenildiği noktaya ESWL uygulanması mümkün olabilir (1).

Uygulama sırasında alınan radyasyon miktarı hasta için klasik filmler sırasında alınanlara göre oldukça düşüktür. ESWL'yi uygulayan ve devamlı odada bulunan sağlık personeli için ise röntgen tüpünden bir metre mesafede durulduğu takdirde kabul edilebilir düzeydedir. Bazı litotriptörler radyasyon yayılımını en aza indiren komputeze otopozisyon sistemlerine sahiptirler. Odaklama taş görüldükten sonra 90° görüş açısıyla önce bir düzlem üzerinde odak noktasına getirilir ve oblik görüş açısıyla yükseklik ayarlanır. Floroskopi ile odaklama 200 şoktan sonra kontrol edilmelidir (1).

b. Ultrasonik odaklama sistemi: Ultrasonik odaklama sisteminde radyasyon riskinin olmaması, nonopak taşların rahatlıkla lokalize edilip kırılması, 3mm'ye kadar küçük fragmanların kırılabilmesi, aletlerin daha ucuz olması gibi avantajları vardır. Ultrasonik monitörizasyonda hava baloncukları taş fragmentasyonlarının değerlendirilmesinde yanılmalara yol açabileceğinden her 200-300 şok dalgasından sonra kısa bir süre ara verilmelidir (2,3).

c. Ultrasonik-floroskopik odaklama sistemi: Hem floroskopik hem de ultrasonik görüntüleme sistemini içeren jeneratörler ise yukarıdaki sistemlerin dezavantajlarını ortadan kaldırıp daha verimli bir şekilde kullanılmasını

sağlamaktadır. Bu cihazlarda üriner sistemdeki bütün lokalizasyonlardaki non opak ve opak taşların kırılması sağlanabilmektedir (2,3).

İlk ESWL cihazı yalnızca floroskopik olarak görüntüleme yapmakta ve nonopak taşların tedavisi yapılamamaktaydı. Daha sonra üretilen ve yalnızca ultrason ile çalışan cihazlarda ise üreteropelvik ve üreterovezikal bölge dışında üreter taşları görüntülenememekteydi. Dornier, Siemens ve Türk Litotriptoru Multimed gibi bazı cihazlarda hem ultrasonik hem de floroskopik odaklama sistemleri birlikte kullanılmıştır (1,3).

1.2. Şok Dalgalarının Özellikleri

Şok dalga jeneratörleri tarafından üretilen ses dalgaları vücut dokuları gibi ortamlarda yayılma özelliği gösteren mekanik dalgalardır. Bilinen sinuzoidal konfigürasyonda ve mekanik özellikli ultrasonik dalganın aksine akustik şok dalgaları harmonik değildir ve doğrusal olmayan basınç karakteristikleri gösterirler. Basınç amplitüdünde kompressif güçler oluşturan hızlı bir yükselme söz konusudur. Bu jeneratörler süpersonik ve sınırlı amplitüdü olmak üzere iki temel şok dalgası meydana getirir. Süpersonik dalga yayanlar sınırlı bir ortamda enerji yayarlar. Böylece genişleyen bir plazma ve akustik şok dalgası oluştururlar. Kontrol altındaki koşullarda akustik şok dalgası, taşları kolaylıkla parçalayabilir. Sınırlı amplitüdde dalga yayanlar, nokta kaynaklı enerji sistemlerinin aksine elektriksiz deşarj ile aktive olmuş bir yüzeyin konumunu değiştirerek ritmik akustik şok dalgaları oluşturur (2).

1.3. Taş Parçalanma Mekanizmaları

ESWL ile taş kırılmasında dört mekanizma vardır (4):

1. Kompresyon fragmentasyon
2. Ufalanma
3. Akustik kavitasyon
4. Dinamik yük

Şok dalgaları iki ayrı ortam yüzeyinin akustik empedansları arasındaki farklılıklara bağlı olarak kırılma ve yansıma göstermektedir. Bu farklı akustik empedans, taş ve onu çevreleyen idrar (su) arasında olduğundan şok dalgası daha çok kırılma ve yansımaya uğramaktadır. Bunun da taşın parçalanmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Vücudun %75'i sudan ibaret olduğu için şok dalgaları çok az bir kayba uğrayarak dokulardan geçip, dakikada kan hacminin beşte birini alan içi kanla dolu (su ortamı) böbrekte, idrarla (su ortamı) çevrili taşa ulaşmaktadır. Parçalanma mekanizması taşa odaklanan şok dalgasının pozitif basınç komponenti ile başlamaktadır. Şok dalgası taşa ulaştığında kısmen taştan geri yansır. Yine de büyük kısmı taşa geçerek taş içine emilir. Şok dalgalarının taşa geçen bölümü kısmen taşın arka yüzüne de yansır. Yansıyan basınç bir gerilim dalgasına dönüşür. Bu işlem tekrarlandığında neticede taşın kompresif gücü aşılır, taş parçalanmaya başlar ve yüzey genişler. Bunun sonucu olarak taş giderek daha küçük parçalara ayrılır (3,4).

Odaklanmış olan şok dalgasının pozitif basınç komponentine ek olarak negatif basınç komponenti (gerilme kuvveti) de taş parçalanma işlemine yardımcı olmaktadır. Eğer gerilme kuvveti yeterince güçlü ise ortamın kuvvetini aşabilmekte ve sıvılarda ortaya çıkan “akustik kavitasyon” adı verilen durumu meydana getirmektedir. Bu akustik kavitasyon taş yüzeyinde olduğu zaman yüzeyde mikroerezyonlara yol açtığı saptanmıştır. Diğer taraftan aynı olgu doku hasarına da neden olmaktadır (3,4).

1.4. ESWL Endikasyonları

İlk yıllarda endikasyon alanı çok geniş tutulmakta iken, günümüzde taş çapı 1,5 cm' den büyük taşlar için her ne kadar daha invaziv bir tedavi yöntemi olmakla birlikte PNL ön plana çıkarılmaktadır. Bunun sebebi ise, ESWL ile büyük hacimdeki üriner sistem taşlarının tek seferde tamamen temizlenememesidir (5).

1.5. ESWL'nin Kontrendikasyonları

Böbrek taşlarının ESWL ile tedavisinde hasta seçimi, tedavinin başarısı açısından en önemli etkidir. Hastaya bağlı faktörlerin yanı sıra taşın boyutu, sayısı,

kimyasal yapısı, lokalizasyonu ve üriner sistemin anatomisi de önem taşımaktadır. Elde edilen ilk klinik deneyimlere göre hastaya bağlı bir dizi kontrendikasyonlar bildirilmiştir (5-7). Bunların bazıları aşağıda verilmiştir:

1. Tedavi edilmemiş kanama bozuklukları
2. Gebelik
3. Anestezi verilmesi gerekli durumlarda anestezinin kesinlikle kontrendike olduğu durumlar
4. Aşırı şişmanlık (vücut ağırlığının 130 kg üstünde olması)
5. Bazı iskelet anomalileri
6. Üriner sistem obstruksiyonları (İfundibulum (kaliks boynu) darlığı, üreteral darlık, infravezikal obstrüksiyonlar)
7. Tedavi edilmemiş üriner sistem enfeksiyonları
8. Aktif tüberküloz

1.6. ESWL'nin Komplikasyonları

Tedavi esnasında komplikasyon gelişimi çok nadirdir (<%1). Kardiyak aritmi, işitmede azalma, hipotonik senkoplar ve epidural anestezi durumunda bulantı gibi yan etkiler gözlenebilir. En ciddi yan etki çok çok nadir görülmekle beraber pulmoner emboli ve miyokard enfarktüsü gibi nedenlerden dolayı gelişen ölümdür. Tedavi sonrasında da ciddi komplikasyonlar çok nadirdir. İntrarenal veya perirenal hematoma insidansı %0.6'nın altındadır (8). Bu oran düşük basınçlı litotripsi ile daha az izlenmektedir. ESWL'den sonra renal kolik olması beklenen bir durumdur. Ateş görülme oranı ise taşın yapısına ve birlikte olabilen bir enfeksiyonun varlığına bağlıdır (8-10).

Litotripsi işleminde uygulanan şok dalgalarının, koroner arterler ya da direkt miyokard üzerine etkisiyle minör miyokardial hasardan miyokard infarktüsüne kadar değişen iskemik olaylar ortaya çıkabilmektedir. Koroner yetersizlik, aritmi gelişimi ve miyokard hasarı şok dalgalarının mekanik etkilerine veya elektromanyetik

etkileşime bağlanabilir. Çoğu kez geri dönüşümlü olan miyokardiyal hasarın mekanizması henüz kesin olarak bilinmemekte; ancak, şok dalgalarının böbrek ve karaciğerde oluşturduğu hasara benzer bir şekilde miyokardı da etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca, bu organların hasarı sonucu ortaya çıkan yıkım ürünleri ve enzimlerin koroner arter duvarını etkileyerek ya da şok dalgalarının direkt etkisi ile koroner spazmı uyarabileceği de ileri sürülmüştür. Ekstrasistol veya taşikardi 1. jenerasyon litotriptörlerde %80 oranında izlenirken, yeni jenerasyon litotriptörlerde bu oran %1'e düşmüştür (11).

ESWL sonrası taş parçacıklarından (distalde daha büyük olmak üzere) bir kısmı üreterlerde birikerek taş yolu oluşturabilir. Taş yolunu önlemek için büyük hacimli taşlarda işlem öncesinde double-j stent uygulanır. Taş boyutu 2,5 cm'den küçük ise stent koymanın üstünlüğü yoktur. Taş boyutu 2,5 cm'den büyük ise stent konması obstruksiyon oranını %26'dan %7'ye ve yardımcı girişim oranını ise %15'den %6'ya düşürmektedir (9).

Hastaların hemen hemen hepsinde görülen ve genellikle 24 saatte sonlanan hematüri izlenmektedir. Hematüri genellikle iki sebebe bağlı olarak ortaya çıkmaktadır:

- i. Taş fragmanlarının ürotelyum üzerinde yapmış olduğu travma etkisi
- ii. Şok dalgalarının parankim üzerinde yaptığı künt travma

Riehle ve ark. 518 olguluk serilerinde sadece bir olguda kan transfüzyonu gerektiren düzeyde kanamaya rastlamışlardır (12). Littleton ve ark. ise ESWL sonrası ortalama Hct düşüşünü %2 olarak bildirmişlerdir (13).

Üriner enfeksiyon ve sepsis ESWL sonrası görülebilecek diğer bir komplikasyondur ve literatürde %0,1-5 oranında bildirilmektedir (8,10). Özellikle struvit taşı olanlarda taş parçacıklarından açığa çıkan bakterilerin sepsis riski oluşturma riski oldukça yüksektir. Beraberinde üriner enfeksiyonu olan olgularda ise enfeksiyon tedavi edildikten sonra ESWL uygulamak daha doğrudur (10). ESWL tedavisi öncesi böbrek tüberkülozu olasılığını göz önünde bulundurmamak gerekir. Literatürde bugüne kadar böbrek tüberkülozu ile birlikte taşı olan iki olguda ESWL

sonrası milier tüberküloz geliştiği bildirilmiştir. Bu durum ESWL'nin böbrek parankimi üzerinde oluşturduğu travma sonucu hematojen yayılıma bağlanmıştır (14).

Daha nadir izlenen diğer komplikasyonlar; sol böbrek üst pol taşlarına uygulanan ESWL sonrası pankreatit gelişimi; yüksek yerleşimli böbreklerde akciğerin anatomik olarak aşağıya doğru yer değiştirdiği durumlarda akciğer harabiyetine bağlı olarak hemoptizi gelişimidir. Geç dönem komplikasyonu olarak travma sonucu intraparakimal kan ve idrar ekstrevasyonuna bağlı gelişen kronik fibrozis ile ilişkili hipertansiyon görülebilmektedir (15-18).

1.7. Şok Dalgalarının Biyolojik Etkileri

Geniş serili çalışmalar, her ne kadar ESWL'nin güvenilir ve etkili bir yöntem olduğunu gösterse de ciddi yan etki potansiyeline sahip olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur. ESWL'nin yaptığı bu olumsuz yan etkiler böbreklerin yanı sıra karaciğer, pankreas, iskelet kası ve gastrointestinal trakt gibi böbreğe komşu organlarda da meydana gelmektedir. Yan etkiler yalnızca akut olarak gelişmemekte, bazen uzun dönemde ortaya çıkan kronik dönem yan etkileri de gözlenmektedir. Şok dalgalarının oluşturduğu akustik kaviteasyonun, tepkisel kimyasal ara ürünlerin (serbest radikaller), mikrojetlerin ve/veya diğer enerjetik olayların doku hasarına yol açtığı öne sürülmektedir. Yüksek enerjili şok dalgalarının biyolojik etkilerinden söz ederken uygulama ile ilgili temel özelliklerin ve biyolojik sistemin çok iyi tanımlanmış olması gerekir. Şok dalgalarının etkisinin oluşmasında toplam şok dalga sayısı, puls frekansı ve spark gap litotriptörler için kullanılan elektrodun niteliği gibi cihaza bağlı faktörlerin yanı sıra hücre türü, hücrenin içinde bulunduğu büyüme fazı ve ortam özellikleri (pH, sıcaklık, oksijen saturasyonu, nem, ozmolalite, vb.) gibi biyolojik sisteme ait faktörler de önemlidir. Yüksek enerjili şok dalgalarının biyolojik etkilerini belirlemeye yönelik *in vitro* çalışmalar iki temel soru üzerinde yoğunlaşmaktadır:

1. Bu dalgalar hücreler üzerinde istenmeyen etkiye sahip midir? Bu sorunun yanıtının “evet” olması halinde, zarar oluşum mekanizmaları, hücrede hangi

organellerin zarar görebileceği ve şok dalgasının zarardan sorumlu fiziksel karakteristiklerinin neler olduğu gibi soruların yanıtlanması gerekmektedir (19,20).

2. Bu etkiler kötü huylu tümör hücrelerinin öldürülmesi ve kemoterapinin etkinliğinin artırılması gibi tedavi edici amaçlar için de kullanılabilir mi?

Şok dalgalarının hücresel zararları çok spesifik gözükmemektedir. Hücre organellerinden en fazla zarar gören mitokondrilerdir. Bunun dışında endoplazmik retikulumda genişleme, ikincil lizozomlarda artma, periferik hücresel süreçlerde kayıp, hücre zarı morfolojisindeki değişiklikler olarak sıralanabilir (19,20).

Şok dalgalarının diğer klinikopatolojik olgulara uygulanması henüz inceleme aşamasındadır. Bunlarda en ilginç olanı belli tümör hücreleri üzerinde kullanılan kemoterapötik ajanların etkinliğinin şok dalgaları ile artırılmasıdır (19,20).

Bu iki yöntemin kombinasyonu *in vitro* deneylerde olumlu sonuçlar vermekte birlikte aynı düzeyde olumlu sonuç *in vivo* deneylerden elde edilememiştir.

Şok dalgalarının hücresel zararlarından sorumlu fiziksel karakteristikleri çok iyi tanımlanmamıştır. Bununla birlikte en küçük pozitif ve negatif basınç genliğine sahip elektromanyetik litotriptörler, spark gap ve piezoelektrik litotriptörlerden daha az hücresel zarara neden olmaktadır. Uygulanan seans başına toplam şok sayısı önemli parametrelerden biridir ve klinik uygulamada bu sayı 2000-2500 dolayındadır. Uygulamanın bir defada ve yüksek dozda yapılması periglomeruler ve intratubuler fibroz alanını artırması nedeniyle renal zararı azaltmak için çok sayıda, küçük dozlarda yapılması önerilmektedir (19,20).

Sonuç olarak; çevre dokulara en az zarar vererek taşların parçalanması konusunda maksimum etkinliğe sahip uygulamanın planlanması birçok araştırmayı gerektirmektedir. Bu konuya yönelik *in vitro* çalışmalar mekanik olarak etkin; fakat biyolojik açıdan daha az zararlı litotripsinin gelişmesine büyük katkıda bulunacaktır (19,20).

ESWL sonrasında oluşabilecek yan etkiler, böbrek ve çevre doku değişiklikleri tablo 1’de özetlenmiştir (19-21).

Tablo 1. ESWL sırasında oluşabilecek böbrek ve çevre doku değişiklikleri

Sistem	Yan etki
Üriner sistem	Obstruktif uropati Üriner sistem enfeksiyonu/sepsis Böbrek kontüzyonu Perirenal ve subkapsüler hematoma İntrarenal hematoma/hemoraji Böbrek boyutlarında artma Subkapsüler ve perirenal sıvı koleksiyonu Böbrek kisti içine kanama Kortikomedüller farklılaşmanın kaybı Kapiller damarların konjesyonu ve rüptürü Perinefrik yumuşak dokuda kabalaşma ve fasyal kalınlaşma Perinefrik yağ, kas tabakalarında ve submukozada yama şeklinde fibrozis Kronik interstisyel ve tübüler skarlaşma Efektif böbrek akımında azalma Glomerüler filtrasyon hızında geçici değişiklikler Böbrek fonksiyon kaybı
Kardiyovasküler Sistem	Kardiyak aritmi Hipertansiyon
Cilt	Ciltte peteşi ve ekimoz Şok dalgalarının vücuda giriş yerinde ciltte yanıklar
Gastrointestinal Sistem	Gastrik, duodenal ve kolonik erozyonlar

1.8. ESWL'nin Biyolojik Hasar Etkileri

1.8.1. Akut ekstrarenal hasar

Modifiye edilmemiş üçüncü kuşak ESWL cihazları (HM3) karaciğer, iskelet kası gibi organlarda travmaya sebep olmaktadır. Bu durum tedaviyi takip eden 24 saat içerisinde bilirubin, LDH (Laktat dehidrogenaz), SGOT (Serum glutamik

oksalasetik transaminaz) ve kreatinin fosfokinaz artışıyla tanınır. Bu parametreler ESWL'den sonra 3-7 gün içerisinde düşmeye başlar ve 3 ay sonra normale döner (11,15). Gastrik ve duodenal erozyon gibi gastrointestinal sistem sorunları en sık rastlanan ekstrarenal komplikasyonlardır (15). Serum amilaz ve lipaz düzeylerindeki artışla ortaya çıkan akut pankreatit, kolonun mukozal hasarına sekonder hematokezya, kardiyak yaralanmaya ikincil MI (Miyokard infarktüsü), serebrovasküler olaylar, akciğer parankimi yaralanması ve brakial pleksus palsi %1'den az izlenen nadir komplikasyonlardır (11,15-18).

1.8.2. Akut renal yaralanma

ESWL tedavisi uygulanan hastaların bazılarında böbrekte akut yapısal değişiklikler ortaya çıkmaktadır. En sık görülen yan etki böbrek içerisinde ya da civarında kanama ve/veya ödemdir. Böbrek %84 oranında genişler ve akut intrarenal ödeme işaret eden kortikomedüller demarkasyon kaybı oluşur (22). Perirenal ve subkapsüler alanda sıvı (kan, ürin) birikimi HM3 litotriptör ile tedavi edilen hastaların %32'sinde izlenmektedir (22,23). Bu değişimler, renal parankimde lokalize olmuş hafif kontüzyonlardan, transfüzyonu gerektirebilen ciddi kanama ile birlikte ortaya çıkan büyük hematomlara kadar değişmektedir. Bu tür hemorajiler akut renal bozukluk oluşturabilir ve erken teşhis edilmemesi durumunda ölümlere dahi neden olabilir (22). Rubin ve ark. ESWL yapılan hastalarda BT (Bilgisayarlı tomografi) tetkiki ile fokal ödem bölgelerini düşündüren septal uzantıların sayısında artış, perirenal yumuşak doku değişimleri ve Gerota fasyası kalınlaşmalarını göstermişlerdir (20). Yapılan izlemde perirenal sıvının genellikle birkaç gün içerisinde kaybolduğu; ancak, subkapsüler sıvı ya da kanın çözünmesinin 6 hafta-6 ay devam ettiği gösterilmiştir (20).

Bununla birlikte renal fonksiyondaki akut değişiklikler sadece birkaç çalışmada analiz edilmiştir. Kaude ve ark. ESWL yapılan hastalarda renal sintigrafi tetkiki ile böbreklerin %30'unda etkili plazma akımında ani bir azalma tespit etmişlerdir (19). Diğer taraftan, birçok çalışmada obstrükte olmayan ve ESWL ile tedavi edilmiş böbreklerde kontrast ekskresyon kaybı ya da gecikme olduğunu bildirmiştir (19,21,23).

Renal fonksiyondaki azalma uygulanan şok sayısı ile ilişkili bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada, yaklaşık 1500 şok içeren tedavi rejiminin güvenli olduğunu; daha yüksek sayıda şok uygulamasının renal plazma akımında neden olduğu belirtmişlerdir (24). Orestano ve ark. ise 2500 şoktan daha az ESWL uygulamaları sonrasında 30 gün içinde tamamıyla gerileyen renal fonksiyon değişimleri olduğunu, 2500 şoktan fazla tedavilerde hem tedavi edilen hem de karşı böbrekte renal fonksiyonlarda daha kapsamlı değişikliklerin görüldüğünü (klirens azalması, I 131 hippürik asit iletimin süresinin uzaması) bildirmişlerdir (21).

Knapp ve ark. hipertansiyonu olan bazı taş hastalarda ESWL sonrası perinefrik hematoma gelişim riskinin yüksek olduğunu; trombositopeni ve koagülopatisi olan olgularda ise bu riskin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (22).

1.8.3. Kronik renal yaralanma

ESWL sonrasında çıkabilecek olası kronik renal değişimler; kan basıncında artış, renal fonksiyonda azalma ve taşın rekürrens oranında artmadır. Bu üç etkinin hepsinin akut yaralanmanın f2 odağındaki skar gelişimine bağlı olduğu bilinmektedir. Lechevallier ve ark. piezoelektrik litotriptör ile tedavi edilen 12 hastanın böbreklerini ESWL öncesinde ve ESWL'den 30 gün sonra tek foton emisyon BT (SPECT) tetkiki ile değerlendirmişler ve tedavi edilen böbreklerin tamamında renal fonksiyonlarda azalma meydana geldiğini; 4 olguda ise kontrast tutulumunda %4'ten daha fazla azalma olduğunu görmüşlerdir (25).

ESWL tedavisinin uzun dönemde renal fonksiyonlarda azalmaya yol açabileceği birçok çalışmada bildirilmiştir. Williams ve ark. iki böbrekli hastalarda ESWL'den sonra 17-21 ayda etkili renal plazma akımı yüzdesinde önemli oranda azalma belirlemişlerdir (26).

Rutz-Danielczak ve ark. ESWL'nin glomerüler filtrasyon hızını (GFR) etkilememekle beraber, geçici tübüler disfonksiyona neden olduğunu belirtmişlerdir (27).

1.8.4. ESWL'nin biyolojik yapılar üzerindeki etkileri

ESWL'nin biyolojik yapılar üzerindeki etkileri histopatolojik, klinikopatolojik ve biyokimyasal etkiler olarak üç başlık altında incelenebilir:

1.Histopatolojik Etkiler (28-30):

- a. Glomerüler ve tübüler hücrelerde, bowman kapsülünde yırtıklar
- b. Podositik pediküllerde birleşme, şişme ve krista rüptürüyle belirgin mitokondri hasarı
- c. Çekirdek çevresinde sisterna gelişimi
- d. Glomerüler membranda ve bazal membranda kalınlaşma
- e. Bazal membranda lamina densa ile internal ve eksternal laminalar arasında bölünme
- f. Geç dönemde skar dokusuna gidiş, tübül hücrelerinde mikrovilli kaybı, myelin benzeri yapıların oluşması, tübül hücre sitoplazmik matriksinde vakuolizasyon ve tübül hücrelerinde hemosiderin granül birikmesi, tübüler hücrelerde dağılmayı da içeren değişiklikler
- g. Kapillerde segmental fibroepitelyal kalınlaşma, intimanın proliferasyonuna bağlı lümen tıkanması, endotelial hücrelerde küçük defektler ve mitokondri hasarını gösteren şişme
- h. Kortikomedüller sınırın kaybolması
- i. ESWL sonrası vasküler hasarlanma, parankim içine kanama, tübüler zedelenme
- j. Şok dalgalarının akustik kavitasyon etkisiyle proksimal tüp hücrelerinde değişik doku hasarları
- k. Kronik olarak fibrozis, fokal kalsifikasyon, nefron kaybı, hyalinize skar oluşumu

2. Klinikopatolojik Etkiler:

Böbrek hastalıkları, üriner sistem enfeksiyonları, önceki litotripsi ve soliter böbrek gibi risk faktörleri, ESWL'nin böbrek üzerine olan etkilerini arttırabilmektedir. ESWL ile tedavi edilen hastaların %85'inde tedaviyi takiben bazı renal morfolojik değişiklikler saptanabilmektedir. Bunlar (21,29,31,32):

- a. ESWL sonrasında, sıklıkla böbrekte fokal parankimal hasara bağlı geçici hematüri
- b. Perinefrik ve intranefrik sıvı koleksiyonuna bağlı ödem
- c. Subkapsüler ve intra renal hematoma
- d. Staghorn taşlarının şok dalgalarıyla tedavisinde septik komplikasyonlar
- e. Hipertansiyon

3. Biyokimyasal Etkiler (28):

- a. Kan ve/veya idrarda genellikle geçici olarak tübüler enzimlerde (kreatin fosfokinaz, N-asetil- β -glukoaminidaz, β -galaktozidaz, γ -glutamil transpeptidaz ve laktat dehidrogenaz), bilirubin, SGOT, SGPT (Serum glutamik pirüvik transaminaz) ve gecikmiş olarak alkalin fosfatazda artış, kalsiyumda geçici düşüklük
- b. Geçici proteinüri

1.8.5. ESWL'nin dokularda hasar yapma mekanizmaları

ESWL sırasında doku hasarına yol açan etkenlerden birisi akustik kavitasyondur. Akustik kavitasyon, gerilebilir kuvvetin çevre basıncını geçmesi halinde oluşmakta ve bir gaz kabarcığı meydana gelmektedir. Bu kabarcık daha sonra pozitif basınca geri dönülmesiyle sönmektedir (33). ESWL'nin *in vivo* olarak akustik kavitasyon oluşturduğu gösterilmiştir. Şok dalgalarıyla taşın kırılmasında, itici ve gerilebilir güçlerin yanında kavitasyon mikrojetleri de önemli katkıda bulunmaktadır (28).

ESWL'nin dokudaki etkilerini tamamen mekanik mekanizmalara bağlamak zordur. Nitekim her şok dalgası 18000-24000 voltluk elektrik enerjisinin termal etkileriyle oluşmaktadır. Bu enerjinin f_2 odağında (taşın getirildiği odak) bulunan dokuda, biyokimyasal olaylara neden olabileceği öne sürülmüştür (34).

SERBEST RADİKALLER VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ

Serbest radikaller organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisiyle de meydana gelmektedir. Yaşam süreleri çok kısa olmasına rağmen, yapılarındaki dengesizlik nedeniyle çok aktif olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliğine sahiptirler (35).

Aerobik metabolizması olan memelilerde serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir. SOR (Serbest Oksijen Radikalleri) normal hücre metabolizması sırasında ortaya çıkan yan ürünlerdir ve hedef molekülleri çoklu doymamış yağ asitleri, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitlerdir (35). Bilindiği gibi, oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir ve hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli olan enerjiyi sağlamaktadır. Ancak, bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez ve süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur (36).

Doğada sık bulunan oksidan ajanlardan bir kısmı şunlardır (37).

1. Radikal olanlar

- a. Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$)
- b. Hidroksil (HO^{\cdot})
- c. Peroksil ($ROOH$)
- d. Alkoksil (RO^{\cdot})
- e. Nitrik Oksit (NO)

2. Radikal Olmayanlar

- a. Azot Dioksit (NO_2)
- b. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
- c. Singlet Oksijen (1O_2)
- d. Ozon (O_3)
- e. Hipoklorik Asit ($HOCl$)
- f. Lipit Hidroperoksit ($LOOH$)
- g. Peroksinitrit ($ONOO^{\cdot}$)

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada “antioksidanlar” olarak adlandırılan çeşitli savunma sistemleri gelişmiştir. Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasında denge korunmadığı takdirde hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır. Normal koşullar altında SOR'nin fizyolojik seviyesi/reaktivitesi detoksifikasyon mekanizmalarıyla hassas bir şekilde dengelenir ve bu dengede özellikle antioksidan savunma mekanizmaları önemli rol oynamaktadır. Doğada serbest radikal oluşumunu artıran çeşitli faktörler tanımlanmıştır. Bunlar iki şekilde sınıflandırılabilir (35,38).

A. Ekzojen Faktörler:

1. Diyetel faktörler: Doymamış yağ asitlerinden zengin beslenme, alkol, fazla kalorili beslenme (obesite), hayvansal proteinlerce zengin beslenme, sebze ve meyvelerin az tüketilmesi, yiyeceklerin uygun olmayan ortam ve koşullarda hazırlanması

2. Çevresel faktörler: Sigara dumanı, hava kirliliği (O_3 , NO_2 , SO_2 , hidrokarbonlar), radyasyon diğer kirlenmeler (asbest, pestisitler, vs.)

3. İlaçlar: Antikanser ilaçlar, glutatyon tüketen ilaçlar

B. Endojen Faktörler:

1. Fiziksel egzersiz/sedanter yaşam

2. Stres

3. Yaşlılık

4. Doku hasarı ve kronik hastalıklar (Ateroskleroz, kanser, kronik inflamasyon, iskemi-reperfüzyon hasarı gibi)

5. Diyetel antioksidan alımını etkileyen koşullar (iştahsızlık, malabsorbsiyon, kolestaz)

2.1. Doğada Sık Görülen Reaktif Oksijen Partikülleri

2.1.1. Süperoksid Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Zayıf reaktif bir serbest radikal olan süperoksid anyonu moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu meydana gelir. Süperoksid oluşumu özellikle

mitokondri iç zarındaki solunum zincirinde elektrondan zengin aerobik ortamda spontan olarak gerçekleşir.

İki molekül süperoksit molekülü SOD (Süperoksit dismutaz) tarafından hızla hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşür.

Organizmanın uzun süreli korunmasız kalması bu maddelerin düşük konsantrasyonlarında bile biyolojik açıdan önemli moleküllerin tahribatı ile sonuçlanır ve DNA'da mutasyon ve doku hasarına yol açar.

Süperoksit radikali açığa çıktığı hücre bölümünden daha uzak yerlere diffüze olabilir. Ancak bu diffüzyon hücre içindeki SOD enziminin yüksek konsantrasyonu nedeniyle sınırlıdır (39,40).

2.1.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Bütün elektronları çiftleşmiş olduğu için H₂O₂ gerçek bir serbest radikal değildir. Ancak; demir, bakır ve mangan gibi geçiş metalleri ile reaksiyona girerek hidroksil radikali oluşumuna yol açabildiğinden dolayı önemli bir oksidandır. Bu metallerin varlığında en önemli SOR olan hidroksil radikalının (OH[·]) oluşumunu sağlar. Hidrojen peroksit DNA hasarı yapıcı etkisini hidroksil radikali aracılığı ile gösterir. Diğer önemli bir görevi de intraselüler sinyal molekülü olarak rol almasıdır. Hidrojen peroksit oluşuktan sonra katalaz, glutatyon peroksidaz ve peroksiredoksinler adında üç enzim sistemi tarafından uzaklaştırılır (39,41).

2.1.3. Hidroksil Radikali (OH[·])

Biyolojik sistemlerde bulunan potansiyel olarak en güçlü oksidandır. Yarı ömrü çok kısa ve reaktivitesi çok yüksek olduğu için komşu moleküllerle hızla reaksiyona girer. Oluşması için ortamda geçiş metalleri gereklidir (39).

Hidroksil radikalının en önemli özelliği hücre membranlarına yakın olduğu zaman membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine etki ile serbest radikal zincir reaksiyonunu başlatabilmesidir. Hidroksil radikali canlı hücrelerde bulunan bütün moleküllerle reaksiyona girebilmektedir (41). Lipit peroksidasyonunu başlatabilir, DNA iplikçiklerinde kırılmalara neden olabilir ve ayırım yapmadan hemen her organik molekülü okside edebilir (38).

2.1.4. Singlet Oksijen (1O_2)

Enerji absorpsiyonu ile oksijenin paylaşılmamış dış elektronları değişerek aynı veya farklı orbitale yerleşebilirler. Uyarılmış haldeki bu oksijene singlet oksijen denir. Karotenler, bilirubin, histidin, methionin, 2-5-difenilfuran, 1,4-diazbisikloalefan singlet oksijeni ortamdaki temizlerler (42).

Singlet oksijen DNA, RNA, proteinler, lipitler ve sterollerini kapsayan çok sayıda biyolojik hedeflerle reaksiyona girerek hücrede zararlı etkilere sebep olur (42).

2.1.5. Perhidroksil radikali (H_2O^{\cdot})

Düşük pH da daha reaktif olan O_2^{\cdot} radikali protonlanarak kendisinden daha kuvvetli bir oksidan olan perhidroksil radikalini oluşturur (43).

2.1.6. Nitrik oksit (NO)

Renksiz ve son derece toksik bir gaz olan NO 20-30 saniyelik yarı ömre sahip bir serbest radikaldir. Yüksüz ve lipofilik özellikte bir molekül olması sebebiyle membranlardan kolaylıkla geçebilir. Nitrik oksit pek çok biyomolekülle zayıf reaktivite göstermesine rağmen, diğer serbest radikallerle olan reaksiyonları oldukça hızlıdır. Düşük konsantrasyonlardaki NO, vücutta düz kasların gevşemesinden, nöronal fonksiyonların düzenlenmesine; yara iyileşmesinden, enfeksiyonlara karşı immün yanıtın sağlanmasına kadar pek çok önemli fonksiyona sahiptir. Nitrik oksidin bu fonksiyonları fizyolojik homeostazın sürdürülmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bununla birlikte NO'nin yüksek konsantrasyonlarda, çeşitli enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiği ve lipit peroksidasyonunu indüklediği, antioksidanların azalmasına veya DNA'da mutasyonlara sebep olarak aynı zamanda sitotoksik etkilere sahip olduğu da gösterilmiştir (44,45).

2.2. Serbest Radikallerin Biyolojik Etkileri

Serbest radikaller hücre ve dokularda birçok zarara yol açmaktadır. Bu zararlar şöyle sıralanabilir (35,40):

- a) DNA' nın tahrip olması
- b) Nükleotit yapıli koenzimlerin yıkımı
- c) Lipit peroksidasyonu ile zar yapısı ve fonksiyonunun değışmesi
- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değışiklikler
- e) Protein ve lipitlerle kovalent bağlar yapması
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- g) Yaş pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein “turnover” ının artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değışmesi
- j) Kollagen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değışikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı

Serbest radikaller DNA'nın kimyasal modifikasyonu ile mutagenik etki göstermektedir. Özellikle OH[·] radikali, serbest radikallerin sebep olduğu bir takım değışimlere (DNA ayrılması, DNA-protein çapraz bağlanması, pürinlerin oksidasyonu gibi) neden olmaktadır. DNA onarım sistemi hemen DNA'yı rejenere etmezse replikasyon sırasındaki yanlış baz çifti, mutasyonla sonuçlanacaktır. Bu mekanizma oksidatif strese maruz kalmış kişilerdeki artmış kanser prevalansını açıklamaktadır. Serbest radikal aracılığıyla oluşan apoptozis bazı vakalarda serbest radikale bağı DNA hasarının bir parçasıdır (40).

Biyomembranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum), membran fosfolipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin varlığı nedeniyle oksidatif ataklara duyarlıdır (46). Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansature yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak adlandırılır ve kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlediği için oldukça zararlıdır. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen

membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipit peroksidasyonu organizmada oluşan bir serbest radikal etkisi sonucu membran yapısında bulunan poliansature yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar (47). Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalın süperoksit anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Lipit peroksidasyonunda asıl etkili radikalın (OH^\cdot) radikali olduğu düşünülmektedir.

Yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Oluşan lipit radikali (L) dayanıksız bir bileşik olup bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra lipit radikalının oksijen ile reaksiyona girmesi ile lipit peroksit radikali (LOO^\cdot) meydana gelir. Bu radikal de zardaki poliansature yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlamakta ve kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşmektedir. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam etmektedir (47).

Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitlerinin aldehit ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesi ile sona ermektedir. Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit (TBA) testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipit peroksit düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Peroksidasyon sırasında oluşan dien konjugatlarının ölçümü de *in vivo* lipit peroksitlerinin düzeyini yansıtması açısından giderek önem kazanmaktadır. Lipit hidroperoksitlerinin parçalanması ile oluşan etan, bütan ve pentan gibi gazların tayini de son yıllarda lipit peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmektedir (47,48).

Lipid peroksidasyonunun organizmadaki etkileri şu şekilde özetlenebilir (46).

a) Lipit peroksidasyonu sonucu membran akışkanlığı azalır ve normalde hücre içine giremeyen maddelerin hücre içine girişleri artar.

b) Lipit peroksitler ve alkoksil radikaller, triptofan ve sistein gibi protein kısımlarına ataklar yaparak protein yapısını bozar ve hasar meydana getirirler.

c) Lipit peroksidasyonu sırasında aktiviteleri için sülfidril ve amino grubuna gereksinim duyan, özellikle hormonal uyarılara hücrenin cevap vermesini sağlayan G6P-az ve Na-K ATPaz gibi yüzey reseptörleri inhibe olur.

d) Hücre membranına yakın yerleşimdeki DNA molekülleri de hasar görür DNA'nın replikasyonu yapılamaz.

e) Bazı aldehitler biyolojik sıvılarda kemotaktik etki gösterirler.

f) Malondialdehit (MDA) gibi aldehitler, düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL) modifiye ederek metabolik yolu değiştirebilirler.

Serbest radikaller bazı aminoasitlerle reaksiyona girer ve enzimlerin aktivitelerini ortadan kaldırarak modifiye, fonksiyon görmeyen proteinlerin oluşmasına sebep olurlar. En çok sorumlu tutulan aminoasitler sülfür içerenlerdir (40). Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin gibi halkalı yapıda olanlar oksidasyona en fazla maruz kalan aminoasitlerdir. Oksidasyon sonucu proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler fonksiyonlarını etkilemektedir. Serbest radikallerin modifikasyonuna duyarlı oldukları için özellikle enzim veya reseptör fonksiyonuna sahip membran proteinlerinin, protein oksidasyonu ile fonksiyonları bozulmaktadır. Protein yapısındaki hasarın gösterilmesi için, protein karbonillerinin belirlenmesi yaygın olarak kullanılan bir göstergedir (47).

2.3. İleri Oksidasyon Protein Ürünlerinin Oluşumu

Protein oksidasyonunun yeni bir belirteci olan ileri oksidasyon protein ürünleri (*Advanced Oxidation Protein Products* = AOPP) ditirozin içeren çapraz bağlı protein ürünleri olarak tanımlanmaktadır (49). Bu maddelerin düzeyleri, protein oksidasyonunun göstergesi olan ditirozin ve ileri glikasyon son ürünü olan pentozidin düzeyleri ile kolerasyon gösterdiği; fakat, lipit peroksidasyon belirteçleri ile kolerasyon göstermediği belirtilmiştir (50).

ANTIOKSİDANLAR

Vücutta serbest radikaller meydana geldiğinde organizmayı oksidatif stresten korumak için antioksidan sistem devreye girer. Antioksidan savunma sistemi üç defans hattından oluşur. Birinci defans hattını peroksidaz ve metal bağlayan proteinlerin süpresyonu ile serbest radikallerin meydana gelmesini önleyen antioksidanlar oluşturur. İkinci defans hattını vitamin C ve vitamin E gibi radikal temizleyici antioksidanların zincir oksidasyonunun başlamasını inhibe etmesi ve zincirleme reaksiyonların yayılımını önlemesi oluşturmaktadır. Üçüncü olarak da hasarı onarma ve eski haline getirmeye çalışan onarıcı ve yeniden yapılandırıcı enzimler (lipazlar, proteazlar, DNA onarıcı enzimler ve transferazlar gibi) defansta rol alırlar (51).

Antioksidanlar çeşitli şekilde gruplandırılabilirler (38) (Tablo-2).

Tablo 2. Antioksidanların sınıflandırılması

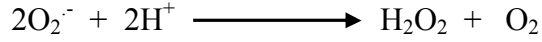
Yapılarına göre	a. Enzim karakterli antioksidanlar b. Enzim karakterli olmayan, küçük moleküller
Kaynaklarına göre	a. Organizmaya ait olanlar (endojen antioksidanlar) b. Dışardan alınanlar (eksojen antioksidanlar)
Çözünürlüklerine göre	a. Suda çözünenler b. Lipitlerle çözünenler
Yerleşimlerine göre	a. Hücre içinde bulunanlar b. Plazma ve diğer ekstraselüler sıvılarda bulunanlar

3.1. Enzim Karakterli Antioksidanlar

3.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1.)

Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan SOD süperoksidin H_2O_2 dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir. Bu enzim endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında bol miktarda bulunan en önemli antioksidan enzimlerden

birisidir. Normalde damar duvarında süperoksit radikallerini detoksifiye ederek lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişimini önler. Hücrede serbest oksijen radikalleri oluşurken ilk basamakta $O_2^{\cdot-}$ meydana geldiği ve SOD enzimi bu radikalin dismutasyonunu sağladığı için, hücre içindeki ilk savunma sistemini bu enzim oluşturmaktadır (38).

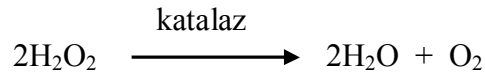


SOD'ın diğer bir görevi de serbest radikalleri inaktive ederek dehidratazları korumasıdır.

Mangan içeren dismutaz (Mn SOD), bakır ve çinko içeren dismutaz (Cu/Zn SOD), ekstrasellüler dismutaz (EC-SOD), nikel içeren dismutaz (Ni-SOD) olmak üzere dört çeşit SOD tanımlanmıştır (52).

3.1.2. Katalaz (KAT, EC 1.11.1.6.)

Katalaz 60 kDa ağırlığında dört aynı yapıda tetrahedral subunitler içeren hem-enzimdir. Süperoksit dismutaz aracılığıyla oluşan hidrojen peroksit bir radikal olmamasına karşın, en reaktif SOR olan HO^{\cdot} radikalinin öncüsü olduğu için birçok SOR'den daha fazla oksidatif hasara neden olur. Katalaz hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalar. Ayrıca, hidrojen peroksitin yanı sıra metil-, etil-hidroperoksitler gibi küçük moleküllü lipid hidroperoksitleri de indirger (52).



Katalaz, peroksizomlarda yerleşmiş olup kan, kemik iliği, muköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarlarda bulunmaktadır (52).

3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px, EC 1.11.1.9.) ve Glutatyon Redüktaz (GSH-Rd, EC 1.6.4.2)

Glutatyon peroksidaz, glutatyon tarafından hidroperoksitlerin (ROOH ve H_2O_2) indirgenmesini sağlayarak, memeli hücrelerini oksidatif hasara karşı koruyan selenyum içeren bir enzimdir (52). GSH-Px, hücrenin mitokondri (%30) ve sitozol (%70) fraksiyonlarında lokalizedir ve yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize edebilmektedir. Glutatyon peroksidaz eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidandır (53).

3.1.4. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD, EC 1.1.1.49)

Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD), pentoz fosfat yolunun ilk ve hız sınırlayıcı enzimi olup intrasellüler β -nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (NADPH)'in da başlıca kaynağıdır. Üretilen NADPH ise serbest radikallerin detoksifikasyonunda rol oynayan GSH-Px enziminin aktivitesi için gerekli olan indirgenmiş GSH sağlamaktadır (54).

Diğer taraftan G6PD'in vasküler endotelial hücreler ve düz kas hücrelerinde de serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Ayrıca G6PD'in vasküler endotelial hücrelerde NADPH'ı kofaktör olarak kullanan endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enziminin aktivitesi için de gerekli olduğu ve eksikliğinde eNOS'ın yeterli aktivite gösteremeyerek süperoksit radikali üretmeye başladığı ve sonuçta LDL oksidasyonunun tetiklenebileceği bildirilmiştir (54).

3.1.5. Paraoksonaz (PON, EC 3.1.8.1)

Paraoksonaz (PON) adını ilk kez bir organofosfat olan paration'un vücuttaki aktif metaboliti olan paraoksonu hidrolize etmesinden almıştır. PON lipit peroksidasyonunu azaltır, LDL ve yüksek dansiteli lipoprotein (HDL)'i oksidasyondan korur ve bu özelliği ile ateroskleroz riskini de azaltmış olur (55,56).

3.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

3.2.1. Antioksidan vitaminler

Yağda çözünen vitaminler içerisinde önemli yere sahip vitamin E, özellikle membran ve lipoproteinlerin bileşenleri üzerinde zincir kırıcı antioksidan etkiye sahiptir. α -tokoferol, vitamin E türevleri içerisinde en aktif bileşiktir ve zincir reaksiyonları ile ilişkili peroksil radikalini temizleyerek lipit peroksidasyonunu engeller (57).

Askorbik asit (vitamin C) glukoz metabolizmasından gelen, suda çözünen vitaminler grubundandır. Askorbik asidin bir elektron oksidasyonu sonucu

monodehidro askorbil radikali oluşurken, reaksiyona girdiği radikali de etkisiz hale getirerek serbest radikallerin organizmaya verdiği zararı engeller (58).

3.2.2. Karotenoidler

Karotenoidler (β -karoten, Likopen, Zeaksantin, Lutein, Violaksantin), genelde sarı ve turuncu renkli bileşikler olup bazı bakteriler ve alglerde, çoğu zaman ise bitkilerde bulunan pigmentlerdir. Organizmada triplet uyarıcıların zararlı etkilerini baskılama, singlet oksijeni baskılama ve bazı oksijen radikallerini temizleme gibi koruyucu etkilere sahiptir. Karotenoidler lipid membranlara lokalize olarak membranların oksidatif strese karşı hassasiyetini azaltır (59).

3.2.3. Glutasyon (GSH)

Glutasyon glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan bir tripeptit olup antioksidan ve indirgeyici bir ajandır. Organizmada temel olarak peroksidaz aracılı peroksitlerin katabolize edilmesi, hücrel tiyol ve redoks potansiyelinin düzenlenmesi, bir nörotransmitter veya immünofarmakolojik tiyol görevi üstlenerek endokrin ve immün sistem arasındaki etkileşimi sağlaması, redoksa duyarlı transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu artırarak strese cevabın aktivasyonu gibi görevler üstlenir (60-62).

3.2.4. Ürik asit (Ürat)

Ürik asit ksantin oksidazın oksipürünleri (ksantin, hipoksantin gibi) oksitlemesi ile oluşur. İnsanda pürin metabolizmasının son ürünüdür.

Fizyolojik koşullarda singlet oksijen, hipoklorit ve hidroksil radikali gibi reaktif bileşikleri baskılar; fakat, süperoksit radikali ile doğrudan reaksiyona girmez. Ürik asidin antioksidan etkili olduğunun göstergesi peroksit kaynaklı lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu olmasıdır (63).

3.2.5. Bilirubin

Hem katabolizmasının son ürünü olan bilirubin aynı zamanda singlet oksijen, peroksinitrit ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen ve nitrojen türevlerini baskılar;

bununla birlikte peroksil radikallerine karşı hidrojen donörü olarak davranarak lipit peroksidasyonunun zincir devam ettirici radikalini de etkisiz hale getirir (64).

3.2.6. Melatonin

Hidroksil radikali, hidrojen peroksit, peroksil radikali, singlet oksijen, nitrik oksit ve peroksinitrit anyonu gibi reaktif türlerin temizlenmesinde veya baskılanmasında etkilidir (65).

3.2.7. Seruloplazmin

Bakır bağlayıcı bir glikoprotein olan seruloplazmin oksidoredüktaz aktivitesine sahiptir ve böylece oksijenden türemiş (örneğin, $\cdot\text{OH}$) SOR'ni etkisizleştirmektedir. Ayrıca, SOR oluşumunu uyaran bakırı da bağlayarak antioksidan etki göstermektedir (66,67).

3.2.8. Transferrin

Transferrin plazmada bulunan demir bağlayıcı bir glikoproteindir ve demirin uyardığı serbest radikal oluşumunu önleyen bir antioksidandır (66,67).

3.2.9. Ferritin

Dolaşımdaki serbest demiri bağlayarak serbest radikal reaksiyonlarına kolayca girmesini önleyen bir proteindir (66).

3.3. Total Antioksidan Durum

Antioksidan kapasite biyolojik sistemlerdeki dört genel antioksidan kaynağını açıkça ortaya koymaktadır (68).

1. Enzimler: (örneğin, SOD, GPx ve katalaz)
2. Büyük moleküller: (albumin, seruloplazmin, ferritin ve diğer proteinler)
3. Küçük moleküller: (askorbik asit, glutatyon, ürk asit, tokoferol, karotenoidler, polifenoller)
4. Bazı hormonlar: (östrojen, anjiotensin, melatonin vs.)

Antioksidan kapasite (AK) ölçümü plazma ve vücut sıvılarında bulunan bütün antioksidanların kümülatif etkisini yansıtmaktadır. Böylece ölçülebilen antioksidanların ayrı ayrı toplamından daha bütün bir değerdir. Bilinen ve bilinmeyen antioksidan kapasiteyi ve sinerjik etkileşimi ölçtüğünden dolayı *in vivo* oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki hassas dengeyi kavramayı sağlar. Plazma AK ölçümü insanlarda fizyolojik, çevresel ve beslenme faktörlerinin redoks durumunu değerlendirmeye yardım eder. Plazma AK'nin tespiti *in vivo* oksidatif durumun değiştiği durumları ayırtetmeye yarar (SOR'a maruz kalma ve antioksidan alımı). Bitkisel antioksidan alımı veya antioksidandan zengin yiyeceklerin alımından sonra plazma AK'deki değişiklikler besinsel bileşimlerin biyoyararlanımı ve absorpsiyonu hakkında bilgi sağlayabilir (69).

Hücrelerin AK'si başlıca enzim sistemini yansıtırken, plazma AK'si ise diyetel orjinli küçük molekül ağırlıklı antioksidanları yansıtır. Plazma AK hem radikal fazla yüklenimini hem de diyetel antioksidan alımını düzenler ve tek seçilmiş antioksidan konsantrasyonuna göre *in vivo* oksidasyon ürünleri ve antioksidanlar arasındaki dengeyi daha fazla temsil ettiği kabul edilmektedir (69).

Geleneksel AK ölçümleri primer olarak plazmadaki sıvı kompartmanın antioksidan kapasitesini ölçmektedir. Bu nedenle askorbik asit, ürik asit ve protein tiolleri gibi suda çözünen antioksidanlar bu ölçümü etkiler. Fakat tokoferol ve karetenoidler gibi yağda çözünen antioksidanlar küçük bir role sahiptir (70).

3.4. Böbrek Dokusu ve Serbest Radikaller

Böbrekler aerobik metabolizmanın belirgin bir şekilde görüldüğü, canlılar için önemli bir organdır. Böbrekler vücut sıvı elektrolit dengesini muhafaza etmek için, total vücut ağırlığının %1'ini oluşturmasına rağmen, bütün vücut oksijen tüketiminin %10'undan sorumludur. Kalp debisinin %20'sini alan böbrekler, bu özelliklerinden dolayı dolaşımdaki polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) ve monositlerin glomerüllere ve interstisyel dokuya infiltrasyonu sonucunda ek bir oksidan strese maruz kalırlar. Böbrekler, yüksek O₂ tüketimi ve metabolik aktiviteye ek olarak, infiltratif hücreler ve kendi yerleşik hücrelerinden de reaktif O₂ türleri oluşması nedeniyle zaman zaman kendi total antioksidan korunma mekanizmasını

aşan oksidan stresle karşılaşmakta ve buna bağlı olarak doku hasarları oluşmaktadır (71-73).

Serbest oksijen radikallerinin iskemik, toksik, immunolojik kaynaklı böbrek harabiyetinde rol oynadığı birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (71,72,74,75). Deneysel böbrek iskemisinde, elektron transport zinciri, ksantin oksidaz gibi oksidan enzimler, fagositler, epinefrinin oto oksidasyonu ve araşidonik asit metabolitleri, serbest oksijen radikalleri (SOR)'nin kaynaklarını oluşturmaktadır (71-73,76). Bu radikaller hücre ve organel membranlarında lipit peroksidasyona neden olarak ve özellikle proksimal tübül segmentlerinde, tübül yapısını, hücre transport kapasitesini ve enerji üretimini bozarak etkilerini gösterirler (77-79).

Deneysel immün glomerülo nefritte SOR, PMNL ve monositler gibi kan kaynaklı infiltratif hücrelerden oluşurlar ve glomerül hücrelerine ve özellikle mezenşial hücrelere yerleşirler. Bunların oluşması, morfolojik lezyonların meydana gelmesine, proteazların aktive olmasına, proteoglikan sentezinin düşmesine ve bunlara bağlı olarak proteinlere karşı glomerüler permabilite artışının görülmesine neden olur (75,80,81).

Serbest oksijen radikalleri prostoglandin, tromboksan, trombosit aktivite edici faktör gibi vazokonstriktör biyoaktif lipitleri serbestleştirerek ve vazodilatör olan NO'ı inaktive ederek glomerüler kan akımı ve glomerül filtrasyon hızının düşmesini indüklerler (75,82).

Proksimal, distal ve toplayıcı segmentlerdeki böbrek tübüler hücrelerinin SOR ürettiği pek çok çalışmada gösterilmiştir (71,75-77,80).

Serbest radikallerin böbrek hasarındaki rolü glomerülo nefrit, nefrotik sendrom, akut böbrek yetmezliği, transplantasyon, toksik hasar, enfeksiyon, obstrüktif nefropati ve kronik böbrek yetmezliği gibi patolojiler deneysel modellerle *in vivo* hayvan deneyleriyle değerlendirilmiştir (73,77,81)

3.4.1. Glomerül hasarı

In vivo hayvan modellerinde glomerülo nefritin glomerüler kapillerinde immün kompleks formasyonunun ve kompleman aktivasyonunun PMNL, monosit ve makrofajları da içine alan kemik iliği kaynaklı inflamatuvar hücrelerinin infiltrasyonunu takiben olduğu bildirilmiştir. Bu hücreler glomerüler hemodinamik

yapıyı değiştirerek ve proteinüri gelişmesini sağlayarak glomerüler hasarı indüklerler. Bu patolojik gelişmeler SOR ile açıklanmaktadır. Bunlardan radikallerin sorumlu tutulmasının en önemli nedenlerinden biri, doku hasarının olduğu bölgede O_2^- , H_2O_2 ve HO^{\cdot} gibi SOR'nin gösterilmesidir (80,81,83,84).

Yine son yıllardaki birçok çalışma PMNL, monosit ve makrofajların glomerüllerde meydana gelen SOR'nin kaynağı olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, membranöz nefritteki proteinürinin patogenezesinden, kan kaynaklı hücrelerin sorumlu olmaması, glomerüllerde glomerül hücrelerinin kendilerinin SOR üretiminde potansiyel kaynak olabileceklerini düşündürmektedir. Bu hipotez kültürü yapılmış glomerül hücrelerinde insan kaynaklı mezenşimal hücrelerin SOR üretmeleriyle kanıtlanmıştır (74,80,81).

3.4.2. Nefrotoksik hasar

Gentamisin, adriamisin, merkürü kloid radyokontrast madde, sefalosporin, gliserol gibi nefrotoksik ajanlar, serbest radikalleri veya reaktif O_2 moleküllerini uyararak veya kendi antioksidan savunma mekanizmasını baskılayarak böbrek hasarı oluştururlar (73,79,85).

Gentamisinin, böbreklerde özellikle mitokondrilerde MDA miktarını arttırdığı ve bu etkisinin OH^{\cdot} tutucular ve desferoksamin ile geri döndürülebildiği gösterilmiştir. Merkürü klorid, radyokontrast maddeler ve sefalosporinin de lipid peroksidasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (73,79,85).

3.5. Böbreklerde Antioksidan Sistem

Böbreklerde intrinsek antioksidan enzimlerin fonksiyonu gösterilmiş; SOD (manganez ve çinko-bakır bağımlı formları), katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve hem oksijenaz gibi antioksidan enzimlerin hepsi böbreklerde tanımlanmıştır. Diğer hücreler gibi böbrek hücreleri de reaktif O_2 metabolitleri gibi biyolojik sitomuluslara endojen antioksidan enzimlerini arttırarak cevap verir (73).

Nath ve ark. iskemi-reperfüzyon modelinde selenyum ve vitamin E diyetinden yoksun bırakılan deney hayvanlarında, yapısal ve fonksiyonel böbrek hasarını göstermiş; ayrıca bu hayvanlarda yüksek MDA seviyeleri tespit ederek,

kontrollerde izlenmeyen mortalitenin diyetten yoksun bırakılan sıçanlarda %50 seviyelerine çıktığını göstermişlerdir. Böbrek dokusundaki antioksidan savunma sistemini ve önemi, antioksidan enzimlerin endojen ve eksojen uyarımlarla üretimlerinin artırılmasıyla ve eksikliklerinde çeşitli patolojilerin ortaya çıktığının gösterilmesi ile ortaya koymuşlardır (86).

Glutasyon peroksidaz aktivitesi için gerekli bir metal olan selenyumun diyetle alınmamasının, sıçan böbreklerinde yapısal ve fonksiyonel hasara yol açması böbrek hastalıklarında antioksidan enzimlerin önemini göstermesi açısından iyi bir deneysel model olmuştur (86).

Dietilkarbomat ve dietilmalat kullanılarak SOD ve GSH-Px üretiminin bloke edilmesi böbreklerde proteinüri ve böbrek fonksiyon kaybı oluşturarak doku hasarı meydana getirmiştir. Oksidan strese maruz kalan böbreklerde vazokonstriksiyon sık karşılaşılan bir bulgudur. Vazodilatör olan NO oksidan stres sonucu oluşan $O_2^{\cdot-}$ radikallerince yıkılır. Superoksid dismutaz enziminin $O_2^{\cdot-}$ radikalininin dismutasyona uğratarak indirekt olarak NO yıkılımını önlemesi, SOD enziminin böbreklerde önemli bir antioksidan enzim olduğunu düşündürmektedir (87).

Sıçan glomerüler mezansyal hücreleri H_2O_2 ile inkübe edildiklerinde Mn-SOD aktivitesinde artış tespit edilmiştir. Sıçanlarda izole edilen glomerüler hücreler iskemi-reperfüzyona maruz bırakıldıklarında total SOD, Mn-SOD, GSH-Px ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin tümünün arttığı gösterilmiştir (87).

Singh ve ark. böbrek dokusunda iskemi reperfüzyon gibi oksidan stres oluşturan durumlarda, transkripsiyonel ve translasyonel seviyelerde regüle edilebilen antioksidan enzimlerin, aktivitelerinin azalarak *down regulation* olduğunu bildirmişlerdir. Glukokortikoidlerin özellikle de metil prednizolon uygulamasının ise böbreklerde tüm antioksidan enzimleri arttırarak antioksidan sistem üzerine *up regulation* sağladığı belirtilmiştir (88).

OZON/ OKSİJEN KARIŞIMLARININ TIPTA KULLANIMININ TEMEL ÖZELLİK VE GEREKLİLİKLERİ

4.1. Ozonun Doğadaki Durumu ve Çalışma Alanında Azami Konsantrasyonu

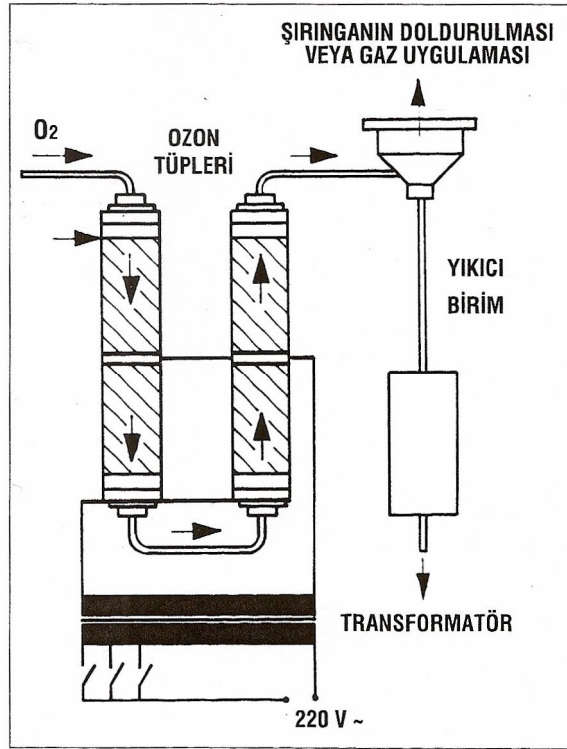
Ozon (O₃) üç oksijen atomundan oluşan renksiz, keskin kokulu stratosferde bulunan en önemli gazlardan biridir. Keşfinden sonraki ilk yıllarda dezenfeksiyon amacıyla kullanılırken yıllar içerisinde yapılan çalışmalar medikal kullanımını gündeme getirmiştir. Ozonun bu dezenfekte edici etkisi güçlü okside edici özelliğinden kaynaklanmaktadır. Sadece virüs ve bakterileri öldürmekle kalmaz tüm mikroorganizmalar ve toksinlerini de okside edebilir. Ozon ayrıca fenoller, pestisidleri, deterjanları, kimyasal atıkları ve aromatik bileşikler de etkili şekilde nötralize edebilir (89,90). Ozon kimyasal yapısı itibariyle radikal özelliği taşımamakla birlikte, florin ve persülfattan sonra bilinen üçüncü en güçlü oksidan maddedir (90).

4.2. Ozon Nasıl Elde Edilir?

Ozon oluşumunu gösteren tepkime aşağıda belirtilmiştir:



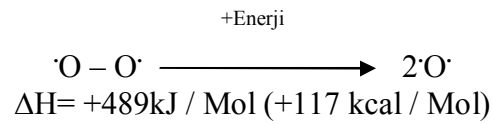
Düşük frekans voltajda plazmik deşarjlı tıbbi ozon jeneratörünün ilkesi resim 1'de açıklanmaktadır. Burada tıbbi ozon seri bağlanmış iki yüksek voltaj tüpünden geçmektedir. Tüpler de yaklaşık 4000 ile 9000 V arasında değişen voltaja bağlıdır. Enerji O₂ moleküllerinin oksijen atomlarına ayrışmasını sağlar. Atomlar var olan bir O₂ molekülüyle birleşerek O₃ ozon molekülünü oluşturur. Fazla veya kullanılmayan ozon katalitik yolla yeniden oksijene dönüştürülür (90).



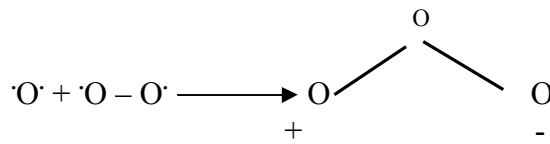
Resim 1. Bir tıbbi ozon jeneratörünün işleyiş ilkesi.

Bu işlem sırasında aşağıdaki basamaklar gerçekleşir (90):

1. Oksijen molekülünün bir parçası elektrik tabiki sonucunda ayrı oksijen atomlarına ayrışır:

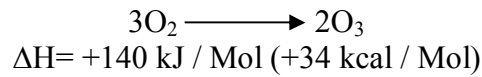


2. Enerji yüklü atomlar oksijen molekülüyle reaksiyona girer, enerjilerini yitirir ve ozonu (O_3) oluştururlar:



$$\Delta H = -105 \text{ kJ / Mol } (-25 \text{ kcal / Mol})$$

Veya



Ozon ayrıştığında toplam enerji ($\Delta H = + 140 \text{ kJ / Mol}$) bir kez daha ortaya çıkacaktır.

4.3. Tedavi Amaçlı Kullanımlar

4.3.1. Medikal ozon ve etki mekanizması

Ozon 1840 yılında Christian Friedrich Schönbein (1799-1868) tarafından keşfedilmiştir. Schönbein başlangıçta ozonun bir nitrojen bileşiği olduğunu düşünülüyordu. Ancak, daha sonraları ozonun farklı bir bileşik olduğunu belirleyerek “ozon” terimi yerine “ozonize oksijen” kavramını önerdi. Ozonun tıbbi amaçla kullanımının ilk olarak 1880 yılında Dr. John Harvey Kellogg tarafından gerçekleştirildiğini yazan kaynaklar bulunmakla birlikte, daha yaygın görüşe göre kabul edilen ilk tıbbi kullanımı Birinci Dünya Savaşı sırasında Alman askerlerinin kangren ve benzeri ciddi yaralanmalarını tedavi eden Dr. Albert Wolff’a dayanmaktadır. Dr. Erwin Payr (1871-1946) 1932’de geçirdiği bir hastalık nedeni ile kendi bedeninde ozon tedavisini denemiştir. Bilimsel bir toplantıda ozonun tedavi edici bir ajan olarak gündeme alındığı ilk önemli organizasyon ise 1935 yılında Berlin’de toplanan 59. Alman Cerrahi Birliği toplantısı olup, burada Dr. Erwin Payr “Cerrahi’de Ozon Uygulamaları” başlığı altında kendi vakalarından oluşan derleme türünde bir sunum yapmıştır. 1950 yılında E.A. Fisch (1899-1966) ozon tedavisini diş hekimliği alanında uygulamıştır. Laboratuvar ekipmanı için de ilk kez ozon kullanımı Fish tarafından gerçekleştirilmiştir. Joachim Hänsler (1908-1981) Hans Wolff ile birlikte 1972 yılında Tıbbi Ozon Derneği’ni kurmuştur. 1993 yılında bu kuruluşun adı “Hastalıkların Önlenmesi ve Tedavisinde Ozon Uygulamaları Tıp Derneği” olarak değiştirilmiştir. Bu tarihten sonra 80’li yıllara kadar, ozon tedavisini münferit olarak uygulayan çeşitli hekimler ve araştırmacılar bulunmaktadır. 1980’li yıllardan itibaren ise tıbbi amaçla ozon kullanımına yönelik bilimsel çalışmalar artmaya başlamıştır (90).

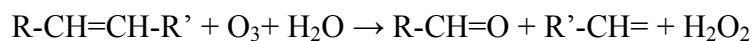
Ozon tedavisi belirli bir miktarda oksijen/ozon karışımının vücut boşluklarına ya da dolaşım sistemine uygulanmasıdır. Bu karışım intravenöz, intramuskuler, intraartiküler, intraplevral, intrarektal ve intradiskal uygulanabildiği gibi topikal de

uygulanabilir (90). Ozon tedavisinin klasik uygulaması haline gelmiş olan yöntem 1974 yılında Wolff tarafından tarif edilmiştir. Bu yöntemde bir miktar kan (50–270 ml) vücut dışına alınır ve ozona dayanıklı bir şişede 5-10 dakika oksijen/ozon karışımıyla temas ettikten sonra tekrar aynı kişiye geri verilir (ototransfüzyon) (90-92). Bu uygulama majör otohemoterapi (MAH) olarak adlandırılmaktadır.

Ozon reaktif bir molekül olduğu için tıbbi amaçlı kullanımı esnasında dikkat edilmesi gereken bazı durumlar vardır:

Ozon, hiçbir zaman saf olarak verilmemeli ve belli oranda oksijenle karıştırılarak uygulanmalıdır. Bu karışımda oksijen %95'ten az, ozon %5'ten fazla olmamalıdır. Normal atmosfer havasının bu karışıma girmesi engellenmelidir. Çünkü ozonun reaktif özelliğinden dolayı hava ile teması sonucu toksik bir gaz olan azot dioksit (NO₂) oluşabilmektedir. Ayrıca emboliye sebep olmaması için ozon gaz olarak damar sistemi içerisine verilmemelidir. Tüm işlemler sırasında ozona dayanıklı malzemenin (paslanmaz çelik, nötral cam ve teflon) kullanılması gerekmektedir (91,93).

Ozon diğer gazlar (O₂, CO₂) gibi suda çözünebilir. Oksijene göre 1,6 kat daha yoğun ve suda çözünürlüğü 10 kat daha fazla olan bir moleküldür. Saf suda diğer gazlar gibi Henry kanununa göre çözünür. Çözünmesi ısıya, basınca ve konsantrasyonuna bağlıdır. Biyolojik sıvılarda ise ozon oksijenden farklı olarak hızlıca biyomoleküller ile reaksiyona girer. Dolayısı ile MAH esnasında uygulanan ozon/oksijen karışımındaki ozon afinite sırasıyla çoklu doymamış yağ asitleriyle, antioksidanlarla ve sistein gibi sülfhidril (SH) grubu taşıyan tiyol bileşikleri ile reaksiyona girer. Ozonun miktarına bağlı olarak karbonhidratlar, proteinler (dolayısıyla da enzimler), DNA ve RNA da bu reaksiyondan etkilenebilir. Tüm bu bileşikler ozon karşısında elektron donörü gibi davranarak oksitlenirler. Sonuçta süperoksit (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hipoklorik asit (HOCl) gibi SOR oluşur. Bu reaksiyonlardan en önemlisi doymamış yağ asitlerinin oksidasyonudur (94). Ana reaksiyon aşağıdaki gibidir:



Bu reaksiyonda her bir hidrojen peroksit ile birlikte iki de lipid oksidasyon ürünü (*Lipid Oxidation Products* = LOP) oluşmaktadır (94). Lipit oksidasyon

ürünleri için iyi bilinen örnekler şunlardır; lipoperoksil radikalleri, hidroperoksitler, malondialdehit, izoprostan, alkenaller ve 4-hidroksi-2,3-trans nonenal (HNE) (94,95).

Sonuç olarak, ozonun biyolojik etkilerinin ortaya çıkması için serbest radikallerin varlığı önemlidir. Son zamanlara kadar oksidatif stresin hücre hasarındaki rolü ve hastalıkların altında yatan patolojik süreçlere etkileri konusuna odaklanılmıştı. Patolojik süreçlerde oksidatif stresin artış mekanizmaları ve etkilerini açıklayan yüzlerce çalışma yapılmıştır. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda ise oksidatif stresin bilinenin tersi etkilerinin de olabileceği görülmüştür. Bu çalışmalarda oksidasyon/redüksiyon (redox) reaksiyonlarının başta hücre içi haberleşme olmak üzere biyolojik mekanizmalarda rol aldığı gösterilmiştir. Artık açık olarak biliniyor ki gerek reaktif moleküller gerekse bunların çeşitli biyolojik moleküllerle reaksiyona girmesi sonucu ortaya çıkan oksidasyon ürünleri düşük konsantrasyonlarda (fizyolojik düzeylerde) hücrede önemli roller üstlenmektedir (94,95).

Ozonun biyolojik etkilerini açıklamak için yapılan çalışmalarda daha çok otohemoterapi (MAH) tedavisi model alınmıştır. MAH esnasında uygulanan ozon/oksijen karışımındaki ozon plazmada hızla çözünür. Daha önce bahsedildiği gibi sıvılardaki çözünürlüğü fazla olan ozonun bir kısmı plazmada bulunan antioksidanlar ile reaksiyona girerek bunların miktarlarını azaltır. Bu anlık olaylar sırasında çeşitli SOR de oluşabilmektedir. Bu radikallerin yarı ömrü çok kısa olduğu için, daha kan hastaya geri verilemeden, yani ototransfüzyondan önce bunlar ortadan kalkarak yerlerini lipid oksidasyon ürünlerine bırakırlar. Bu ürünler, büyük oranda eritrositlerin membranlarının oksidasyonu ile ortaya çıkar. Eritrosit membranındaki doymamış yağ asitleri oksidasyona çok duyarlıdır. Yukarıda formülünü de gösterdiğimiz üzere, bu reaksiyonlar sırasında ortaya çıkan hidrojen peroksit, molekül yapısı itibariyle radikal olmayan oksitleyici bir moleküldür (94,96,97).

Hidrojen peroksitin ozonun tedavi edici etkinliklerinin en azından bir kısmından sorumlu davrandığı kabul edilmektedir. İlk etkilerinden biri eritrositlerde 2,3-difosfogliserat düzeyini artırma yoluyla hemoglobin-oksijen ayrışma eğrisinin sağa kaymasına ve böylece oksijenin dokulara daha kolay bırakılmasına neden olmasıdır. Plazmada konsantrasyonu artan hidrojen peroksit kolayca hücrelerin içine

diffüze olarak; lökosit ve endotelial hücrelerde çeşitli interferon, interlökin ve transforme edici büyüme faktörü (TGF) yapımını da artıran uyarıları tetikler (98-100). Lipit oksidasyon ürünlerinin yarı ömürleri ise saatlere varabilmekte, dolayısıyla ömrü çok kısa olan SOR ilk etkileri sonrasında ozonun gecikmiş etkilerinden sorumlu tutulmaktadır. Uzun yarı ömürlerinden dolayı bu ürünler ototransfüzyon yoluyla dokulara ulaşarak buralarda çeşitli biyolojik etkiler gösterirler(98,100).

Otohemoterapi uygulaması yapılmadan önce kanın antikoagülan verilerek hazırlanması gerekir. Çünkü, ozon doza bağlı olarak trombosit fonksiyonlarının artışına neden olmaktadır. Trombosit fonksiyonlarındaki artışın bazı yararlı sonuçları da olmaktadır. Aktive olmuş trombositler içlerinde bulunan büyüme faktörlerini salarak iskemi ve ülserli hastalarda iyileşmeye olumlu katkı sağlar (93,101).

Ozonun konsantrasyonuna bağlı olarak (kuvvetli okside edici özelliği nedeniyle) belli bir orandan sonra vücut için de toksik etkisi olabileceği gerçeğini unutmamak gerekmektedir. Doğal olarak, organizmadaki antioksidan savunma sistemleri ozon oksidasyonuna karşı koyacaktır. Plazmanın sahip olduğu geniş antioksidan kapasite ve eritrositlerdeki antioksidan enzimler nedeniyle, kan ozon toksisitesine karşı en dirençli dokudur. Otohemoterapi uygulamaları sırasında plazmada çözünen ozonun burada bulunan antioksidanlar (bilirubin, askorbik asit, SH grubu taşıyan glutatyon ve albumin) ile reaksiyona girerek bunların konsantrasyonunu azaltmaktadır (96). Diğer taraftan, MAH sonucu ortaya çıkan SOR artışı ve antioksidanların azalması geçici bir durumdur. Bocci ve ark. yaptıkları çalışmada değişik dozlarda (20, 40, 60, 80 µg/ml) ozon uygulanmış kanlarda dozla doğru orantılı olarak glutatyon ve total antioksidan seviyesinde azalma, lipit peroksidasyonu ve okside glutatyon düzeyinde artma olduğunu göstermiş, uygulamanın 20 dakika sonrasında ise antioksidan düzeylerinin eski haline döndüğünü tespit etmişlerdir (102).

Otohemoterapi uygulaması sırasında tedavinin etkinliğini kanın toplam antioksidan gücü belirlemektedir. Kanın antioksidan kapasitesi düşük, ozonun konsantrasyonu fazla olursa şiddetli membran oksidasyonu sonucu eritrositler hemolize olur, tam tersi olduğunda ise ozondan beklenen SOR ve H₂O₂ yanıtı yeterli olmayabilir ve arzulanan terapötik etki görülemeyebilir. Ozon uygulamaları

sonucunda oluşması beklenen SOR ve lipit oksidasyon ürünlerinin terapötik etki gösterebilmesi için belli bir konsantrasyonda olması gerekir (97). Bu açıdan, kanda bulunan antioksidanların önemi yapılan bir çalışma ile gösterilmiştir (103). Bu çalışmada, eritrositler yıkanarak plazmadan uzaklaştırılmış ve değişik konsantrasyonlarda ozon uygulanmıştır. Yapılan değerlendirmelerde düşük (10-20 µg/ml) ozon konsantrasyonlarındaki uygulamalarda bile eritrositlerin çoğunda hemoliz olduğu görülmüştür. Yapılan bu ve benzer çalışmaların sonuçlarına dayanılarak, ozonun terapötik konsantrasyonu 10-80 µg/ml olarak belirlenmiştir (103). Bu ozon konsantrasyonu Rice-Evans'ın tarif ettiği total antioksidan kapasiteyi %25'ten fazla düşürmediği gibi azalan antioksidanlar 20 dakika sonra eski haline gelmektedir. (101,104).

Ozon uygulaması ile hem oksijenaz-1 (HO-1) enziminin de uyarıldığı bildirilmiştir. Bu enzimin artışından gerek SOR gerekse yukarıda sözü edilen ılımlı eritrosit hemolizi sorumlu olabilir. Hem oksijenaz-1 hem halkasının yıkım yolunda görev alan mikrozomal bir enzimdir ve yapımı oksidatif stres artışı, proinflamatuvar sitokinler ve NO ile uyarılabilmektedir. Bu enzim hem molekülünü biliverdin ve karbon monoksit (CO) parçalar. Son yıllarda HO-1 ile yapılmış birçok çalışmada bu enzimin; antioksidan antiapoptotik antiinflamatuvar etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Ozon uygulaması sonucu görülen en etkin HO-1 artışının aynı zamanda ozonun terapötik doz aralığı olarak da vurgulanan 20-80 µg/ml arasında ortaya çıktığı gösterilmiştir. Yine HO-1'in yanında ısı şok protein-70'in de arttığı belirtilmiştir (101).

Ozonun diğer bir uygulama şekli olan minör hemoterapide ise hastadan alınan 5 ml kan ile aynı miktarda 80-100 µl/ml konsantrasyonundaki oksijen/ozon karışımı bir dakika inkübe edilir. Bu süre zarfında ozonunun, yine aynı şekilde kanda önce çözünüp sonra da biyolojik moleküller ile reaksiyona girmesi beklenir. Sonrasında bu kan, gluteus kasına yavaşça enjekte edilir. Bu uygulama sonrasında kas içine enjekte edilen kanın doku derinliklerine ilerlerken pıhtılaşmasına rağmen hastalardan çok azı hafif şişme ve ağrıdan yakınmaktadır. Bu işlem esnasında anesteziye gerek yoktur. Tartışmalı olmakla birlikte, bu uygulamanın immünmodülatuar bir etkisinin olduğu iddia edilmekte ve etki mekanizması şu şekilde açıklanmaktadır: Enjeksiyon yerinde hafif derecede steril inflamasyon

meydana gelmekte, bölgeye nötrofil ve monositler gelerek denatüre proteinleri ve parçalanmış eritrositleri fagosite etmektedir. Eğer kan içinde HCV, HBV ve HIV gibi virüsler var ise ozon tarafından inaktive edilip parçalanmış bu virüs atıkları bölgeye gelen bu immün hücreler tarafından ortadan kaldırılır. Böylece bu işlem bir çeşit aşı etkisi yaratır ve immün sistemi bu antijenlere karşı uyarır (97).

4.3.2. Medikal ozon tedavisinin klinik uygulamaları ve endikasyonları

Ozon tedavisinin özellikle inflamatuvar sürecin yoğun olarak yaşandığı ve immün sistemin ön planda yer aldığı fizyopatolojik durumlarda tedavi edici etkisi şaşırtıcıdır. Ozon uygulamaları yara iyileşmesi, yaşa bağlı makuler dejenerasyon, iskemik ve enfeksiyöz hastalıklarda yapılan vaka analiz çalışmalarında olumlu etkiler göstermiştir. Bunun yanında basit diş ve ağız enfeksiyonlarından hepatitlere kadar uzanan geniş bir aralıktaki çeşitli enfeksiyon hastalıklarında etkin olarak uygulanmaktadır (105,106). Martinez-Sanchez ve ark. diyabetik ayak gelişmiş hastalarda yaptıkları çalışmada ozon tedavisinin etkinliğini değerlendirmişlerdir (107). Bu çalışmada ozon tedavisi uygulanan hastalarda antibiyotik tedavisi alanlara göre yara iyileşmesi hızlanmış, hastanede kalma süreleri kısalmış, glisemi düzeyleri daha iyi kontrol edilebilmiş ve antioksidan enzim düzeyleri artmış olarak bulunmuştur. Ayrıca çeşitli derecelerde artrit ve artroz vakaları ile romatizmal hastalıkları da kapsayan ortopedik hastalıklarda da faydalı etkiler rapor eden araştırmalar dikkat çekmektedir. Bir çalışmada lomber disk hernisi olan hastalara oksijen/ozon karışımı disk içine enjeksiyonla uygulanmıştır ve gerek hasta memnununiyeti gerekse medikal olarak yapılan değerlendirmede bu tedavinin yararlı olduğu görülmüştür (107). Tablo 3'te ozonun spesifik etkileri temelinde endikasyonları gösterilmektedir.

Tablo 3. Tıbbi ozonun spesifik (tıbbi ve fizyolojik) etkileri ve endikasyonları

Endikasyonlar	Etki mekanizması
Arteriyel dolaşım bozuklukları	Eritrosit metabolizması aktivasyonu O ₂ 'nin serbest kalma etkisi
Yüzeysel ülserler ve deri lezonları	Dezenfeksiyon Yara iyileştirme özelliği
Patolojik bağırsak sorunları (kolit, proktit, fistüller)	Dezenfeksiyon İmmüno-aktivasyon Anti-enflamatuar etki
Enfeksiyonlar ve virüs kaynaklı hastalıklar	İmmüno-modülasyon
Karsinojenik durumlarda ek tedavi	İmmüno-aktivasyon
Geriatrik sorunlar	O ₂ 'nin serbest kalma etkisi İmmüno-aktivasyon Enzim aktivasyonu
Romatizmal hastalıklar (enflamatuar durumlar, dejeneratif durumlar)	Anti-enflamatuar etki Anti-oksidatif kapasitenin aktivasyonu İmmüno-modülasyon
Diş hekimliği	Dezenfeksiyon Yara iyileştirme özelliği

4.3.3. Medikal ozon tedavisinin yan etki ve kontrendikasyonları

Ozon tedavisinin yan etkisi son derece azdır. Şimdiye kadar bildirilen yan etkiler uygulama hatalarına bağlı (uygun, ozona dayanıklı malzemelerin kullanılmaması, lokal uygulamalarda kuru yüzeylere uygulanması, yaraya uygun boyutlarda torba veya folyo kullanılmaması gibi) lokal komplikasyonlardır (108). Bazı durumlarda ozon terapisi uygulanması sakıncalı olabilir. Bu durumlar; G6PDH enzim eksikliği, özellikle erken dönem olmak üzere hamilelik, anjiotensin çevirici enzim (ACE) inhibitörü tedavisi görenler, hipertiroidi, kanama bozukluğu, kontrol altına alınamayan kardiyovasküler hastalıklar ve ozona reaksiyon gösteren astım hastaları olarak sıralanabilir (108).

Solunan havada artan O₃ konsantrasyonuna bağlı olarak arganizmada ortaya çıkan toksik durumlar tablo 4’de gösterilmiştir (108).

Tablo 4. Solunan havadaki ozon gazı konsantrasyonu ile artan toksik etkiler

Havadaki O ₃ konsantrasyonu (ppm)	Toksik etki
0,1	Üst hava yollarında irritasyon ve salgı artışı
1,0 – 2,0	Rinit, öksürük, baş ağrısı, bazen öğürme ve bulantı
2,0 – 5,0 (10 – 20 dk)	İlerleyici dispne, bronşiyal spazmi retrosternal ağrı
5,0 (60 dk)	Akut pulmoner ödem ve bazen respiratuvar paralizi
10,0	4 saat içinde ölüm
50,0	Dakikalar içinde ölüm

4.4. Medikal Ozon Uygulama Biçimleri ve Kullanım Alanları

4.4.1. Sistemik uygulama biçimleri

4.4.1.1. Ekstrakorporal kan tedavisi, Major Otohemoterapi (MAH)

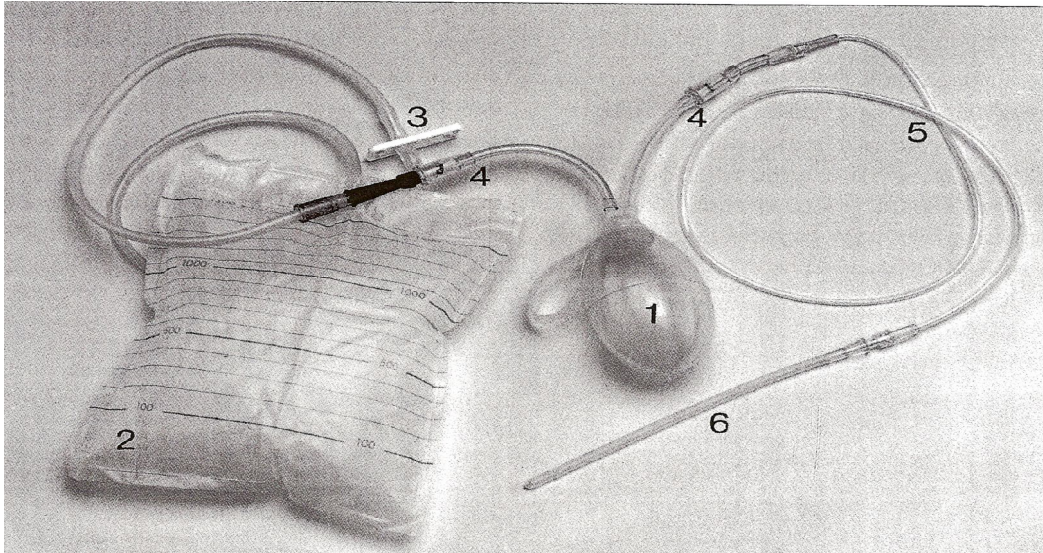
Son 10 yılda MAH düşük riskli ozon uygulamalarının en önemli biçimi haline gelmiştir. “Ozon+kan” reaksiyonu hastanın vücudu dışında gerçekleşmekte; bundan sonra hastanın “kendi kanı” aktif alyuvar hücreleri ile re-infüzyona sokulmakta ve immuno-kompetan hücreler aktive olmaktadır.

Bu tedavide ilke olarak yalnızca steril tek kullanımlık malzeme kullanılır. Uygulama kapalı, basıncı alınmış bir sistem içinde yapılır. Ozonla çalışırken hijyenik anlamda hatasız yöntem kullanılmasına ek olarak, her zaman özel ozona dirençli malzeme kullanılmalıdır. Hastanın 50-100 ml kanı alınır, organizma dışında tam olarak doğru dozda ozon ile zenginleştirilir. Ozon/oksijen karışımı, kandan son derece ince kabarcıklar biçiminde geçirilir. Ozon oksijenle neredeyse anında reaksiyona girerek sıvının üzerinde toplanırsa da reaksiyon ve reaksiyonla ortaya çıkan maddelerin herhangi bir etkisi olmaz. Kan daha sonra hastaya olağan biçimde, yani transfüzyon işlemlerinde tıbbi olarak önerilen hız olan dakikada 60-90 damla şeklinde verilir.

Major otohemoterapinin en önemli endikasyonları; arteriyel dolaşım bozuklukları, enfeksiyonlar, bağışıklık yetersizliğinden kaynaklanan hastalıklar, kanser hastalarının ek tedavisi, romatizmal hastalıklar ve eklem iltihaplarıdır (90,109,110).

4.4.1.2. Rektal O₂/O₃ insüflasyonu

En eski sistemik ve lokal uygulama yollarından biri, ozon gazının rektal uygulanmasıdır (89). Sistemik etkileri açısından MAH'ye gerçek bir alternatif oluşturmuştur. Bu yöntemle yaklaşık 10-12 insüflasyonluk bir dizinin uygulanmasını takiben MAH'ın sonuçlarına benzer bir metabolik değişim (ATP artışı ve 2,3-DPG) elde edilir. Rektal insüflasyon, katetere bağlı ozona dirençli şırınga yardımıyla veya bir ozon konteyneri ile silikon doz çantası kullanılarak gerçekleştirilir. Kural olarak 150-300 ml ozon/oksijen karışımı tatbik edilir. Kapatma musluğu bulunan konteyner doğrudan jeneratörden doldurulur ve doz çantasına bağlıdır. 150 ml hacmi olan doz çantası bir tüp sistemi aracılığıyla katetere de bağlıdır. Doz çantasına giden ve gelen her iki hat açılmayan musluklarla emniyet altına alınmıştır.



Resim 2. Belirli dozda O₂/O₃ karışımının rektal irigasyonu için kullanılan ekipman: (1) Doz balonu, (2) ozon rezerv konteyneri, (3) kapama musluğu, (4) açma musluğu, (5) bağlantı tüpü (Luer/Luer lock), (6) kateter (sonda)

Ampirik açıdan rektal insüflasyonun en fazla kanıtlanan endikasyonları; sistemik olarak MAH'de, özellikle de intravenöz reinfüzyonun damarların uygun olmaması nedeniyle uygulanamadığı yaşlı hastalar; topikal olarak bağırsaklarda proktit ve kolit gibi patolojik durumlar ve çocuklarda bir enfeksiyonun diğerini izlediği, bağışıklık sisteminde zaafiyet olan pediatrik enfeksiyonlardır (90,109).

4.4.1.3. Minör Otohemoterapi

Bier'e göre adale içine uygulanan bir otohemoterapi biçimi olan minör otohemoterapinin spesifik olmayan immüno-aktivatör olarak büyük değer taşıdığı gösterilmiştir. Ozona dirençli 30ml tek kullanımlık şırıngaya 10 ml ozon/oksijen karışımı doldurulur ve hastanın 3-5 ml kanına 20 µg/ml eklenir ve karıştırıldıktan sonra intramusküler olarak yeniden enjekte edilir. Temel endikasyonları alerjik vakalar, akne, fronkülozistir (90).

4.4.2. Topikal Uygulamalar

4.4.2.1. Düşük basınçlı ozon gazı uygulaması

Düşük basınç terimi normal atmosfer basıncının altındaki değerler için kullanılmaktadır. Lokal olarak sınırlı yaralarda, ozon gazının düşük atmosferik basınçta ve bir emme kabı altında sürekli akışının olumlu etkisi daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (90). Burada ozon/oksijen karışımı plastik kap biçimindeki cihazdan sürekli olarak tedavi edilecek bölgeye akıtılır. Bölge daha önce suyla ıslatılır, artık O₃ geri çekilir ve kataliz aracılığıyla yeniden O₂'ye dönüştürülür. Basınç hastanın kendisini en az rahatsız hissedeceği şekilde ayarlanır.

Basınç kişiye göre ayarlanabilir ve hastanın ihtiyaçlarını, lezyonun ciddiyetini esas alır. Uygulamanın özellikle dekübitis, radyasyon tahribatında ve fistüllerde yararlı olduğu bilinmektedir (90).

4.4.2.2. Ozona dirençli plastik kaplarda transkutanöz ozon imersiyonu

Varis ülserleri ve geniş alana yayılan enfekte olmuş yaraların tedavisinde ozona dirençli plastik çanta ve/veya torbaların kullanılması pratik olmaktadır. Hem çanta hem torbalara uygun bir bağlantı parçası ve açma/kapama muslukları takılmıştır. Yara işlem öncesinde bol suyla yıkanır. Plastik çanta yara üzerine dikkatle yerleştirilir. Bir bandaj yardımı ile gaz kaçağı önlenir. Hava, önce açma/kapama musluğu kullanılarak çantadan çıkarılır ve belirlenmiş konsantrasyondaki ozon/oksijen karışımı ile doldurulur. Ülser veya yara bölgesinin 15 dakika boyunca karışım ile temas etmesi yeterlidir. Kalan atık ozon katalizör kullanılarak oksijene dönüştürülür ve solunum yoluyla ilgili her türlü sorun elimine edilmiş olunur (90,109).

4.4.2.3. Ozonize su uygulaması

Ozonize su yeni veya yakın zamanda yapılmış cerrahi müdahaleler de dahil olmak üzere enfekte olmuş her türlü yaraya karşı topikal uygulama için endikedir. Ozonize su kompresler biçiminde uygulanabilir. Ozonize H₂O kompresleri, özellikle ödem oluşumu gibi enflamatuar süreçlerin başlangıç aşamalarında, hızlı ve önemli ölçüde ağrı gidericidir. Lokal O₃ uygulaması hücrel metabolizmayı aktive eder, ATP'de artış sağlar ve lezyonun en yakınında olupta henüz üremeye yatkınlığını koruyan hücrelerin yeniden polarize olmalarına katkıda bulunur (90,109).

Kural olarak ozonize su çift damıtılmış sudan taze olarak hazırlanır. Bu suyun ml'si azami 20 µg ozon absorbe eder, oda sıcaklığında yarı ömrü yaklaşık 10 saattir. Buzdolabında bu süre 5 güne çıkar, yani ozonize suyun evde kullanılması da mümkündür. Ozonize su tamamen güvenli bir maddedir. Pratik olarak herhangi bir gaz açığa çıkarmadığı için havaya ozon karışmaz. Bu tedavinin en önemli endikasyonları; yeni yaralar, enfekte yaralar, mantar enfeksiyonları, liken veya küfler, zona, herpes zoster, otitis ekstrenadır (110).

4.4.2.4. Topikal rektal insüflasyon

Sistemik etkisine ek olarak rektal ozon/oksijen gaz insüflasyonun lokal etkisinde kolit ve proktit tedavisinde önemli yer tutmaktadır (90).

4.4.2.5. İntraartiküler ozon enjeksiyonu

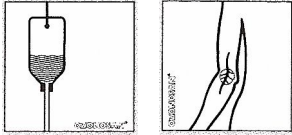
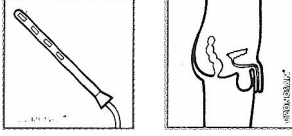
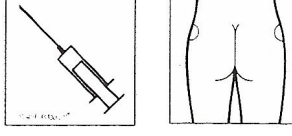
İntraartiküler ozon enjeksiyonunun başta diz ve omuz eklemleri olmak üzere akut ve kronik ağrılı eklem rahatsızlıklarında yararlı ve etkin olduğu kanıtlanmıştır. En önemli endikasyonları; gonartrozis, akut omuz eklemleri sorunu, kısmi sınırlı hareket fonksiyonu, kronik omuz eklemi hastalıkları, ağrılı hareketlerin tedavisidir (111).

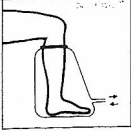
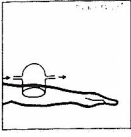
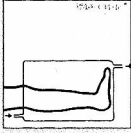
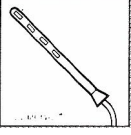

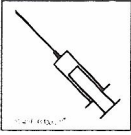
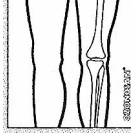
4.4.3. Ozonize edilmiş zeytinyağı

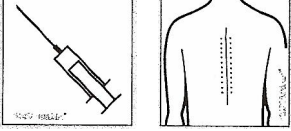
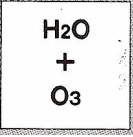
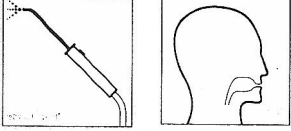

Doğrudan uygulanan ozonla karşılaştırıldığında, mantar ve bakteri öldürücü etkisi daha yavaştır. Mikroorganizmaların ozonize suda inaktivasyonu birkaç saniye alırken, ozonize zeytinyağında, içerdiği peroksidik ürünler nedeniyle aynı etki birkaç saat içinde gerçekleşir. Mantar ve bakteri öldürücü etkisi nedeniyle ozonize zeytinyağı başta yaygın fungoid/mikoid deri enfeksiyonları olmak üzere lezyonların lokal dezenfeksiyonu ve iyileştirilmesi için kullanılmaktadır (90,109).

Ozon tedavisinin uygulama biçimleri ve temel etki mekanizmaları tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Tıbbi ozonun endikasyonlarla bağlantılı uygulama biçimleri ve temel etki mekanizmaları

Uygulama	Endikasyon	Etki mekanizması
<p>1.Sistemik uygulamalar</p>  <p>Ekstra-korporal kan tedavisi ve hasta kanının intravenöz reinfüzyonu ile major otohemoterapi</p>	<p>Arteriyel dolaşım bozuklukları</p> <p>Enfeksiyonlar, immüno-aktivasyon, karsinoma hastalarında ek tedavi, geriatrik alan</p> <p>Romatizmal eklem iltihapları</p>	<p>- 2.3- DPG artışı ile alyuvar hücrelerinin aktivasyonu, ATP artışı, O₂'nin serbest kalması</p> <p>- İnterferon ve interlökinler gibi sitokinlerin serbest kalmasıyla immüno-kompetan hücrelerin aktivasyonu</p> <p>- INF-β, TGF-β artışıyla bağışıklık sisteminin modülasyonu</p> <p>- SOD, GSH-P_x, Catalase aktivasyonu ile antioksidatif kapasitenin artırılması</p>
 <p>Rectal O₃/O₂ insüflasyonu</p>	<p>Arteriyel dolaşım bozuklukları, genel immüno-aktivasyon, adjuvan kanser terapisi. Hepatit A,B,C.</p>	<p>Yukarıya bakınız.</p>
 <p>Ekstra-korporal kan tedavisi ve intramusküler enjeksiyonla minör otohemoterapi</p>	<p>Alerjiler, akne, fronkül tedavisi. Adjuvan kanser terapisi.</p>	<p>Bağışıklık sisteminin spesifik aktivasyonu söz konusu değil, genel stimülasyon.</p>

Uygulama	Endikasyon	Etki mekanizması
<p>2.Topikal uygulamalar</p>  <p>O₃'a dayanıklı plastik torba içinde trans-kutanöz gaz banyosu</p>   <p>Emme kabı veya plastik bot içinde alçak basınçlı uygulama</p>	<p>Ayak ülserleri, dermatozlar</p> <p>Dekübitis yaraları, diyabetik gangren, kötü yaralar, fistüller, radyasyon fistülleri, radyasyon hasarı</p>	<p>- mikrobisidal ozon etkisi; bakterisidal, fungusidal, virüs aktive etme etkisi</p> <p>- yara temizleme, - yara iyileştirme, - immüno-aktivasyon(TGF)</p>
  <p>Rectal O₃/O₂ insüflasyonu</p> <p>Vajinal insüflasyon</p>	<p>Proktit, kolit</p> <p>Candidal enfeksiyonlar</p>	<p>- anti-enflamatuar etki, - daha iyi O₂ temini - yara iyileştirme</p> <p>- fungusidal etki</p>
  <p>İntra-artiküler enjeksiyon (özellikle diz ve omuz)</p>	<p>Romatoid artrit, dizde iltahaplanma, gonartroz, travmatik diz bozuklukları</p>	<p>- anti-enflamatuar etki - SOD aktivasyonu - immüno-kompetan ve kıkırdak hücre aktivasyonu - TGF-β'nın serbest kalması</p>

 <p>Paravertebral ve intramüküler enjeksiyonların diğer tedavilerle birlikte kombine kullanımı</p>	<p>Myo-travmatik sendromlar, myogelosis</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Hücre metabolizmasının aktivasyonu, ATP artışı - Antioksidanların aktivasyonu
<p>Sprey veya kompres olarak ozonize su</p>  <p>Damla uygulaması</p>	<p>Taze yara lezyonları, yanıklar, mantar enfeksiyonlar, herpes</p> <p>Otitis</p>	<ul style="list-style-type: none"> - yara temizleme, - anti-enflamatuvar etki, - hücre metabolizmasının aktivasyonu, - immüno-aktivasyon(TGF)
 <p>Sprey veya yıkama suyu olarak ozonize su</p>	<p>Diş hekimliği; diş çekimlerinden sonra, bukkal enfeksiyonlarda (ör;candida), apseler</p>	<ul style="list-style-type: none"> - dezenfeksiyon, - yara temizleme,
	<p>Mantar enfeksiyonları, bakteri enfeksiyonları, yanıklar, deri lezyonları</p>	<ul style="list-style-type: none"> - fungusidal etki - bakterisidal etki, - yara temizleme

4.5. Tıbbi Ozonun Etkime Mekanizmaları

4.5.1. Bileşim ve etki

Hacim olarak %0,05-%5 oranında saf oksijen ve saf ozon karışımı olan 1-100 µg/ml konsantrasyon aralığındaki tıbbi ozon fizyolojik koşullarda yüksek derecede seçici reaktivite gösteren bir terapi ajanıdır. Ozonun tıbbi olarak uygulanabilen özellikleri şunlardır (90,109):

- a. Bakterisid, fungusit ve virostatik özelliği
- b. Elektrofilik bir molekül olarak seçici reaktivite özelliği ($\text{pH} \leq 7$)
- c. Oksidasyon ve reaktif oksijen türü

Lokal ozon uygulamasında ilke mikrop öldürücü ve yaraları iyileştirici özelliğinden faydalanılmasıdır. Lokal uygulamada (topikal etki) tıbbi ozonun etkileri aşağıdaki gibidir.

- a. Bakterisidal, fungusidal ve virostatik etki
- b. Yaraları hızlı ve etkin temizleme etkisi
- c. Yara iyileşmede gelişme ve hızlandırma etkisi .
- d. Etkin bir bağışıklık sistemi harekete geçirici etki (immuno-aktivatör)

Sistemik etkisi öncelikle hücrel metabolizmayı aktive etme yeteneğiyle hayata geçer. Bu etki mekanizması tablo 6'da gösterilmiştir (90).

Tablo 6. Tıbbi ozonun ekstra-korporal kan tedavisinde etkisi (sistemik etki)

Tıbbi ozonun ekstra-korporal kan tedavisinde etkisi (sistemik etki)	
Alyuvar hücreleri	İmmüno-kompetan hücreler
Reolojik özelliklerin gelişmesi	Mononükleer hücrelerin ılımlı aktivasyonu
Eritrosit metabolizmasının aktivasyonu, 2,3-DPG ve ATP artışı	Sitokinlerin salınması (IL-1,IL-2,INF- γ , TNF- α , TGF- β vb.)
Hb O ₂ /Hb dengesinin sağa kayması	
O ₂ salgısında gelişim	

4.5.2. Tıbbi Ozonun Reaksiyon Mekanizmaları

4.5.2.1. İyonik ve radikal mekanizmalar

Eşlik eden maddeye bağlı olarak O₃ farklı mekanizmalara göre değişik reaksiyonlar verir (90). Örneğin; ozonun molekül oksijen içinde çözülmesi ile sisteme bağlı yarı ömür değerleri gaz durumunda 55 dakika, su içinde çözülmesi ile

10 saat olur. pH değerleri 7.4'e ve altında iken doymamış yağ asitleri varlığında iyonik mekanizma ile parçalanan ozon radikal oluşturmaz, buna karşın, pH değeri 8 veya üzerinde ise alkali ortamda çok sayıda radikal reaksiyonlar ve bunların ürünü olarak zincir radikal reaksiyonlar gerçekleşir.

4.5.2.2. Ozon peroksitleri ve peroksitler

Ozonun sistemik uygulamasında tıbbi ozonun etkisiyle oluşan peroksitler ozonun hücrelerdeki etkisini gösterir. Antioksidatif enzimleri aktive etmek için düşük ozon veya peroksit konsantrasyonuna ihtiyaç vardır. Bu uyarı için optimal değer 20-60 µg/ml'dir. Diğer taraftan, 80 µg/ml üzerinde toksik etki başlamaktadır (101,112-114).

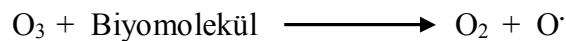
4.5.3. Ozonun etki mekanizması

Ozon temel etkisini şu mekanizmalar aracılığı ile gösterir (115-117):

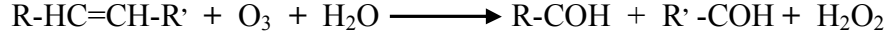
- 1) İskemik doku kan akımını ve eritrositlerde 2,3 difosfogliserat düzeyini artırmasına bağlı olarak oksijen salınımını sağlayarak
- 2) Kronik oksidatif strese bağlı antioksidan sistemin aktivasyonu ve HO-1 miktarını artırarak
- 3) İmmun sistemde aktivasyon sağlayarak
- 4) Nöroendokrin sistem aktivasyonu yaparak sonucu kendini iyi hissetme hali oluşturarak gösterir.

Aslında, ozon vücutta nötrofiller tarafından bakterisidal etki oluşturmak amaçlı immün sistemin bir parçası olarak kullanılan bir biyomoleküldür (118,119).

Ozon vücutta plazma, lenf sıvısı veya serum fizyolojik içerisindeki çeşitli biyomoleküller ile hemen reaksiyona girer ve tepkime sonucu moleküler oksijen ve reaktif oksijen atomuna dönüşür.



Dolayısıyla ozon vücut içerisinde hemen çözünerek farklı bir yapıya kavuşur. Ozonun kendisi toksik madde değildir ve etkisini ortaya çıkardığı radikaller üzerinden sağlar. Vücut içerisinde çoklu doymamış yağ asitleri ile kısa zaman içerisinde reaksiyona girer ve hidrojen peroksidi oluşturur (120).

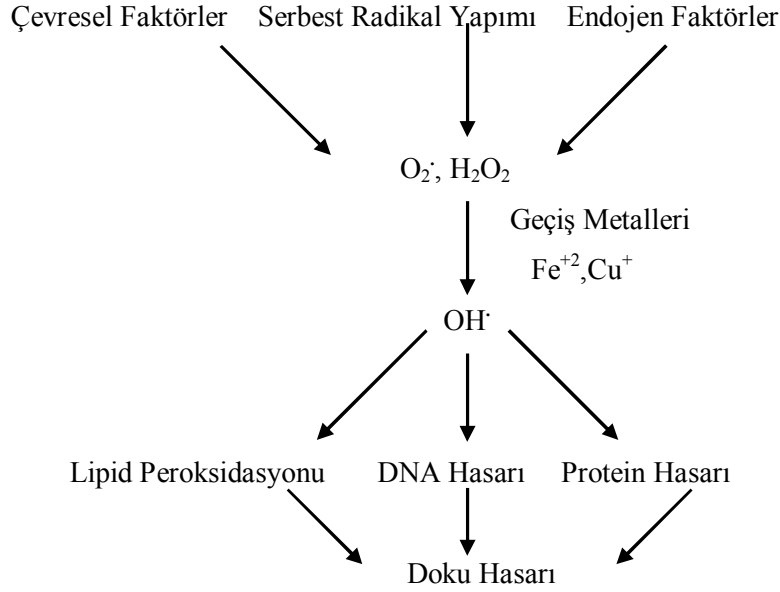


Hidrojen peroksit (H_2O_2) düzeyi ozon tedavisinin etkisini anlamada kritik bir role sahiptir. Hidrojen peroksitin kendisi serbest radikal olmamasına karşın, biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Diğer bir önemli işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır (117). Hidrojen peroksit sitokin salınımını artıran indüktörlerden en belirgin olanıdır (121). Organizmada H_2O_2 'nin yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmasına karşı savunma sistemi geliştirmiştir. Plazma yarı ömrü çok kısa olup (yaklaşık 2,5 dakika) glutatyon peroksidaz ve katalaz tarafından parçalanır (112).

4.6. Ozon ve Oksidatif Stres

Organizma vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan/antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar. Organizmada oksidatif strese neden olan radikal yapımı endojen ve çevresel faktörleri içeren çeşitli mekanizmalarla gerçekleşir. Endojen faktörler mitokondriyal sızıntı, solunumsal patlama, enzim reaksiyonları, otooksidasyon tepkimeleridir. Çevresel faktörlerin başlıcaları ise sigara dumanı, hava kirliliği, ultraviyole ışınları, iyonize radyasyon ve ksenobiotiklerdir (organizmanın normal metabolizması için gerekli olmayan yabancı kimyasal maddeler) (122).

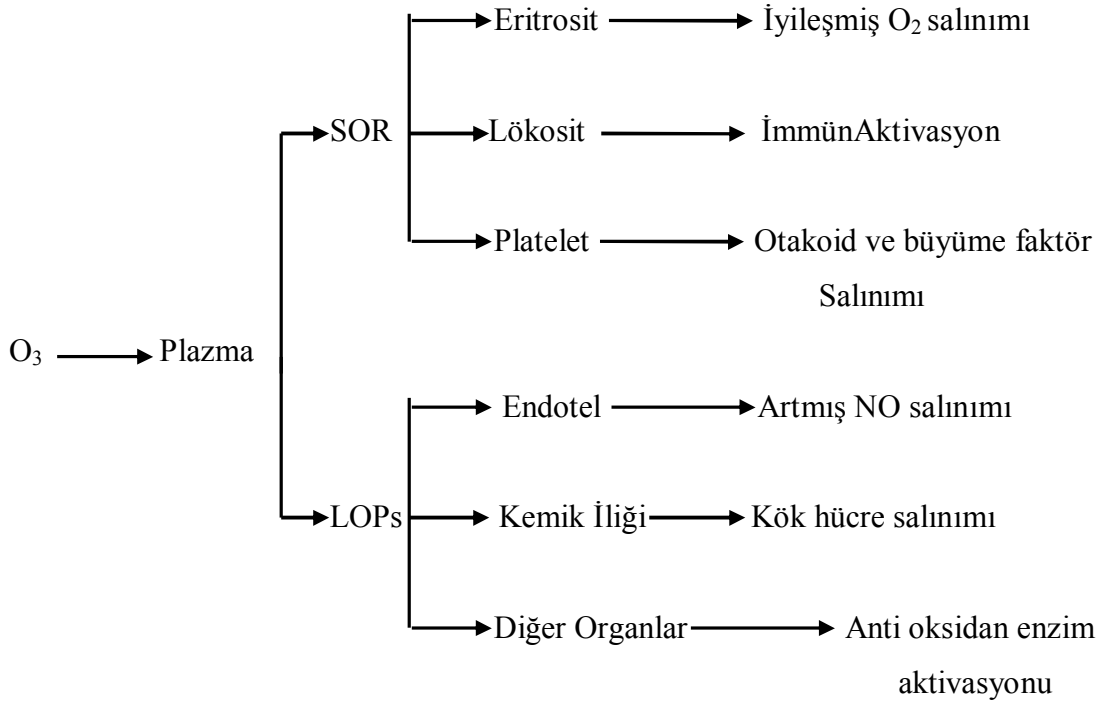
Çevresel bir faktör olarak ozon organizmada özellikle çoklu doymamış yağ asitleri, askorbik asit ve ürik asit, -SH grubu içeren tiol gruplarından sistein, redükte glutatyon ve albumin ile reaksiyona girer. Ozon dozuna bağlı olarak karbonhidratlar, enzimler, DNA ve RNA elektron vericileri olarak oksidasyona uğrarlar (Şekil 1).



Şekil 1. Serbest radikal hasarı

Ozonun etkisi ile oluşan SOR hücre membranını etkiler. Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücre, mitokondrial, nükleer ve endoplazmik zarlarda lipid peroksidasyonunu başlatırlar. Böylece kalsiyum kanalları açılır ve hücre içi enzim aktivasyonuna bağlı tepkimeler oluşmaya başlar (123). Bu tepkimeler geri dönüşümsüz olup hücre hasarına yol açarlar.

Ozon plazma ile temas ettikten sonra organizma içerisinde belirgin olarak SOR ve LOP adı altında iki adet kimyasal yapının oluşumunda rol alır. Bu maddeler vücut içerisinde kan hücreleri ile birlikte diğer organları hedef alıp, bu yapılar üzerinde kontrollü oksidatif stres oluşturarak fonksiyonları ve yapılarında değişikliğe yol açarlar (115,123) (Şekil 2).



Şekil 2. SOR ve LOP'un organizma içerisindeki etkileri

TAURİN

5.1. Taurinin Genel Özellikleri ve Sentezi

Taurin (2-amino ethane sülfonik asit; $C_2H_7NO_3S$); renksiz, suda eriyebilme özelliğine sahip, molekül ağırlığı 125,14 g/mol (dalton) olan nonesansiyel bir β amino asittir (124,125). Karboksil (COOH) grubu yerine sülfidril (SO_3H) grubunun bulunması sonucunda diğer aminoasitlerden ayrılmaktadır. İlk kez 1827 yılında Alman bilim adamları Friedrich Tiedemann ve Leopold Gmelin tarafından “*Bos Taurus*” olarak adlandırılmış ve öküz safrasından elde edilmiştir. Taurinin kimyasal yapısı “ $H-SO_3-CH_2-CH_2-NH_2$ ” şeklindedir (126-129).

Genellikle aminoasit olarak söylenmesine rağmen; karboksil grubu içermediğinden dolayı bilimsel literatürde aminoasit olarak nitelendirilmemekte, sülfatlı grup içerdiğinden dolayı aminosülfonikasit olarak adlandırılmaktadır. Taurin yüksek asidite taşır ve fizyolojik pH sınırında tam olarak iyonize halde bulunur. Tersine karboksilik gruplar bu aralıklarda noniyonize durumdadır. Bu “eş” iyonik özelliği ona düşük lipofilik nitelik kazandırmaktadır (130,131).

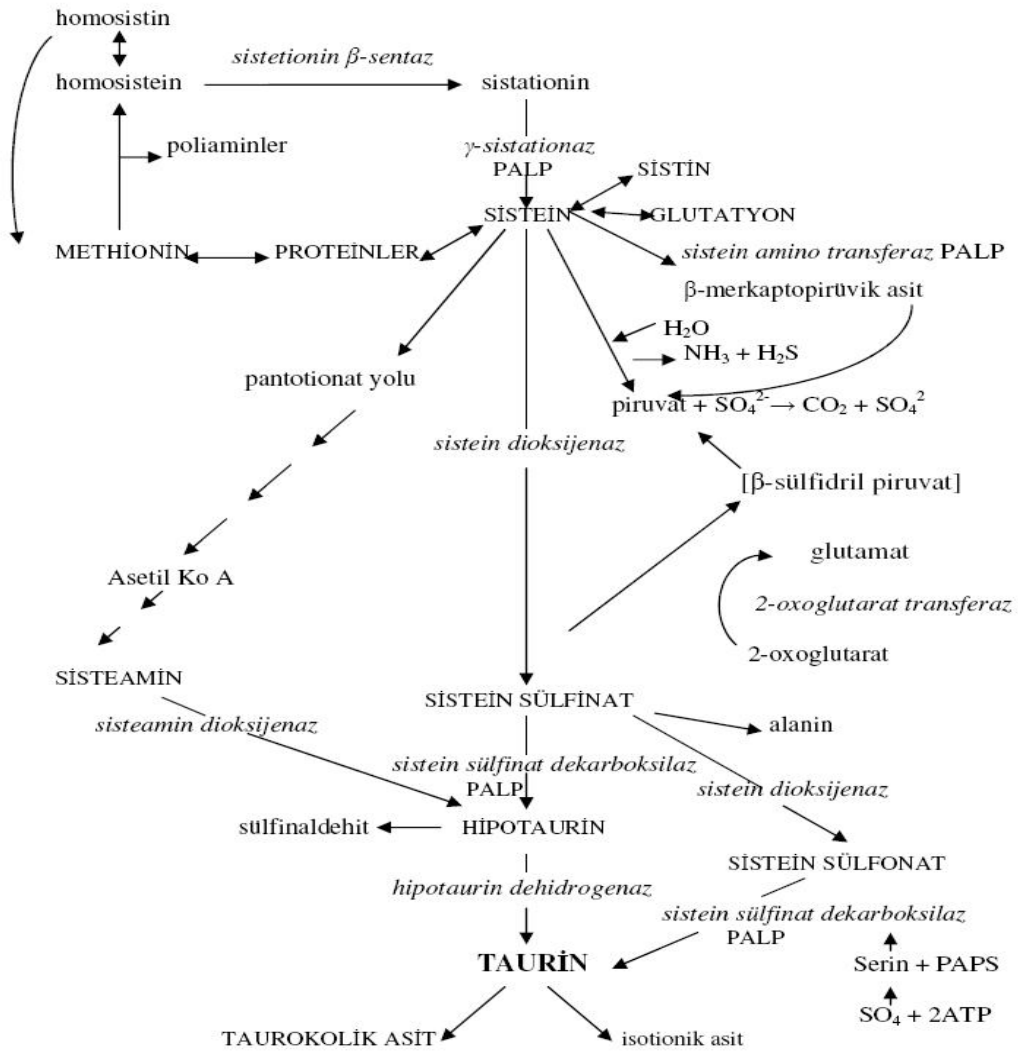
Taurin organizmada metionin, sistein gibi sülfür içeren aminoasitlerin metabolizmasından elde edilir (126,130). Organizmadaki taurin havuzu diyetle alınan kükürtlü aminoasitlerin endojen metabolizması ile belirlenir (132). Esas olarak beyin ve karaciğerde sentez edilmektedir.

Sentezinde üç metabolik yol izlenmektedir:

1. Sisteinin, sistein dioksijenaz tarafından sülfonata oksidasyonu ve daha sonra taurine dekarboksilasyonu (sistein sülfinat yolu).
2. Sisteinin sistein sülfonata oksidasyonu ve sistein sülfinat dekarboksilaz tarafından hipotaurine dekarboksilasyonu, hipotaurinin de hipotaurin dehidrojenaz yoluyla taurine oksidasyonu.
3. Sisteinin fosfopentotenat ile reaksiyonu (pantotionat yolu) sonucu sisteamin oluşumu ve bunun da hipotaurine oksidasyonu (Şekil 3) (132,133).

Taurin sentezinde görev alan tüm enzimler bir kofaktör olarak B6 vitamininin aktif koenzim formu olan pridoksal-5-fosfata gereksinim duyarlar. Bu nedenle B6 vitamini eksikliği endojen taurin düzeylerinde azalmaya sebep olur (131,134,135).

Sentezinde hız kısıtlayıcı enzimler, sisteinin sistein sülfirik asite oksidasyonunu sağlayan *Sistein Dioksijenaz (CDO)* ile sistein sülfirik asiti hipotaurine dönüştüren *Sistein Sülfirik Asit Dekarboksilaz (CSAD)*'dır. Bu iki enzim esas olarak karaciğerde lokalize olmuşlardır. Ancak; böbrek, testisler, beyinde glial hücreler (özellikle astrositler) gibi ekstrahepatik dokularda alternatif taurin sentez bölgeleri olarak tanımlanmışlardır (136-138).



Şekil 3. Taurin Biyosentez Yolu

5.2. Taurinin Taşınması

Taurin düşük lipofilik özelliktedir. Bu nedenle lipofilik membranlardan difüzyonu yavaştır. Tüm dokulara taşıyıcı proteinler (*Taurin Transporter*=(*TauT*) aracılığıyla aktif olarak taşınır. Bu proteinler 70 kDa molekül ağırlığında, 620 amino asitten oluşan, Na^+ ve Cl^- bağımlı taşıyıcıların yer aldığı geniş bir ailenin üyesidir ve taurine olan afiniteleri hücre tiplerine göre değişiklik gösterir. Bir taurin molekülünün hücre membranından taşınabilmesi için en az iki Na^+ ve bir Cl^- iyonuna gereksinim duyulur. Taurinin hücreye transportu Na^+ iyonu ile birlikte olup, her taurin molekülü transport edildiğinde 1-3 Na^+ hücre içine taşınır ve bu Na^+ , $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz pompası ile hücre dışına geri pompalanır (136,137,139).

Çeşitli *in vitro* çalışmalarda, taurin TNF- α ve NO uygulamalarının, TauT ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı kanıtlanmıştır. Renal epitelyal hücre hattı, plasental ve intestinal hücre hattı, astrosit kültürü ve beyin kapiller endotel hücrelerinde taurin uygulamasının, taurin taşınmasını ve/veya TauT mRNA düzeylerini azalttığı gösterilmiştir. TNF- α 'nın TauT ekspresyonundaki etkisini incelemek amacıyla beyin kapiller hücreleri ve insan intestinal hücre hattıyla yapılan çalışmalarda, TNF- α 'nın artan TauT mRNA'ları ile ilişkili olarak taurin taşınmasını arttırdığı gözlenmiştir. Bu sonuca göre, TauT geninin ekspresyonunun TNF- α tarafından aktive edildiği söylenebilir (137). Bridges ve ark. retinal pigment epitelyal hücre hattında NO donörlerinin taurin taşınmasını uyardığını bulmuşlardır. NO donörleri TauT geninin transkripsiyonunu aktive ederek TauT mRNA düzeylerini arttırmaktadırlar (125).

Taurinin biyolojik etkilerinin önemli bir bölümü hücrel konsantrasyonuna bağlıdır ve bu konsantrasyonun kontrol edilmesinde, taurin biyosentezinin yanı sıra ekstraselüler ortamdan taurin taşınmasını sağlayan TauT'lerin de büyük rolü bulunmaktadır (136,140).

5.3. Taurinin Metabolizması

Genelde deniz ürünü ya da et ile taurinin plazma seviyesi önemli ölçüde diyet kompozisyonuna bağlıdır. Vejeteryanlarda plazma seviyeleri omnivorlardaki

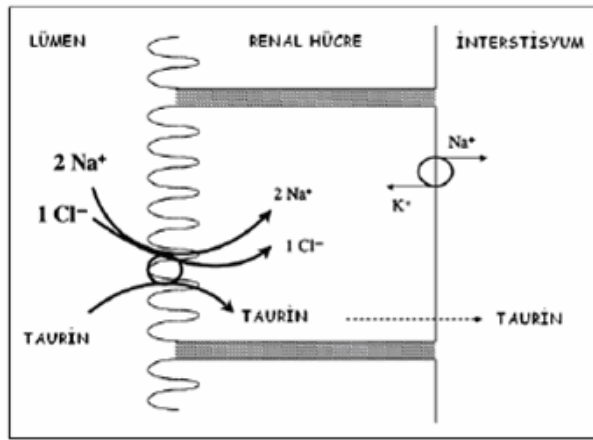
seviyelerinin yaklaşık %50'sidir (134,136). Günlük atılımın 10-250 mg olduğu tahmin edilmektedir. Ortalama 70 kg'lık bir insanda 70 gr taurin bulunur (132). Yarılanma ömrü serbest diyetle, visseral organlarda $8,7 \pm 2$ gün, taurinden zengin diyetle $4,8 \pm 2$ gündür (126). Yapılan araştırmalara göre anne sütünü de içine alan birkaç vücut sıvısında taurin önemli miktarlarda bulunmaktadır. Tersine bazı hazır besinlerde, inek sütünde çok az ya da hiç yoktur (134).

Türler ve hücreler arasındaki farklılıklara karşın, memeli hücrelerinde genellikle milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Retina, lökositler, trombositler, beyin, kalp, iskelet kası ve karaciğer gibi aşırı miktarda serbest radikal üreten ve sıklıkla oksidatif hasara maruz kalan dokularda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Ancak, plazma düşük miktarlarda taurin içermektedir. Santral sinir sistemindeki tüm hücreler taurin içerirler. Kalpte ise toplam aminoasit havuzunun %60'ını oluşturur. Memelilerde plazma, BOS ve ekstraselüler sıvılarda 10-100 μM konsantrasyonlarda bulunur. Retinadaki konsantrasyonu türler arasında değişiklik göstermesine karşın, yaklaşık 29 $\mu\text{mol/gr}$ doku kadardır ve özellikle fotoreseptör tabakada yoğun olarak bulunmaktadır. Pineal bez, hipofiz bezi gibi salgı yapan dokularda 60 $\mu\text{mol/gr}$ doku kadar yüksek konsantrasyonlardadır (134,139,141). Çeşitli dokulardaki taurin konsantrasyonları tablo 7'de gösterilmiştir (134) (Tablo 7).

Tablo 7. Çeşitli dokulardaki taurin konsantrasyonu

$\mu\text{mol/gr}$ doku		$\mu\text{mol/L}$	
Beyin	0,8-5,3	Safra	200
Kalp	6	Süt	337
Böbrek	1,4-1,8	Tükürük	16-65
Karaciğer	0,3-1,8	BOS	5-36
Akciğer	1-5		
Kas	2,2-5,4		
Dalak	11,4		
Retina	30-40		
Eritrositler	0,05-0,07		
Lökositler	20-35		
Trombositler	16-24		

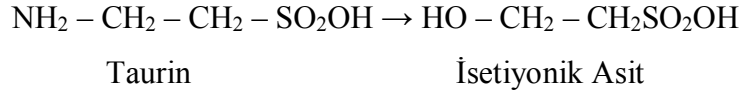
Atılımı idrar ve safra olmak üzere başlıca iki yolla gerçekleşir. Dokulardaki uygun taurin düzeylerini sürdürmek için atılımı ve yeniden absorpsiyonu böbrek tarafından sıkı bir şekilde denetlenmektedir. Taurin aynı zamanda insanlar için tek üriner aminoasittir ve %90-95'i geri emilmemektedir (134,138). Taurin glomerulde filtre edilir ve proksimal tübülün fırça kenar membranlarına yerleşmiş olan TauT'ler tarafından reabsorbe edilir. Organizmada birçok aminoasit %98-99 oranında reabsorbe edilirken, bu oran taurin için vücudun ihtiyaç durumuna göre %40-99,5 arasında değişmektedir (Resim 3) (142,143).



Resim 3. Taurinin proksimal tübül hücrelerinden taşınması

Günlük atılan taurin miktarı bireyden bireye ve bir birey için günden güne değişiklik gösterebilir. Bu miktar ortalama 0,22-1,85 mmol şeklinde belirlenmiştir. Genetik faktörler, yaş, cinsiyet, beslenme şekli, renal fonksiyon ve klinik şartlar gibi bazı faktörler bu oranı etkilemektedir (134). Böbrekte yapılan çalışmalar, renal tübül hücrelerinin taurin taşıma kapasitesinin, diyetle alınan miktarıyla ters ilişkili olduğunu göstermiştir. Diyetle sınırlı miktarda taurin alımını takiben reabsorpsiyonunun arttığı, aksine taurinden zengin diyeti takiben reabsorpsiyonunun azaldığı gözlenmiştir. Bu durum, böbrekte, taurin alımındaki değişikliklere karşı duyarlı bir renal adaptif yanıtın olduğunu düşündürmektedir (137,143).

Taurin, hayvanlarda hem barsaklarda bakteriler tarafından hem de kaslarda deaminasyon sonucu isetiyonik aside (2-hidroksietansülfonik asit) çevrilir ve vücuttan idrar yolu ile atılır (Şekil 4) (134).



Şekil 4. Taurinin vücuttan atılım ürünü

5.4. Taurinin Organizmadaki Fonksiyonel Önemi

Organizmadaki fonksiyonları ilk defa Jacobsen ve Smith tarafından tanımlanmış ve safra asit sentezinde sınırlayıcı, osmoregülatör, enerji verici ve santral sinir sisteminde nöroinhibitör etkili olduğu gösterilmiştir (127).

Günümüzde taurinin organizmada pek çok önemli fonksiyonu olduğu bilinmektedir (126). Bunlar arasında hücre membran stabilizasyonu, safra tuzunun oluşumu, antioksidasyon, kalsiyum homeostazisi, detoksifikasyon, ozmoregülasyon, nöromodulasyon, beyin ve retinal gelişim gibi fonksiyonlar bulunmaktadır. Normal gelişim için gerekli olan taurin eksikliğinde büyümede, doku farklılaşmasında ve immun gelişimde bazı sorunların ortaya çıktığı bildirilmiştir (134,135,137,143). Taurinin organizmadaki etkileri tablo 8’de verilmiştir.

Safra asit konjugasyonu için düşük miktarlarda taurine ihtiyaç vardır. Taurinin veriliş dozu artınca idrarla atılımı da artar. Diyetteki taurin artışı, kas harabiyeti, radyasyon ve kortikosteroid uygulaması hipertaurinemiye neden olan etkenlerdir. Ancak, taurinin idrarla atılımı artsa bile kas, beyin, karaciğer, kalp gibi dokularda taurin miktarı değişmemektedir (132).

Taurin endokrin pankreas gelişiminde önemli olduğu, pankreatik B hücrelerinde sitokinin uyardığı apoptozu azalttığı, ayrıca bu hücreler üzerinde mitojenik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Kalpte insülin reseptörleri ile etkileşerek glikoz ve glikojen metabolizmasını değiştirdiği de gösterilmiştir (130,131). Yüksek konsantrasyonlarda beyin gelişimi için önemlidir.

Tablo 8. Taurinin çeşitli sistemlere etkisi

Kardiyovasküler Sistem	Antiaritmik Düşük Ca^{+2} düzeylerinde pozitif inotropik Yüksek Ca^{+2} düzeylerinde negatif inotropik Dijitallerin pozitif inotropik etkisinin güçlendirilmesi Hipotansif etki (merkezi ve periferel) Aşırı Ca^{+2} yüklenmesi kardiyomiyopatisinde koruyucu Agrege trombosit direncini artırma
Santral Sinir Sistemi	Antikonvülzan Nöronal uyarılabilirliğin korunması Serebellar fonksiyonların korunması Termoregülasyon Antiagresif etki Kardiyorespiratuvar cevapların merkezi düzenlenmesi Öğrenme Motor davranış değişikliği Uyku süresini değiştirme Antitremor etki Yeme ve içmenin baskılanması Anoksi ve hipoksiye direnç
Retina	Fotoreseptör dış segment ve tapetum lucidumun yapı ve fonksiyonlarının korunması
Karaciğer	Safra tuzu sentezi
Reproduktif Sistem	Sperm motilitesinin korunması
Kas	Membran stabilizasyonu
Genel Etkiler	Nörotransmitter ve hormon salınımının düzenlenmesi Osmoregülasyon Glikoliz ve glikoneogenezin stimülasyonu Hiperkolesteroleminin azaltılması Hücre proliferasyonu Antioksidan özellik Fosforilasyonun düzenlenmesi Ksenobiyotiklerin konjugasyonu

5.5. Taurinin Organizmadaki Genel Etkileri

5.5.1. Taurinin membran stabilize edici fonksiyonu

Hayes ve ark. taurin eksikliği olan kedilerde fotoreseptör hücrelerinde bozukluklar olduğunu göstermişlerdir (144). Yapılan çalışmalarda taurinin kurbağa retinasında oksidanlara karşı koruyucu olduğu, tavşan spermatozoalarında lipid peroksidasyonunu önleyerek antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir (126,127). Aynı zamanda karbontetraklorüre (CCl₄) karşı karaciğer hücrelerini koruyucu etkisi olduğu gösterilmiş, iskelet kası harabiyetine karşı eksternal koruyucu bir ajan olduğu da ileri sürülmüştür (126,127).

Membran stabilize edici fonksiyonu lenfoblastik hücre kültürlerinde çalışılmış ve bu hücreleri demir-askorbat ile oluşturulan hasardan koruduğu gösterilmiştir (126). Bu etkisini amin grubu ile zararlı ajanlarla reaksiyona girip, bunları detoksifiye ederek ve hücre sel harabiyet ve ölüme neden olan iyon ve su geçirgenliğinin direkt etkilerini önleyerek gerçekleştirir (126,127).

5.5.2. Taurinin hücre Ca⁺² homeostasisi üzerine etkisi

Kalsiyum modülatör etkisini, Ca⁺² iyonuna hassas olan sistemlere Ca⁺² sağlanmasındaki değişimlerle veya Ca⁺²a olan hassasiyeti değiştirerek gösterir. Sinyal şiddeti değişikçe sitozolik Ca⁺² miktarında da değişiklikler oluşur. Cevabın şiddetinin değişikliği ise Ca⁺² bağlayan troponin, kalmodulin, Ca⁺² bağlayan miyozin ATPaz ve diğer Ca⁺² bağımlı ATPaz'ların afinitesinin değişmesine neden olur. Taurin, sarkoplazmik retikulum, mitokondri ve diğer organellerin Ca⁺² depolama kapasitesini artırır ve Ca⁺²a bağımlı ATPaz pompalarının pompalama hızını stimüle ederek Ca⁺² un veziküllere depolanma kapasitesini ve pompanın turnover hızını artırır(126).

İskelet kasında da Ca⁺² akışının regülasyonunda taurinin rol oynadığı bildirilmiştir (126). Bu membran stabilize edici etkisi sarkoplazmik retikulumu denervasyona bağlı hasardan korur ve sarkoplazmik retikulumun Ca⁺²-ATPaz aktivitesini hızlandırarak Ca⁺² transport kaybı hızını azaltır (144,145).

5.5.3. Taurinin lipit metabolizması üzerine etkisi

Önemli fizyolojik rollerinden biri fosfolipit metabolizması üzerindeki modülatör etkisidir. Huxtable ve ark. taurinin primer etkileşiminin nötral fosfolipitlerle olduğunu bildirmişlerdir (130,149). Taurinin protein kinaz C aktivasyonu için gerekli diaçilgliserol miktarını etkileyerek; bu reaksiyonun diğer ürünü olan IP₃ ve intrasellüler Ca⁺² salınımını kontrol edebildiği de bildirilmektedir (145).

Taurinin etkilediği diğer bir fosfolipit metabolizması ise fosfatidiletanolaminin metilasyonu reaksiyonudur. Taurin kimyasal yapısı itibariyle, fosfatidiletanolaminin yüklü baş gruplarına benzer ve bundan dolayı seçilen katabolik bölgeye bağlanabilir. Bu da metilasyon reaksiyonunu kompetitif inhibisyonla sonuçlandırır. Yani sarkolemmal fosfolipit metiltransferaz enzim aktivitesini inhibe eder. Fosfatidiletanolamini, fosfotidilkoline çeviren bu enzim Na⁺-Ca⁺² alışveriş sisteminden etkilenir. Böylece bu metilasyon reaksiyonu inhibe edilerek Na⁺-Ca⁺² alışveriş sisteminin aktivitesi korunur (126,146). Fosfatidiletanolamin membrana Ca⁺² bağlanmasında etkili fosfolipitlerden biridir. Taurinin azalması halinde bu fosfolipitin de azalması ile nöronal membranda destabilizasyon meydana gelebileceği ileri sürülmektedir (146,147).

5.5.4. Endokrin ve metabolik etkileri

Taurin pankreas β-hücrelerinde insülin reseptörlerinin uyarılması yoluyla kan glukoz ve insülin seviyelerini etkilemektedir. Yüksek fruktoz diyeti ile beslenerek tip 2 diyabetin karakteristik insüline dirençli modeli oluşturulan ratlarda, taurinin, insülin direncini ve serum glukoz konsantrasyonunu azalttığı kanıtlanmıştır (134,135,138).

5.5.5. Kardiyovasküler etkileri

Kalpdeki serbest aminoasitlerin yaklaşık %60'ını oluşturan taurinin, kalbi nötrofillerin indüklediği reperfüzyon hasarından ve oksidatif stresten koruduğu

kanıtlanmıştır. Hücre içi Ca^{+2} seviyesini düzenlemek suretiyle, hücre ölümüne ve miyokardiyal hasara sebep olabilecek Ca^{+2} düzensizliğine karşı kalp kasını korur. Kan basıncının düşürülmesinde etkilidir. Aynı zamanda yapısal nitrik oksit sentaz (cNOS) ekspresyonunu düzenleyerek endotel koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (134,142,148,149).

5.5.6. SSS üzerine etkileri

SSS'de ve beyin gelişimi esnasında hücre göçünü etkilediği, sinirsel iletimi düzenlediği ve beyin gelişimini hızlandırdığı bildirilmiştir. Eksikliğinin, epilepsi ve Alzheimer hastalıklarıyla ilişkili olabileceğine dair çalışmalar bulunmaktadır. Alzheimer hastalarında nörotransmitter asetilkolin düzeyleri düşüktür ve BOS'taki taurin miktarı azalmıştır. Hayvan modellerinde taurin uygulamasının, beyin dokusundaki asetilkolin seviyesini arttırdığı ve bu sayede Alzheimer hastalığının tedavisinde yararlı olabileceği rapor edilmiştir (134,135,150,151). Ancak, Alzheimer hastalığının tedavisinde kullanıldığını belirten bir literatür bulunmamaktadır

5.5.7. Taurin ve retina

Taurin, omurgalıların retinalarında bulunan en yaygın amino asittir ve normal görüş için mutlaka gereklidir. Retinal osmotik basıncı düzenler, membran stabilizasyonunu artırır, lipid peroksidasyonunu önleyerek antioksidan etki gösterir. Kedilerde, esansiyel bir aminoasittir ve eksikliğinde koni reseptör hücrelerinde daimi hasara neden olur ve olası körlük sebebidir. Primatların, özellikle genç bireylerinde taurin eksikliğinin retinal lezyonlara ve fotoreseptörlerde dejeneratif yapısal değişikliklere sebep olduğu rapor edilmiştir (134,135). Retinal rod dış segmentlerinin membranları doymamış yağ asitlerinden zengin ve peroksidatif hasara karşı korumasızdır. Taurin rod dış segmentlerinin fonksiyonları üzerine koruyucu etki gösterir (141).

5.5.8. Detoksifikasyon

Karbon tetraklorür ile indüklenmiş karaciğer mikrozomlarındaki MDA yapımını azalttığı, ksenobiyotikleri konjuge ederek çözünürlüklerini arttırdığı ve idrarla atılmalarını kolaylaştırdığı, pnömotoksik maddelere bağlı sekonder olarak akciğerde gelişen lipit peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (131,134,135).

5.6. Taurinin Antioksidan Özelliği

In vivo ve/ veya *in vitro* şartlarda antioksidan olarak davrandığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (126,127,152). Taurin ve öncüllerinin özellikle oksidatif hasara maruz kalan dokularda bol bulunduğu dikkat çekicidir.

Güçlü bir oksidan olan hipokloröz asit (HOCl) nötrofillerin aktiviteleri sırasında primer lizozomal granüllerinde yer alan bir hem enzimi olan myeloperoksidaz (MPO) enziminin solunumsal patlama zincirinin son aşamasında H₂O₂ ile Cl⁻ iyonu arasındaki reaksiyonu katalizlemesiyle oluşmaktadır (126,127,153).

MPO-H₂O₂-Cl⁻ sistemi tarafından üretilen HOCl, PMNL'nin başlıca oksidantı olup, TNF- α , IL-2, IL-6 gibi sitokinlerin ve çeşitli büyüme faktörlerinin sentez ve salınımını uyarır. Aynı zamanda, aminlerle (-NH₂) ve sülfhidril gruplarıyla (-SH) çok hızlı reaksiyona girebilme özelliği sayesinde mikroorganizma membranlarının -NH₂ ve -SH gruplarını okside ederek, denatürasyonuna sebep olur. Bununla birlikte, HOCl'nin oluşumu dokular için hem yararlı hem de zararlı bir olaydır. Çünkü, HOCl'nin toksisitesi sadece mikroorganizma membranları ile sınırlı değildir ve konak dokuda inflamatuvar hücrelerin aktivasyonunu takiben oluşan hasarda önemli bir rol oynamaktadır. Hipoklorit asit karbonhidratları, nükleik asitleri, peptit ve aminoasitleri direk oksitleyebilir ve aminlerle reaksiyonu sonucu *N*-kloraminler olarak adlandırılan sekonder klorlayıcı ajanların oluşumuna sebep olur. Bir mol HOCl anyonu ile 1 mol taurin reaksiyona girerek, taurinin amin grubunun 1 veya 2 Cl⁻ iyonu kazanmasıyla, N-Klorotaurini oluşturur. Bu bileşiğin yarılanma ömrü 2,5 gündür. N- kloraminler, HOCl'ye göre daha az reaktif ve daha uzun ömürlü

oksidanlardır. Ancak, stabil olmadığı için kolaylıkla deamine ve/veya dekarboksile olarak toksik aldehytleri oluşturabilirler.

N-Klorotaurin, β -aminoasit yapısına sahip olması nedeniyle N-kloraminler içinde en stabil olanıdır ve HOCl ile reaksiyonu esnasında diğer aminlerde olduğu gibi toksik aldehytler oluşmaz (126,127,154). N-Klorotaurinin ekstrasellüler ortamdan anyon transport sistemi ile eritrosit içine transport edildiğini göstermişlerdir. N-Klorotaurin ise eritrosit içinde glutatyon ile indirgenmektedir (153-155).

Taurinin HOCl ile oluşturulan korneal hasarın iyileştirilmesinde etkili olduğu bilinmektedir. Bu bilgiler taurinin biyolojik sistemlerde HOCl temizleyicisi olduğunu desteklemektedir (127,156). Taurinin, hipoksi ve reoksijenasyonda serbest radikallere karşı kalp kasını ve beyni koruduğu ileri sürülmektedir. Bu etki taurinin intrasellüler rollerinden biri olarak, membran lipit peroksidasyonunu engellemesi ile ortaya çıkar (157-159). Hipoksi ve reperfüzyonda beyinde, tiyol içeren aminoasitlerin ve sistein ve sisteamin gibi aminlerin artışı sonucu taurinin de arttığı gösterilmektedir. Reperfüzyondan sonra bu maddelerin oksijenden türeyen serbest radikallerle okside olarak taurinin oluşturduğu tespit edilmiştir (151).

5.7. Diğer Etkileri

Taurin, postiskemik dokuda sadece serbest radikal düzeylerini azaltmakla kalmayıp; aynı zamanda hücreye Ca^{+2} girişini engelleyerek, lipit peroksidasyon oluşumunu ve membran fonksiyonlarının bozulmasını da engellemektedir (127,151).

Doksorubisin gibi antikanser ilaçların kalpte lipit peroksidasyonunu artırıcı etkilerini önlemektedir (147).

Ayrıca, indirek antioksidan etkileri de bulunmaktadır. Hemosisteinin neden olduğu endoplazmik retikulum stresini iyileştirerek süperoksit dismutazın ekstrasellüler ekspresyonu ve salınımını düzenler. Ateroskleroz dahil inflamasyonun neden olduğu doku hasarına karşı koruyucudur. Antiinflamatuvar etkisi taukloramine bağlıdır. Taukloramin bazı gen ürünlerinin ekspresyonunu azaltarak düzenler. Taurin-taurinkloramin sisteminin antiinflamatuvar etkisi kardiyovasküler hastalıkların ve hipergliseminin uyardığı hasarı önlemede önemli olmaktadır. Diğer taraftan,

taurinin yanısıra onun metabolik öncüleri olan sisteik asit, sistein sülfirik asit ve sisteaminin de *in vivo* antioksidan olarak rol aldığı ve oksijen radikal türlerini inaktive ettiği gösterilmiştir (160).

Taurin ve hipotaurin dişilerde foliküller ve uterusu, erkek üreme sisteminde ise spermatozoa, özellikle semen sıvısı ve prostatta yüksek konsantrasyonlarda bulunur (157). Memeli spermi glutatyon redüktaz ve katalazdan yoksundur. Oysa spermde taurin ve hipotaurin oldukça yüksek düzeydedir. Bilindiği gibi süperoksit sperm için oldukça toksiktir ve lipit peroksidasyonuna ile motilitenin azalmasına yol açar. Böylece taurin ve hipotaurin aracılığıyla sperm motilitesi korunmuş olmaktadır. Bu nedenle, taurin ve hipotaurin farelerde “sperm motilize edici faktör” olarak kabul edilmektedir. Diğer taraftan taurin insan sperm akrozomlarında bulunan majör aminoasitlerden biridir (160).

Ca⁺² homeostazını sağlaması yoluyla nötrofillerde, Fas (CD95/APO1) aracılı apoptozu inhibe ettiği kanıtlanmıştır (131).

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, endotoksinlerin intestinal translokasyonlarını belirgin şekilde inhibe ettiği ve hayvanları endotoksemik hasardan koruduğu bulunmuştur (135).

Yağda çözünen A, D, E, K ve F vitaminlerinin biyoyararlanımını artırır. Bu fonksiyonunu, vitaminlerin suda çözünebilen, kolay hidroliz olan farklı tiplerini oluşturmak ve taşınmalarını kolaylaştırmak yoluyla gerçekleştirdiği ileri sürülmektedir (142,161).

Sonuç olarak; taurinin biyolojik sistemler üzerindeki antioksidan ve membran stabilizatör etkisi aşağıdaki gibi özetlenebilir:

1) Taurin HOCl ile reaksiyona girerek HOCl'i temizler. Böylece membran denatürasyonunu önler.

2) Membran stabilize edici etkisi ile membranı permeabilite ve transport değişikliklerine karşı korur.

3) Direkt antioksidan etkisi ile membran fosfolipitleriyle etkileşerek, lipit peroksidasyonunu engeller. Lipit peroksidasyonunun son ürünü ve göstergesi olan MDA düzeyini azaltır.

4) Taurinin aynı zamanda sulfonik asit grubuyla, serbest metal iyonları ve oksidan metallerle bağlanarak indirekt bir antioksidan etki de yaratabildiği bildirilmektedir.

GEREÇ VE YÖNTEM

6.1. Denekler

Bu deneysel çalışma Kırıkkale Üniversitesi Deney Hayvanları Lokal Etik Kurul Başkanlığı'nın 14.04.2010 tarih ve 10/31 sayılı onayı ve Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nin 11.06.2010 tarih ve 2010/18 sayılı proje desteği ile gerçekleştirildi.

Çalışmada, yaşları ortalama $5,76 \pm 0,12$ ay (5-8 ay) ve ortalama ağırlıkları $2518,33 \pm 49,80$ gr (2200–3500 gr) olan 30 adet erişkin (15 dişi, 15 erkek) Yeni Zelanda Albino tipi tavşan kullanıldı. Tüm hayvanlar çalışma öncesi sistemik enfeksiyon ve enfestasyon, anatomik malformasyon açısından değerlendirildi. Hayvanlar gürültüden uzak, ortam sıcaklığı 20-25°C olan ve her birinde en fazla 3 tavşan olacak şekilde kafeslere yerleştirilerek 12 saat aydınlık-karanlık ortamda dönüşümlü olarak tutuldu. Gıda ve su kısıtlaması yapılmadı.

6.2. Deney Grupları

Tüm tavşanlar her grupta 3 erkek ve 3 dişi olacak şekilde randomize olarak 5 gruba ayrıldı (Tablo 9).

Tablo 9. Deney grupları

Grup I	Kontrol
Grup II	ESWL
Grup III	ESWL+Antioksidan (Taurin)
Grup IV	ESWL+Ozon terapi
Grup V	ESWL+Antioksidan (Taurin)+Ozon terapi

6.3. Çalışma Düzeni

6.3.1. ESWL uygulaması: Tavşanlar 50 mg/kg i.m. ketamin hidroklorür (Ketalar® flk, Eczacıbaşı, Türkiye) anestezisi ile uyutulduktan sonra, trans-abdominal

ultrasonografi (GE LOGIQ® 400 Ultrasound System, Korea) ile sağ böbrekleri saptandı. Grup II, III, IV ve V’de yer alan tavşanlara elektrohidrolik tipte 3. jenerasyon Stonelith V5 (PCK™, Ankara, Türkiye; Elips çapı: Ø220 mm, Fokus uzaklığı: 130 mm, Maksimum Basınç: 120 Mpa,) ESWL cihazı ile gün aşırı, üç seans ESWL (18 kV, 2000 şok dalgası) uygulandı (Resim 4).



Resim 4. Deney hayvanlarına ESWL uygulaması

6.3.2. Taurin uygulaması: Taurin (Sigma, St. Louis, USA) %0,9 NaCl ile sulandırılarak %10’luk sulu çözelti elde edildi. Grup III ve grup V’teki deneklere sterilite şartlarına uyularak sağ ve sol taraftan dönüşümlü olarak 7 gün 7,5 ml/kg/gün dozda intraperitoneal Taurin uygulandı. Bu sürenin sonunda her bir deneğe gün aşırı üç seans ESWL uygulaması yapıldı.

6.3.3. Ozon terapi uygulaması: Grup IV ve grup V’teki deneklere 7 gün süre ile, gün aşırı, sterilite şartlarına uyularak, karın alt kadrana sağ ve sol taraflara dönüşümlü olarak 2 mg/kg dozda ozon gazı (%95 ozon+%5 O₂ karışımı) intraperitoneal uygulandı. Ozon terapi için ozon jeneratörüyle (Evozone Basic Plus, Germany) üretilen gaz karışımı kullanıldı (Resim 5). Bu sürenin sonunda her bir deneğe gün aşırı üç seans ESWL uygulaması yapıldı.



Resim 5. Ozon terapi için ozon-oksijen gaz karışımı (%95-%5) üretiminde kullanılan cihaz

6.3.4. Taurin-Ozonoterapi birlikte kullanımı: Grup V'teki deneklere 7 gün süre ile i.p. Taurin (%10 çözelti) yanı sıra gün aşırı ozonoterapi uygulaması yapıldıktan sonra gün aşırı üç seans ESWL yapıldı.

6.4. Sakrifikasyon

Çalışma sürelerinin bitiminde denekler preanestezik olarak ksilazin hidroklorür (Rompun® enj. Bayer, Germany) 1 mg/kg i.m. ve anestezik olarak ketamin hidroklorür (Ketalar® flk, Eczacıbaşı, Türkiye) 10mg/kg i.m. ile sedatize edildikten sonra kulak venlerinden kateterize edilerek Tiyopental-Na⁺ (20 mgr/mL) i.v. anestezisi ile uyutuldu. Anestezi uygulanmasını takiben supin pozisyonunda tespit edilerek orta hat abdominal bölgeleri tıraş edildi ve povidon iyot (Betadine® sol. Kansuk, Türkiye) ve alkol ile temizlik yapıp steril örtü ile örtüldü. Orta hattan yaklaşık 10 cm vertikal insizyonla karın duvarı açılarak intraperitoneal bölgeye ulaşıldı. Barsaklar lateralize edildi ve posterior periton sıyrılmak suretiyle sağ böbrek açığa çıkarıldı. Pean klempri renal pediküle konularak ESWL uygulanan sağ

böbreklere nefrektomi yapıldı. Ardından klemp açıldı ve tavşanlar kanatılarak sakrifiye edildi (Resim 6).



Resim 6. Denekden çıkarılmış sağ böbrek

Alınan böbrek dokularının kapsülü uzaklaştırılarak vertikal yönde ikiye ayrıldı. Histopatolojik ve biyokimyasal incelemeler için her bir yarım böbrek dokusunun üst-orta-alt bölgelerinden yaklaşık 1 cm³'lük doku parçaları alındı. Histopatolojik incelemeler için alınan parçalar 40 cc formol içeren kaplarda +4°C'de; biyokimyasal inceleme için alınan örnekler ise Eppendorf tüplerde -80°C'de inceleme süresine kadar saklandı.

6.5. Histomorfometrik değerlendirme

Parafin blokların ışık mikroskopunda değerlendirilmesi: Doku örnekleri pH'sı 7.0'a ayarlanmış fosfat tamponunda hazırlanmış %10'luk formalin içinde oda sıcaklığında tespit edildi. Dereceli alkollerde dehidrate edilen numuneler, sabit vakum uygulamalı doku takip cihazında parafine gömüldü. Bloklardan, *sliding* mikrotomda (Leica, Germany) 5-7 mikrometrelik kesitler alınarak hematoksil-eozin, PAS ve modifiye *Masson* Trikrom yöntemiyle boyandı. Kesitler mikroskopik böbrek hasarı kriterleri açısından iki araştırmacı tarafından, bilgisayar ve dijital kamera (Leica DC500, Westlar, Germany) bağlantılı ışık mikroskobu aracılığıyla

yakalanarak (*capture*) Leica Application Suite ve QWIN plus marka görüntü analiz program ile kantitatif olarak değerlendirildi.

Histomorfometri: Kesitler ışık mikroskopunda iki farklı yöntemle skorlandı. Her böbrekten en az 40 kesit alındıktan sonra Sharples ve arkadaşlarını tanımladığı yöntemle göre tübüller normal ise 0; kesitin en çok 1/3'ünde tübül hücrelerinde şişme, çizgili kenarlarda kayıp, nükleer kondansasyon varsa 1; bu değişiklikler kesitin 1/3-2/3'ünde varsa 2; 2/3'ünden daha fazla alanda varsa 3 olarak skorlandı. İncelenen tüm kesitlerden elde edilen skorlar toplanarak sonuç skoru (maksimum skor 120) kaydedildi (162).

6.6. Biyokimyasal inceleme

Çalışma sonuna kadar -80°C'de saklanan alt, orta ve üst pollerden alınan doku örnekleri homojenizatörle parçalandı. Bu doku örneklerinde malondialdehid (MDA), nitrik oksit (NO), total sülfidril grupları (t-SH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz düzeyleri ölçümleri gerçekleştirildi.

MDA düzeylerinin ölçümü: Yagi'nin metodu modifiye edilerek çalışıldı (163). Sonuçlar standart olarak kullanılan 1,1,3 trimetoksiopropan'ın 1,56-100 nmol/mL arasında seri dilüsyonları hazırlandı ve kalibrasyon eğrileri çizilerek hesaplandı. MDA konsantrasyonları nmol/mg protein şeklinde verildi.

NO düzeylerinin ölçümü: Miranda ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı (164). Standart olarak sodyum nitrat'ın 6,25-200 µmol/mL arasında seri dilüsyonları kullanıldı ve kalibrasyon eğrileri çizildi. Çizilen bu grafikten NO düzeyleri nmol/mg protein cinsinden hesaplandı.

t-SH düzeylerinin ölçümü: Sedlak ve arkadaşlarının metodu modifiye edilerek çalışıldı (165). Standart olarak glutatyon'un 0,16-5 mMol/L arasındaki seri dilüsyonları hazırlandı ve kalibrasyon eğrileri çizildi. Standartlar kullanılarak çizilen grafikten t-SH konsantrasyonları µmol/mg protein cinsinden hesaplandı.

SOD, GSH-Px, Katalaz düzeylerinin ölçümü: SOD, GSH-Px, Katalaz düzeyleri manuel mikroeliza yöntemi ile ve CAYMAN ticari kitleri (Cayman Chemical Co.,Michigan,USA) kullanılarak ölçüldü.

SOD düzeyleri U/mg protein, GSH-Px düzeyleri nmol/min/mg protein, Katalaz düzeyleri nmol/min/mg protein cinsinden hesaplandı.

Manuel yöntemle çalışılırken;

- Mikrokuant (M-Quant) Spektrofotometre (BİOTEK Enstrument Inc., USA)
- EL_x50 otomatik plate yıkayıcı (BİOTEK Enstrument Inc., USA)
- VELP Scientifico manyetik karıştırıcı

20 µL, 100 µL, 200 µL otomatik pipet ve pipet uçları kullanıldı.

6.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen biyokimyasal verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL; USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılıp dağılmadığı ve varyansların homojenliği Shapiro-Wilk testiyle değerlendirildi. Sonuçlar Ortalama±SEM olarak verildi. Gruplar arası değerlerin istatistiksel analizinde Bonferoni düzeltmeli tek yönlü varyans analizi kullanıldı. Spearman korelasyon testiyle kan ölçümleri ve histolojik verilerin korelasyonu değerlendirildi. *P* değeri 0.05'in altında ise istatistiksel fark anlamlı olarak kabul edildi.

SONUÇLAR

7.1. Biyokimyasal Sonuçlar

Gruplarda elde edilen anti-oksidan enzim düzeyleri ile serbest oksijen radikallerinin düzeyleri tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Gruplarda ölçülen antioksidan enzim ve serbest oksijen radikalleri düzeyleri (Ort±SD)

	Grup-I	Grup-II	Grup-III	Grup-IV	Grup-V	p
Katalaz	8,60±1,20	9,06±0,92	8,18±0,65	7,84±1,06	6,79±0,84	0.005*
GSH-Px	3,80±0,86	4,77±0,70	3,45±1,18	3,70±0,84	3,49±1,42	0.199
SOD	0,24±0,06	0,25±0,07	0,21±0,07	0,18±0,05	0,19±0,07	0.344
MDA	20,52±4,85	26,32±19,4	15,35±2,67	16,55±6,19	18,28±9,82	0.095
t-SH	0,14±0,03	0,17±0,03	0,13±0,02	0,12±0,04	0,14±0,02	0.732
NO	2,15±0,75	2,80±0,58	2,97±1,50	3,04±0,73	2,91±2,00	0.183

(* p<0.05, Tek yönlü Varyans Analizi, *post-hoc Bonferoni*)

Doku ekstrelerinde elde edilen biyokimyasal sonuçlar değerlendirildiğinde, ESWL uygulaması ve antioksidan tedavinin antioksidan bir enzim olan katalaz düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı değişime neden olduğu izlendi (F=4.845, p=0.005). ESWL sonrası katalaz değerlerinde hafif bir artış izlenirken, tek başına taurin veya tek başına ozon terapi uygulamasının ESWL'nin yol açtığı artışı engellediği; hatta, kontrol değerlerinin de altına düşürdüğü saptandı. ESWL sonrası taurin ve ozon terapinin birlikte uygulandığı V. grupta ise katalaz düzeyinin ESWL sonrası değere kıyasla anlamlı düzeyde düştüğü gözlemlendi. Katalaz düzeyindeki anlamlı farkın kombine tedavi sonucu elde edilen değerler (grup-V) ile kontrol grubu (grup I) ve ESWL grubundaki (grup II) değerler ile arasındaki farktan kaynaklandığı izlendi ($p_{\text{Grup I vs Grup V}}=0.031$, $p_{\text{Grup II vs Grup V}}=0.004$, $p<0.0125$).

GSH-Px ve SOD düzeylerinde ise ESWL sonrası istatistiksel olarak anlamlı olmayan artış izlendi. Taurin ve ozonoterapi uygulaması ile izlenen azalma, kombine uygulama sonrası daha belirgin olarak saptandı. Ancak, gerek serum GSH-Px ve gerekse SOD düzeylerindeki değişim istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Serbest oksijen radikal düzeyleri değerlendirildiğinde ESWL sonrası MDA, t-SH ve NO düzeylerinde istatistiksel olmayan artış saptandı. Taurin uygulaması ile bu üç madde düzeyinde de azalma izlendi. Ozon terapi sonrası ise MDA ve t-SH düzeyleri azalırken, NO düzeyinde artış izlendi. Ancak, bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Kombine uygulama sonrası ise MDA ve t-SH düzeylerinde kontrol grubu düzeylerine varan azalma izlenirken; NO düzeyinde hafif bir azalma saptandı. Ancak, tüm bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildi.

7.2. Histomorfometrik Sonuçlar

Yapılan kalitatif incelemede incelenen tüm deney gruplarında ESWL sonrası en çok kortikomedüller bölgenin hasardan etkilendiği saptandı. Mikroskopik olarak tüm deney gruplarında renal tübüllerde değişen derecelerde dilatasyonu içeren dejenerasyon, proksimal ve/veya distal tübül epitellerinde dökülme, basitleşme (yassılaşma) ve tubuler *cast*lerin varlığı şeklinde renal hasar izlendi. Tüm deney gruplarında vasküler dilatasyon, konjesyon ve mononükleer hücrelerin varlığıyla karakterize hafif ile orta derecede interstisiyel inflamasyon gözlemlendi. Yalnız ESWL uygulanan grup II'de tübül epitelinde nekroz, epitel katının soyularak fragmente hücrelerin lümenine dökülmesi; Grup-III, Grup-IV ve Grup-V'e göre daha belirgindi. Grup-V ise tübüler ve vasküler integrite açısından diğer deney gruplarına göre daha sağlıklı olarak izlendi (Resim 5)

Antioksidan ajan uygulaması ve ozon terapinin ESWL girişiminin böbrek tübüllerinde oluşturduğu epitel hasarı üzerinde tek başlarına herhangi bir koruyucu etki meydana getirmezken, birlikte uygulandıklarında hasarı azalttığı ve hatta ESWL uygulamasının yol açtığı tübüler hasara karşı korunmasını sağladığı izlendi.

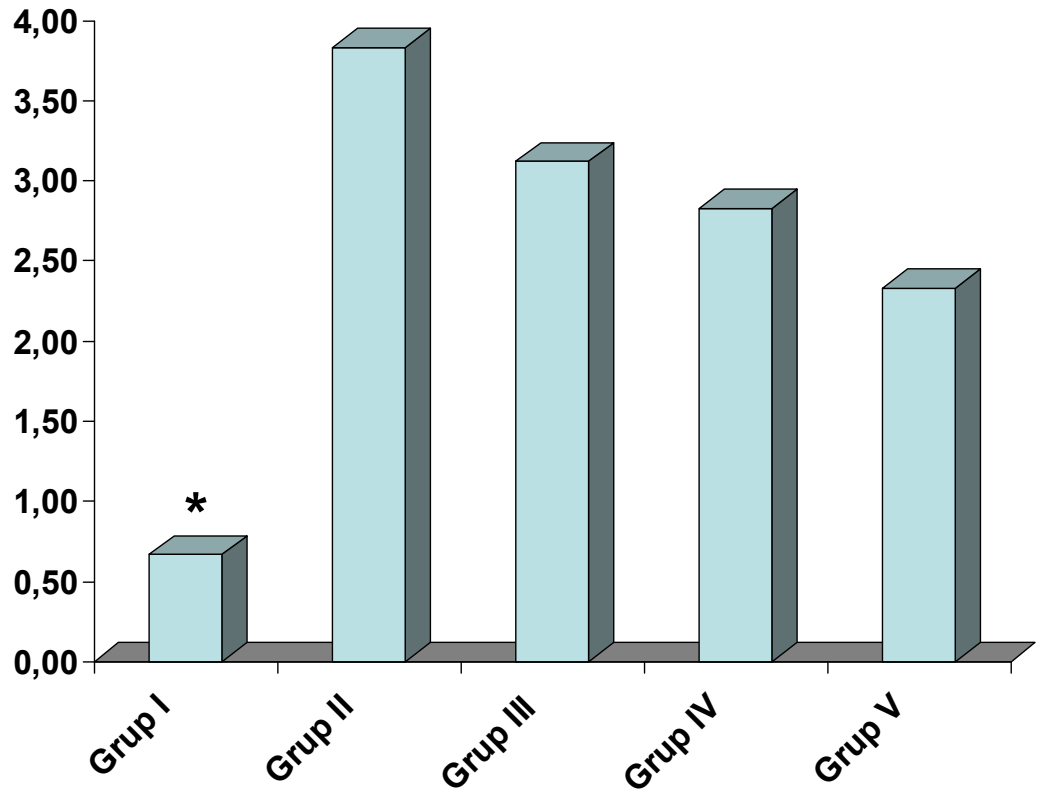
Yapılan skorlamada elde edilen değerler tablo 11'de ve grafik 1'de verilmektedir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ESWL uygulaması ile anlamlı renal hasar geliştiği ($p_{\text{Grup I vs Grup II}}=0.001$) ve bu hasarın tek başına taurin ve tek başına ozon terapi uygulaması ile bir miktar düzelme göstermekle birlikte, hasarın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yine de istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ($p_{\text{Grup I vs Grup III}}=0.001$; $p_{\text{Grup I vs Grup IV}}=0.001$); kombine uygulamanın ise ESWL sonrası

ortaya çıkan hasarı anlamlı olarak düzelttiği ($p_{\text{Grup II vs Grup V}}=0.010$), ancak değişim yine de kontrol grubundan farklı olduğu izlendi ($p_{\text{Grup I vs Grup V}}=0.027$).

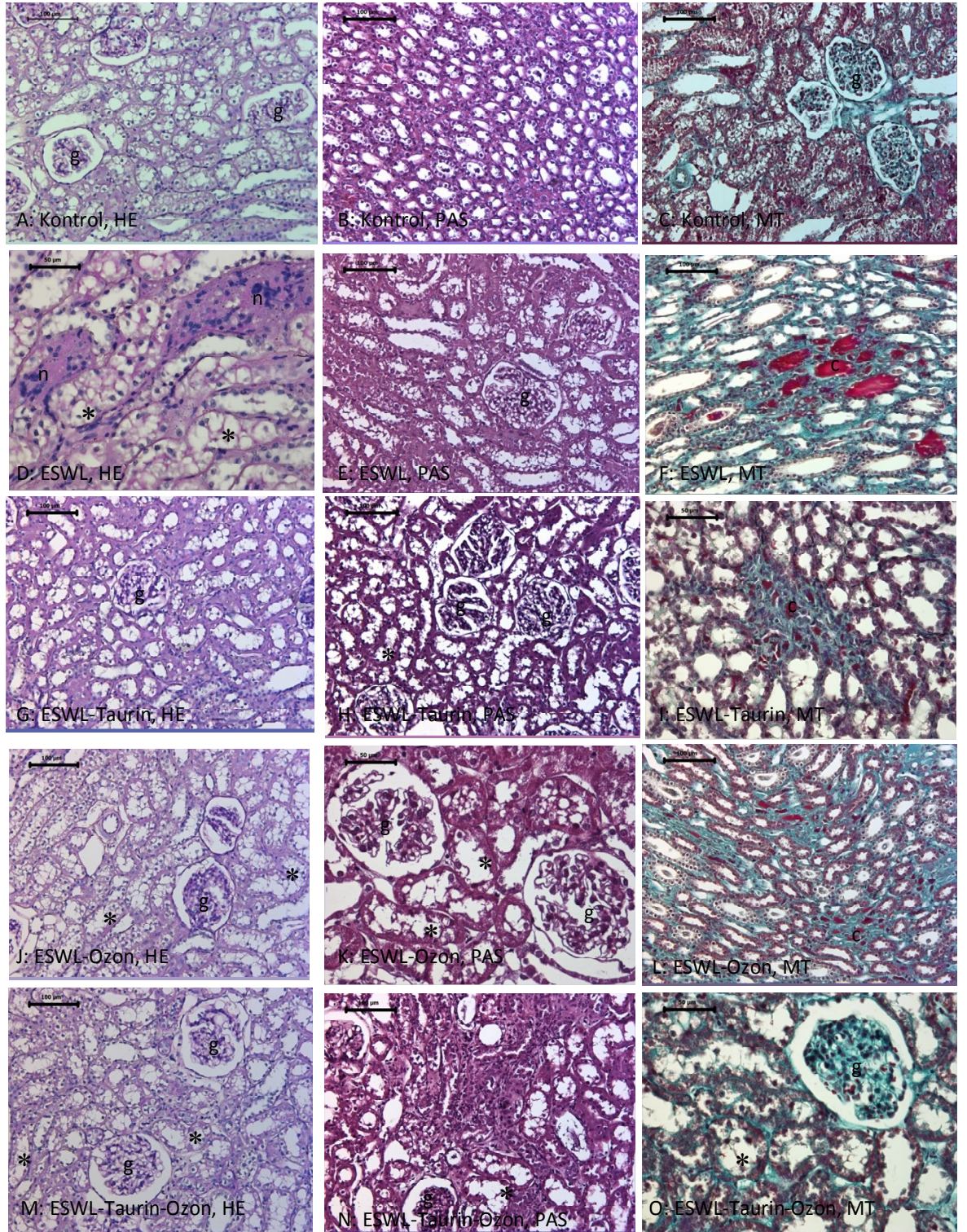
Tablo 11. Böbrek dokusunda izlenen hasarın Sharples skorlama sistemine göre değerlendirilmesi

Grup	Ortalama Hasar Skoru (Ort±SD)	Min-Maks
Grup I	0.67±0.52*	0-1
Grup II	3.83±0.41	3-4
Grup III	3.12±0.75	3-4
Grup IV	2.83±0.75	2-4
Grup V	2.33±1.21	1-4

(*Tek yönlü Varyans analizi; $F=14.03$, $p=0.001$)



Grafik1. Böbrek dokusundaki hasarın Sharples skorlama sistemine göre gruptaki dağılımı (* Tek yönlü varyans analizi, $F=14.093$, $p=0.001$)



Resim 7: Histomorfometrik değerlendirme: Renal hasar asıl olarak kortikomedüller bölgeyi, buradaki proksimal ve distal tüpleri tutmaktadır (D-O). D'de tübül nekroz (n) izlenmektedir. Tüm deney gruplarında tübül epitelinde basileşme, hücrelerde apikal blebeşme, bazal membrandan ayrılma ile karakterize yaygın tübül hasarı (asterisk) izlenmektedir. F, I ve L'de tübül lümenlerinde cast (c) benzeri madde birikimi ve vasküler konjesyon dikkati çekmektedir. Glomerüller (g) tüm gruplarda göreceli olarak sağlıklı görünmektedir. ESWL-ozon ve ESWL-taurin ozon grupları ESWL grubuna göre nispeten daha sağlıklı görüncü de bu gruplarda da lokal tübül hasarı devam etmektedir (K, O). HE: Hematoksilin Eozin, PAS: Periyodik Asit Schiff, MT: Masson Trikrom.

TARTIŞMA

ESWL'nin böbrek dokusunda indüklediği hücrel hasarın mekanizması net değildir. Bu konuda sorumlu tutulan mekanizmalardan biri ESWL uygulamasında ortaya çıkan SOR'a bağlı doku hasarıdır. Taşın mekanik parçalanması esnasında 18-24 bin volt elektrik enerjisi ile oluşan her bir şok dalgasının ikincil bir odaktaki termal etkisi neticesindeki biyokimyasal olaylar SOR oluşumuna katkıda bulunabilmektedir. Oluşan bu serbest radikaller yüksek reaktiviteleri nedeniyle hücre içindeki makromoleküllere ciddi zarar verebilir (19,20). Çalışmamızda, ESWL uygulaması yapılan deneklerin böbrek dokularında MDA, t-SH ve NO gibi oksidatif hasarı gösteren belirteçlerde kontrol grubuna göre artış olduğu izlendi. Bu durum ESWL sonucunda böbrek dokusunda oluşan oksidatif hasarın bir göstergesi olarak değerlendirildi.

Fizyolojik koşullarda organizma endojen veya ekzojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve buna bağlı olarak ortaya çıkan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Hücrelerin normal fonksiyonları sırasında açığa çıkan SOR bu hücrelerin doğal antioksidan sistemleriyle yok edilerek vücudun oksidatif dengesi korunur. Bu denge sağlandığı sürece organizma bu bileşiklerin zararlı etkilerinden korunmuş olur. Serbest radikal oluşum hızı antioksidan sistemin yok etme gücünü aştığında ise bu denge bozulur ve serbest radikallere bağlı oksidatif stres ortaya çıkar (166).

Serbest oksijen radikallerinin sitotoksosite, mutageniz ve gen ekspresyonundaki değişiklikler ile sonuçlanan pek çok hücrel ve moleküler etkileri mevcuttur. Örneğin, çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu, doku zincir reaksiyonlarında hız belirleyicisi olarak rol oynayan ve lipit peroksidasyonunun son ürünü olan MDA ortaya çıkar (167). Bu nedenle MDA, lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan serbest radikal formasyonunun belirtecidir. Çeşitli çalışmalarda, lipit peroksidasyon ürünlerinin DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir. Lipit hidroperoksitler direkt olarak DNA zincir kırılmasına yol açarken, lipit peroksil ve alkoksil radikalleri DNA'da baz oksidasyonuna neden olurlar (168,169).

Böbrek dokusu, aşırı miktardaki oksijen radikallerinin oluşturacağı zararı önleyen antioksidanlara sahiptir. Bu antioksidanlar hem peroksitleri ayrıştırır hem de

serbest radikalleri yakalarlar. Örneğin; hücrelerdeki antioksidan savunma sisteminin ilk basamağında yer alan bir antioksidan olan SOD hücreleri süperoksit radikallerinin toksik etkilerine karşı korur (72,73). Bu etkisi süperoksit anyon radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize ederek gerçekleşir. Organizma oksidatif stres ile karşılaşınca SOD seviyeleri artar ve daha sonra, zamanla azalarak normal seviyelerine ulaşır.

Glutasyon ise hücrelerde en çok bulunan enzimatik olmayan antioksidandır ve oksidatif strese karşı savunmada kritik bir rol oynar. Organizmada normal şartlar altında GSH oksidatif ajanlar ile birleşerek okside glutasyon (GSSG) ve su oluşturur. Bu reaksiyonu GSH-Px enzimi katalize eder. Oksidatif şartların uzaması veya yüksek miktarda oksidatif ürünlerin varlığında GSH depoları tükenir ve sonuçta GSH-Px enzimi kaynak bulamayacağı için inhibe olur. Bu durum hücrelerin oksidatif strese daha fazla maruz kalmasına yol açar (60-62).

Literatürde ESWL, oksidatif hasar ve SOR düzeyleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Aksoy ve ark. böbrek taşı nedeni ile ESWL yapılan 23 hastada eritrosit SOD, katalaz ve MDA seviyelerini ESWL uygulamasından 5 dakika önce, 1 saat ve 5 gün sonra inceledikleri çalışmalarında, ESWL'den 1 saat sonraki SOD ve katalaz düzeylerinin ESWL öncesine göre önemli ölçüde düşme gösterdiğini; 5. günde ise ESWL öncesi düzeylere ulaştığını saptamışlardır. Buna karşın, ESWL sonrası MDA düzeyinde ESWL öncesine göre artış izlenmiş ve bu durum 5. günde de devam etmiştir (170). Araştırmacılar, ESWL tedavisi ile oluşan oksidatif stres sonucu SOR'nin eritrositlerde antioksidan mekanizmalarda aktivasyona yol açtığını; bu durumda ESWL sonrasında SOD, katalaz gibi antioksidanların seviyelerinde azalmaya neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Li ve ark. ise ESWL'nin neden olduğu renal hasarı göstermek amacıyla tavşan böbreklerinde yaptıkları bir çalışmada, ESWL'den sonra SOD aktivitesinin azaldığını; MDA seviyesinin ise yükseldiğini belirtmişlerdir (171). Bu artışın ESWL'nin indüklediği renal parankimal hasar neticesinde oluşan SOR ve buna karşı aktive olan antioksidan mekanizmalara bağlı olduğu ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada, koruyucu olarak antioksidan ajanların kullanıldığı grupta ise SOD

aktivitesinde artış; oksidatif ortamın antioksidan tedavi ile azalmasına bağlı olarak MDA seviyelerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda, ESWL uygulaması sonrası SOR ve antioksidan düzeylerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artış izlenmiştir. Bu artışın ESWL sonrası SOR'nin artışı ile gerçekleşen böbrek üzerindeki oksidatif hasar oluşturucu etkisini tamponlamak için meydana geldiğini düşünmekteyiz. Antioksidan düzeylerinin, yukarıda belirtilen çalışmaların aksine ESWL sonrası yüksek olarak ölçülmesi uygulamanın 7 gün süre ile gün aşırı tekrarlanması nedeniyle indüklenen SOR artışı ve sonrasında ortaya çıkan oksidatif stres ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür

ESWL uygulaması sonrası renal dokuda ortaya çıkan değişiklikler pek çok çalışmada bildirilmiştir (19,21,28,30). Glomerüller ve tübüler hücrelerde, bowman kapsülünde yırtıklar, glomerüller membranda ve bazal membranda kalınlaşma, kapillerde segmental fibroepitelyal kalınlaşma, intimanın proliferasyonuna bağlı lümen tıkanması, böbrek dokusunda kortikomedüller sınırın kaybolması, vasküler hasarlanma, parankim içine kanama, proksimal tüp hücrelerinde değişik doku hasarları, kronik olarak; fibrosis, fokal kalsifikasyon, nefron kaybı, hyalinize skar oluşumu subkapsüler hemoraji, perirenal hemoraji, glomerüller hemoraji ve Bowman kapsülüne protein sızıntısı ESWL sonrası sık karşılaşılan histopatolojik değişikliklerdendir.

Çalışmamızda da, ESWL uygulanan grupta ESWL sonrası en çok kortikomedüller bölgenin hasardan etkilendiği; mikroskobik olarak ESWL uygulanan tüm deney gruplarında tübüllerde değişen derecelerde dilatasyonu içeren dejenerasyon, proksimal ve/veya distal tübül epitellerinde dökülme basitleşme (yassılaşma) ve tubuler *cast*lerin varlığı şeklinde renal hasar geliştiği izlendi. Ayrıca, vasküler dilatasyon, konjesyon ile mononükleer hücrelerin varlığıyla karakterize hafif ile orta derecede interstisyel inflamasyon da mevcuttu.

Al-Awadi ve ark. ESWL'nin böbrekte serbest radikal oluşumu nedeniyle yol açtığı doku hasarının ekzojen antioksidan verilmesiyle önlenebileceğini ileri sürmüşler ve yaptıkları çalışmalarında şok dalgalarının indüklediği renal parankimal hasarın serbest radikal oluşumuna katkıda bulunduğunu ve kullanılan oral antioksidan ajanların böbrek dokusunu bu hasardan koruduğunu belirtmişlerdir (172). Serel ve ark. ise deneysel çalışmalarında, ESWL'nin böbrekte neden olduğu

oksidatif stresi önlemek için endojen serbest radikal olan melatoninin etkisini araştırmış ve oksidatif renal hasarı önlemede etkili olduğunu bildirmişlerdir (173). Benzer şekilde, Biri ve ark. ekzojen vitamin E ve vitamin C uygulaması ile ESWL sonrası böbrek dokularında izlenen endotelial hasar, kapiller damarlarda visseral epitelyum ayaksız uzantılarının (*foot process*) kaybı ve glomerüller bazal membran hasarı gibi bazı değişikliklerin önlenebileceğini göstermişlerdir (174).

Taurinin peroksidatif hasara maruz kalan dokularda antioksidan özellik gösterdiği ve lipit peroksidasyonunu azalttığı bilinmektedir (125,128). Taurinin antioksidan etkisini değerlendiren bir çalışmada, Hagar ve ark. Cylosporine A'nın (CsA) neden olduğu oksidatif stres ve nefrotoksisitenin değerlendirildiği deneysel çalışmada; taurin uygulaması ile oksidatif belirteçlerde azalma olduğu ve taurin verilen grupta renal morfolojik değişikliklerde düzelme olduğunu izlemişlerdir (175). Yapılan araştırmalarda taurinin SOR üzerine etkileri hakkında farklı sonuçlar ortaya konulmuştur. Taurinin hipokloröz asitle doğrudan reaksiyonu ile klorotaurin oluşur. Hem taurin hem de klorotaurinin, hipokloröz asidi nötralize ederek antioksidan etki gösterdikleri düşünülmektedir. Ayrıca klorotaurin, hem iNOS hem de tümör nekrozis faktör ekspresyonunu, transkripsiyonel ve translasyonel düzeylerde etkileyerek NO'yu ve tümör nekrozis faktörü azaltmakta ve iNOS'u da direkt olarak inhibe etmekle birlikte; yapılan pek çok çalışmada dokuda NO düzeyini artırdığı gösterilmiştir (176,177). Güz ve ark. taurin eksikliğinde özellikle belirgin MDA artışı meydana geldiği ileri sürerken, El-Abhar ve ark. ise taurinin artmış kortikal MDA düzeylerini etkilemediğini bildirmiştir (178). Güz ve ark. iskemi/reperfüzyon modeli oluşturulan ratlarda oksidatif stres belirteçleri olan GSH ve MDA'nın serum ve doku seviyelerinin ekzojen taurin verilmesi ile normal sınırlar içerisinde kaldığını; oluşan histopatolojik değişikliklerin taurin verilmesi ile azaldığını göstermişlerdir (179). Gürer ve ark. da böbrek dokusunda kurşunun indüklediği oksidatif stres üzerine taurinin etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında, GSH, MDA ve katalaz seviyelerinin böbrek dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük olduğunu bildirmişlerdir (180). Sonuç olarak, taurinin oksidatif strese karşı koruyucu olabileceği ileri sürülmektedir.

Çalışmamızda da taurinin uygulaması ile MDA ve t-SH düzeylerinde ESWL uygulaması sonrasına göre azalma izlenmiş, hatta bu azalma kontrol grubu

düzeylerinin de altında seyretmiştir. Literatür ile uyumlu olarak, ekzojen taurin uygulaması ile katalaz, GSH-Px ve SOD düzeylerinde azalma izlenmiştir. Bu durumun dışarıdan verilen antioksidan ajanların endojen üretimi baskılaması sonucu ortaya çıktığı düşünülmüştür.

Ozon tedavisi son yıllarda tıpta pek çok alanda kullanılan bir uygulama yöntemidir (182,183). Bununla birlikte, insan ve hayvanlardaki ozon kullanımının tartışmaları halen devam etmektedir. Özellikle yüksek doz kullanımında serbest radikal oluşumundaki artışa bağlı ortaya çıkan yan etkiler ve inhalasyon yolu ile verildiğinde ise respiratuar sistemdeki irritan etkileri bu tartışmada önemli rol almaktadır (184,185). Diğer taraftan, O₃ tedavisinin klinik etkinliğini ortaya koyan literatür verileri de son derece sınırlıdır. Bu nedenle klinik pratikte O₃ gazı kullanımı sınırlıdır.

Morsy ve ark. diabetik nefropati oluşturulan sıçan modellerinde oksidatif stres belirteçleri üzerine ozon terapinin etkilerini değerlendirmişler ve ozon uygulaması ile renal oksidatif stres belirteçleri düzeylerinde anlamlı düşüş olduğunu bildirmişlerdir (186). Diyabet oluşturulan sıçan böbrek dokularında oksidatif stresin varlığına bağlı olarak MDA seviyelerinde artış; antioksidan enzim düzeylerinde ise azalma saptanmıştır. Buna karşın, deneklere ozon terapi uygulandığında, renal antioksidan sistemin aktifleştiği ve oksidatif stresin böbrekler üzerine olan etkilerinde azalma meydana geldiği gösterilmiştir. Aynı zamanda ozon tedavisi ile renal vasküler endotelden NO salınımının da indüklendiğini bildirilmiştir.

Barber ve ark. ise böbrekte sıcak iskemi oluşturarak yaptıkları deneysel çalışmalarında, ozon terapi uygulanan deneklerde oluşan histopatolojik değişikliklerin daha az olduğunu saptamışlardır (187). Araştırmacılar, bu duruma ozon uygulaması ile böbreklerde indüklenen antioksidan mekanizmaların koruyucu etkisinin neden olduğunu ileri sürmüşler ve bu bulgular ışığında transplantasyon öncesi renal zedelenmeyi en aza indirmek için ozon ön koşullamasının kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda, beklenildiği üzere ozon terapi ile SOR ve antioksidan düzeylerinde azalma izlenmiş; bu azalma ozon terapinin taurin ile kombine edilmesi ile daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Diğer taraftan, ozon terapi ile NO düzeylerinde artış izlenmiştir. Bu durumun ozon terapinin etkisinin oksidan NO artışı

ile gerçekleştirmesine bağlı olduğu düşünmekteyiz. Kombine uygulamada ise NO düzeyinde, taurinin NO bağlayıcı etkisine bağlı olarak bir miktar azalma izlenmiştir.

Yapılan çalışmada, ESWL uygulanan grup II'de tübül epitelinde nekroz, epitel katının soyularak fragmente hücrelerin lümenine dökülmesi gibi hasar bulguları grup IV (ozon terapi) ve grup V'e (ozon+taurin) göre daha belirgindi. Kombine tedavinin uygulandığı grup V'in ise tübüler ve vasküler integrite açısından diğer deney gruplarına göre daha sağlıklı olduğu izlendi. Bu histopatolojik sonuçlardan yola çıkarak antioksidan ajan uygulaması ve ozon terapi, ESWL girişiminin böbrek tübüllerinde oluşturduğu epitel hasarı üzerinde tek başlarına herhangi bir koruyucu etki meydana getirmezken, birlikte uygulandıklarında hasarı azalttığı ve hatta ESWL uygulamasının yol açtığı tübüler hasara karşı korunmasını sağladığını düşünmekteyiz. Bu etkinin ozon terapinin özellikle vasküler endotelial hasar ve disfonksiyonu önlemesine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, ozon terapi ESWL uygulamasının indüklediği oksidatif doku hasarını azaltmakta ve özellikle diğer antioksidan ajanlar ile birlikte kullanıldığında koruyucu etkisi daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, ozon terapinin uzun dönem etkileri ve doz/uygulama şekline bağlı etkilerinin daha net ortaya konulması için ileri çalışmalara gerek vardır.

KAYNAKLAR

- 1- Atahan O, Alkibay T, Bozkırlı İ. Ekstrakorporeal şok dalga litotripsi. Uroloji Bülteni. 1993;4:67.
- 2- Walsh PC. Campbell' Urology. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (Eds.). Urinary stone disease and endourology, Philadelphia, Saunders,2006.
- 3- Chow GK, Strem SB. Extracorporeal lithotripsy. Update on technology. Urol Clin North Am 2000;27:315-322.
- 4- Eisenmenger W. The mechanisms of stone fragmentation in ESWL. Ultrasound Med Biol 2001;27:683-693.
- 5- Spirmak JP, Resnick M. Extracorporeal shock wave lithotripsy. Resnick MI, Pak CY: Urolithiasis: A Medical and Surgical References (Eds), Philadelphia, W.B. Saunders Co.1990: 321-361.
- 6- Rassweiler J.J, Kohrmann K.U, Seeman O, Peter R.T, Alken M. Clinical comparison of ESWL, Cue FL., Favus M.J., Pak C.Y.C., Panks J.H., Premirge G.M.: Kidney stones, medical and surgical managment. Philadelphia, New York, pp: 571-603, 1996.
- 7- Klingler HC, Kramer G, Lodde M, Dorfinger K, Hofbauer J, Marberger M. Stone treatment and coagulopathy. Euro Urol 2003;43:75-79.
- 8- Yılmaz E, Batislam E, Tuğlu D, Kilic D, Basar M, Ozluk O, Basar H. C-reactive protein in early of detection of bacterriemia and after extracorporeal shock wave lithotripsy. Eur Urol 2003;43:270-274.
- 9- Kelley JM.Extracorporeal shock wave lithotripsy of urinary calculi. Theory, efficacy, and adverse effects. West J Med 1990;153:65-69.
- 10- Silber N, Kremer I, Gatton DD, Servadio C. Severe sepsis following extracorporeal shock wave lithotripsy. J Urol 1991; 145:1045-1046 .
- 11- Parr KL, Lingeman JE, Jordan M, Coury TA. Creatinine kinase concentrations and electrocardiographic changes in extracorporeal shock wave lithotripsy. Urology 1988; 32:21-23.
- 12- Riehle RA Jr, Fair WD, Voughan D Jr. Extracorporeal shock wave lithotripsy for upper urinary tract calculi. One year's experience at a single center. JAMA 1986; 255: 2043-2048.

- 13- Littleton RH, Melser M, Kupin W. Acute renal failure following bilateral ESWL without ureteral obstruction. Lingeman JE, Newman DM (Eds). Shock-wave Lithotripsy 2: Urinary and Biliary Lithotripsy, New York, Plenum Press, 1989:197-201.
- 14- Federmann M, Kley HK: Millitary tuberculosis after extracorporeal shock wave lithotripsy. *New Engl J Med* 1990; 323:1212.
- 15- Karawi MA, Mohamed AR, El-Etabi KE, Abomelha MS, Seed RF. Extracorporeal shock-wave lithotripsy (ESWL)-induced erosions in upper gastrointestinal tract. Prospective study in 40 patients. *Urology* 1987;30:224-227.
- 16- Etzkorn KP, Mihalov M, Brown RD, Bavishi D. Colonic injury after ESWL of renal calculi. *Gastrointest Endosc* 1996;44:511-512.
- 17- Fugita OE, Trigo-Rocha F, Mitre AI, Arap S. Splenic rupture and abscess after extracorporeal shock wave lithotripsy. *Urology* 1998;52:322-323.
- 18- Öner A, Arar O, Çiftçi A. Böbrek taşlarında ESWL tedavisinin yeri. Solok V, Erözenci NA (Eds). 1997:43-51.
- 19- Kaude JV, Williams CM, Millner MR, Scott KN, Finlayson B. Renal morphology and function immediately after extracorporeal shock-wave lithotripsy. *AJR AmJ Roentgenol* 1985;145:305-313.
- 20- Rubin JI, Arger PH, Pollack HM, Banner MP, Coleman BG, Mintz MC, VanArsdalen KN. Kidney changes after extracorporeal shock-wave lithotripsy: CT evaluation. *Radiology* 1987; 162:21-24.
- 21- Orestano F, Caronia N, Gallo G. Functional aspects of the kidney after shock wave lithotripsy. Lingeman JE, Newman DM (Eds) Shock-wave Lithotripsy 2: Urinary and Biliary Lithotripsy. New York, Plenum Pres, 1989:15-17.
- 22- Knapp PM, Kulb TB, Lingeman JE, , Newman DM, Mertz JH, Mosbaugh PG, Steele RE.
Extracorporeal shock-wave lithotripsy induced perirenal hematomas. *J Urol* 1988; 139: 700-703.
- 23- Graff J, Diederichs W, Schulze H . Long-term follow-up in 1003 extracorporeal shock-wave lithotripsy patients. *J Urol* 1988; 140:479-483.
- 24- Gilbert BR, Riehle RA, Vaughan ED Jr. Extracorporeal shock wave lithotripsy and its effect on renal function. *J Urol* 1988;139:482-485.

- 25- Lechevallier E, Siles S, Ortega JC, Coulange C. Comparison by SPECT of renal scars after extracorporeal shock wave lithotripsy and percutaneous nephrolithotomy. *J Endourol* 1993; 7:465-467
- 26- Williams CM, Kaude JV, Newman RC, Peterson JC, Thomas WC. Extracorporeal shock-wave lithotripsy: long-term complications. *AJR Am J Roentgenol* 1988; 150:311-315.
- 27- Rutz-Danielczak A, Pupek Musialik D, Rasjeza-Wanic B: Effects of extracorporeal shock-wave lithotripsy on renal function in patients with kidney Stone disease. *Nephron* 1998;79:162-166.
- 28- Delius M, Jordan M, Eizenhoefer H, Marlinghaus E, Heine G, Liebich HG, Brendel W. Biological effects of shock waves: kidney haemorrhage by shock waves in dogs--administration rate dependence. *Ultrasound Med Biol* 1988;14:689-694.
- 29- Banner B, Ziesmer D, Collins LA. Proliferative glomerulopathy following extracorporeal shock wave lithotripsy in the pig. *J Urol* 1991;146:1425- 1428.
- 30- Back W, Kohrmann KU, Bensemann J, Rassweiler J, Alken P. Histomorphologic and ultrastructural findings of shockwave-induced lesions in the isolated perfused kidney of the pig. *J Endourol* 1994;8:257-261.
- 31- Karlsen SJ, Smevik B, Hoving T. Acute morphological changes in canine kidneys after exposure to extracorporeal shock waves. A light and electron microscopic study. *Urol Res* 1991;19: 105-115.
- 32- Jaeqer P, Redha F, Marquardt K, Uhlschmid G, Hauri D. Morphological and functional changes in canine kidneys following extracorporeal shock-wave treatment. *Urol Int* 1995; 54(1): 48-58.
- 33- Gillenwater JY. Extracorporeal shock wave lithotripsy for the treatment of urinary calculi. Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JW (Eds). *Adult and Pediatric Urology* (2nd Ed). St Louis, Mosby Year Book, 1991; 695-710.
- 34- Stoller ML. Extracorporeal shock-wave lithotripsy. Tanago EA, Mc Aninch JW (Eds), *Smith's General Urology* (14nd Ed), Connecticut, Appleton & Lange, 1995;305-313.
- 35- Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan antioksidan dengeyi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim* 1998; 11:336-341.

- 36- Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46:15–32.
- 37- Sözmén EY. Yaşlanma biyokimyası. Onat T, Emerk K, Sözmén ET (Eds). *İnsan Biyokimyası*. Ankara,, 2002;667–672.
- 38- Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik gelişim* 1998; 11: 334-342.
- 39- Var A. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda oksidan ve antioksidan sistemlerin incelenmesi. Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Bölümü Uzmanlık Tezi, 1999.
- 40- Nordberg J, Arnér ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med* 2001;31:1287– 1312.
- 41- McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000;108:652–659.
- 42- Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;305:761–770.
- 43- Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993;49:481–493.
- 44- Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanism of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998;25:434-456.
- 45- Garcia X, Stein F. Nitric oxide. *Semin Ped Infect Dis* 2006;17:55-57.
- 46- Baykal Y, Kocabalkan F. Serbest radikaller ve hücre hasarı. *Sendrom* 2000;9:31
- 47- Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. 1. Baskı. Konya, Mimoza Yayınları, 1995.
- 48- Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *FreeRadic Res* 1996;25:57-74.
- 49- Alderman CJ, Shah S, Foreman JC, Chain BM, Katz DR. The role of advanced oxidation protein products in regulation of dendritic cell function. *Free Radic Biol Med* 2002;32:377-385.
- 50- Friedlander MA, Witko-Sarsat V, Nguyen AT, Wu YC, Labrunte M, Verger C, Jungers P, Descamps-Latscha B. The advanced glycation endproduct pentosidine and monocyte activation in uremia. *Clin Nephrol* 1996;45:379-382.

- 51- Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2004;44:275–295.
- 52- Matés JM, Sanchez-Jiménez F. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosci* 1999;4:D339–D345.
- 53- Seven A, Candan G. Antioxidan defense systems. *Cerrahpasa J Med* 1996;27:41–50.
- 54- Tian WN, Braunstein LD, Apse K, Pang J, Rose M, Tian X, Stanton RC. Importance of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cell death. *Am J Physiol* 1999;276:C1121-C1131.
- 55- Aviram M. Does paraoxonase play a role in susceptibility to cardiovascular disease? *Mol Med Today* 1999;5:381-386.
- 56- Aviram M, Billecke S, Sorenson R, Bisqaier C, Newton R, Rosenblat M, Eroqul J, Hsu C, Dunlop C, La Du B. Paraoxonase active site required for protection against LDL oxidation involves its free sulfhydryl group and is different from that required for its arylesterase/paraoksonase activities: Selective action of human paraoksonase allozymes Q and R. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1617-1624.
- 57- Steinberg D. Is there a potential therapeutic role for vitamin E or other antioxidants in atherosclerosis? *Curr Opin Lipitol* 2000;11:603-607.
- 58- Mendiratta S, Qu ZC, May JM. Enzyme Dependent Ascorbate Recycling in Human Erythrocytes: Role of Thioredoxin Reductase Free Radic Biol Med 1998;25:221-228.
- 59- Gruszecki WI, Strzalka K. Carotenoids as modulators of lipit membrane physical properties. *Biochim Biophys Acta* 2005;1740:108-115.
- 60- Dröge W, Schulze-Osthoff K, Mihm S, Galter D, Schenk H, Eck HP, Roth S, Gmünder H. Functions of glutathione and glutathione disulfide in immunology and immunopathology. *FASEB J* 1994;8:1131–1138.
- 61- Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1999;31:273–300.
- 62- Haddad JJ, Olver RE, Land SC. Antioxidant/pro-oxidant equilibrium regulates HIF-1 alpha and NF-kappa B redox sensitivity. Evidence for inhibition by

glutathione oxidation in alveolar epithelial cells, *J Biol Chem* 2000;275:21130–21139.

63- Becker BF, Reinholz N, Leipert B, Raschke P, Permanetter B, Gerlach E. Role of uric acid as an endogenous radical scavenger and antioxidant. *Chest* 1991;100:176S-181S.

64- Stocker R. Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal* 2004;6:841-849.

65- Aydoğan S, Yerer Betül M, Göktaş A. Melatonin and nitric oxide. *J Endocrinol Invest* 2006;29:281-287.

66- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74:139-162.

67- Memişoğulları R, Bakan E. Levels of ceruloplasmin, transferrin, and lipid peroxidation in the serum of patients with Type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2004;18:193-197.

68- Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005;53:4290–4302.

69- Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*. 2000;29:1106–1114.

70- Yeum KJ, Russell RM, Krinsky NI, Aldini G. Biomarkers of antioxidant capacity in the hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Arch Biochem Biophys* 2004;430:97–103.

71- Baud L, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986;251:F765-F776.

72- Nath KA, Croatt AJ, Hostetter TH. Oxygen consumption and oxidant stress in surviving nephrons. *Am J Physiol* 1990;258:F1354-F1362.

73- Waz WR, Feld LG. Reactive oxygen molecules in the kidney. *Adv Exp Med Biol* 1994; 366:171-183.

74- Stratta P, Canavessa C, Dogliani M, Mazzucco G, Monga G, Vercellone A.

The role of free radicals in the progression of renal disease. *Am J Kid Diseases* 1991;17:33-37.

- 75- Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull* 1993; 49:621-629.
- 76- Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatri Nefrol* 1991;5:733-742.
- 77- Andreoli SP, McAteer JA. Reactive oxygen molecule-mediated injury in endothelial and renal tubular epithelial cells in vitro. *Kidney Int* 1990;38:785-794.
- 78- Rovin BH, Wurst E, Kohan DE. Production of reactive oxygen species by tubular epithelial cells in culture. *Kidney Int* 1990;37:1509-1514.
- 79- Greene EL, Paller MS. Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1991;17:124-132.
- 80- Boyce NW, Tipping PG, Holdsworth SR. Glomerular macrophages produce reactive oxygen species in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 1989;35:778-782.
- 81- Shah SV. Role of reactive oxygen metabolites in experimental glomerular disease. *Kidney Int* 1989;35:1093-1106.
- 82- Rabl H, Khoschorur G, Colombo T, Petritsch P, Rauchenwald M, Költringer P, Tatzber F, Esterbauer H. A multivitamin infusion prevents lipid preoxidation and improves transplantation performance. *Kidney Int* 1993; 43: 912-917.
- 83- Paller MS, Neumann TV: Reactive oxygen species and rat renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation *Kidney Int* 1991;40:1041-1049.
- 84- Johnson RJ, Klebanoff SJ, Ochi RF, Adler S, Baker P, Sparks L, Couser WG. Participation of the myeloperoxidase-H₂O₂-halide system in immune complex nephritis. *Kidney Int* 1987;32:342-349.
- 85- Parvez Z, Rahman M, Moncada R. Contrast media-induced lipid peroxidation in the rat kidney. *Invest Radiol* 1989;24:697-702.
- 86- Nath KA, Paller MS. Dietary deficiency of antioxidants exacerbates ischemic injury in the rat kidney. *Kidney Int* 1990;38:1109-1117.
- 87- Ichikawa I, Kiyama S, Yoshioka T. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int* 1994; 45:1-9.
- 88- Singh I, Gulati S, Orak JK, Singh AK. Expression of antioxidant enzymes in rat kidney during ischemia-reperfusion injury. *Mol Cell Biochem* 1993;125:97-104.

- 89- Auborg P. Colibacillose aigue, colibacillose chronique: ameliorations cliniques notables par un traitement d'ozone. Bull Mem Paris 1936;140:644-645.
- 90- Viebahn-Haensler R. Ozonun Tıpta Kullanımı. 4. Baskı, İstanbul, Yelken Basım, 2006.
- 91- Buckley RD, Hackney JD, Clark K, Posin C. Ozone and human blood. Arch Environ Health 1975;30:40-43.
- 92- Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. Hematologica 1990;75: 510-515.
- 93- Di Paolo N, Gaggiotti E, Galli F. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation: clinical and biological implications of ozone therapy. Redox Rep 2005; 10:121–30.
- 94- León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, Cruz E, Bocci V. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. Mediators Inflamm 1998;7:289-294.
- 95- Schaur RJ. Basic aspects of the biochemical reactivity of 4-hydroxynonenal. Mol Aspects Med 2003;24:149–59.
- 96- Di Paolo N, Bocci V, Gaggiotti E. Ozone therapy. Int J Artif Organs 2004;27:168–75.
- 97- Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. Arch Med Res 2006;37:425–35.
- 98- Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. Methods Enzymol 1994;234:279–93.
- 99- Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. FEBS Lett 2000;486:10–13.
- 100- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. Mediators Inflamm 2000;9:271-276.
- 101- Bocci V, Aldinucci C, Mosci F et al. Ozonation of human blood induces a remarkable upregulation of heme oxygenase-1 and heat stress protein-70. Mediators Inflamm. 2007; 2007:1–6.
- 102- Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. Toxicol Appl Pharmacol 2006;216:493–504.

- 103- Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. *Mediators Inflamm* 1999;8:205–209.
- 104- Travagli V, Zanardi I, Silvietti A, Bocci V. A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood. *Int J Biol Macromol* 2007;41:504–511.
- 105- Stübinger S, Sader R, Filippi A. The use of ozone in dentistry and maxillofacial surgery: a review. *Quintessence Int* 2006;37:353–359.
- 106- Nogales CG, Ferrari PH, Kantorovich EO, Lage-Marques JL. Ozone therapy in medicine and dentistry. *J Contemp Dent Pract* 2008;9:75–84.
- 107- Martínez-Sánchez G, Al-Dalain SM, Menéndez S Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, Alvarez H, Fernández-Montequín JI, León OS. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol* 2005;523:151-61.
- 108- Bocci V, *Ozone a new medical drug*. Dordrecht, Springer, 2005.
- 109- Rilling S: The basic clinical applications of ozone therapy. *Ozonachrichten* 1985;4:7-17.
- 110- Briccoli A. *Ozone in the treatment of drinking water*. Monaco, International Ozone Association, 1991.
- 111- Ramirez D, González R, Merino N, Rodriguez S, Ancheta O. Inhibitory effects of Spirulina in zymosan-induced arthritis in mice. *Mediators Inflamm* 2002;11:75-79.
- 112- Di Paolo N, Bocci V, Garosi G, Borrelli E, Bravi A, Bruci A, Aldinucci C, Capotondo L. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO) in man. *Int J Artif Organs* 2000;23:131-41.
- 113- Otterbein LE, Soares MP, Yamashita K, Bach FH. Heme oxygenase–1: unleashing the protective properties of heme. *Trends Immunol.* 2003;24:449–455.
- 114- Bach FH. Heme oxygenase–1: a therapeutic amplification funnel. *FASEB J* 2005;19:1216-1219.
- 115- Nathan C. Immunology. Catalytic antibody bridges innate and adaptive immunity; *Science* 2002;298: 2143-2144.
- 116- Wentworth P Jr, McDunn JE, Wentworth AD, Takeuchi C, Nieva J, Jones T, Bautista C, Ruedi JM, Gutierrez A, Janda KD, Babior BM, Eschenmoser A, Lerner RA. Evidence for antibodycatalyzed ozone formation in bacterial killing and inflammation. *Science.* 2002;298: 2195-2199.

- 117- Bocci V. Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. *Arc Med Res* 2007;38:265-267.
- 118- Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol* 2005;153:1096-1100.
- 119- Guven A, Gundogdu G, Sadir S, Topal T, Erdogan E, Korkmaz A, Surer I, Ozturk H. The efficacy of ozone therapy in experimental caustic esophageal burn. *J Pediatr Surg* 2008;43:1679-1684.
- 120- Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol* 2001;54:176-186.
- 121- Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ (Eds). *Clinical Chemistry*. 3th ed. St. Louis, Mosby Inc. 1996; 765-777.
- 122- Bocci V, Aldinucci C. Rational bases for using oxygen-ozone therapy as a biological response modifier in sickle cell anemia and β -thalassemia: A therapeutic perspective. *J Biol Regul Homeost Agents* 2004;18:38-44.
- 123- León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, Cruz E, Bocci V. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators Inflamm* 1998;7:289-294.
- 124- Wright CE, Tallan HH, Lin YY, Gaul GE. Taurine biological update. *Annu Rev Biochem* 1986; 55, 427-453.
- 125- Huxtable R. Physiological actions of taurine. *Physiol Rev* 1992;72:101-163.
- 126- Jacobsen JG, Smith LH. Biochemistry and physiology of taurine and taurine derivatives. *Physiol Rev* 1968;48:424-451.
- 127- Gruener R, Markovitz D, Huxtable R, Bressler R. Excitability modulation by taurine. *J Neurol Sci* 1975;24:351-360.
- 128- Chesney RW. Taurine: Its biological role and clinical implications. *Adv Pediatr* 1985;32:1-42.
- 129- Redmond HP, Stapleton PP, Neary P, Bouchier-Hayes D. Immunonutrition: the role of taurine. *Nutrition* 1998;14:599-604.
- 130- Hirschberger LL, De La Rosa J, Stipanuk MH. Determination of cysteinesulfinate, hypotaurine and taurine in physiological samples by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1985;343:303-313.

- 131- Schaffer SW, Azuma J. Review: Myocardial physiological effect of taurine and their significance. *Adv Exp Med Biol* 1992;315:105-120.
- 132- Birdsall TC. Therapeutic applications of taurine. *Altern Med Rev* 1998;3:128-136
- 133- Lourenço R, Camilo ME. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr Hosp* 2002;17:262-270.
- 134- Tappaz ML. Taurine biosynthetic enzymes and taurine transporter: molecular identification and regulations. *Neurochem Res* 2004;29:83-96.
- 135- Schuller-Levis GB, Park E. Taurine and its chloramine: modulators of immunity. *Neurochem Res* 2004;29:117-126.
- 136- Kim C, Chung JK, Jeong JM, Chang YS, Lee YJ, Kim YJ, Lee MC, Koh CS, Kim BK. Uptake of taurine and taurine chloramine in murine macrophages and their distribution in mice with experimental inflammation. *Adv Exp Med Biol* 1998;442:169-176.
- 137- Bridges CC, Ola MS, Prasad PD, El-Sherbeny A, Ganapathy V, Smith SB. Regulation of taurine transporter expression by NO in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;281:1825-1836.
- 138- Bouckenoghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient?. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2006;9:728-733.
- 139- Heller-Stilb B, Van Roeyen C, Rascher K, Hartwig HG, Huth A, Seeliger MW, Warskulat U, Häussinger D. Disruption of the taurine transporter gene (taut) leads to retinal degeneration in mice. *FASEB J* 2002;16: 231–233.
- 140- Han X, Patters AB, Jones DP, Zelikovic I, Chesney RW. The taurine transporter: mechanisms of regulation. *Acta Physiol* 2006;187:61-73.
- 141- Redmond HP, Stapleton PP, Neary P, Bouchier-Hayes D. Immunonutrition: the role of taurine. *Nutrition* 1998;14:599-604.
- 142- Huxtable R, Bressler R. Effect of taurine on a muscle intracellular membrane. *Biochim Biophys Acta* 1973;323:573-583.
- 143- De la Puerta C, Arrieta FJ, Balsa JA, Botella-Carretero JJ, Zamarrón I, Vázquez C. Taurine and glucose metabolism: a review. *Nutr Hosp* 2010;25:910-919.
- 144- Hamaguchi T, Azuma J, Schaffer S. Sarcolemmal action of taurine linked to altered phospholipid N- methylation. *Adv Exp Med Biol* 1992;315:121-128.

- 145- Hansen SH. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev* 2001;17:330-346.
- 146- Cherif H, Reusens B, Dahri S, Remacle C, Hoet JJ. Stimulatory effects of taurine on insulin secretion by fetal rat islets cultured in vitro. *J Endocrinol* 1996;151:501-506.
- 147- Harada H, Cusack BJ, Olson RD, Stroo W, Azuma J, Hamaguchi T, Schaffer SW. Taurine deficiency and doxorubicin: interaction with the cardiac sarcolemmal calcium pump. *Biochem Pharmacol* 1990;39:745-751.
- 148- Egan BM, Abdih H, Kelly CJ, Condron C, Bouchier-Hayes DJ. Effect of intravenous taurine on endotoxin-induced acute lung injury in sheep. *Eur J Surg* 2001;167:575-580.
- 149- Grisham MB, Granger DN. Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. *Clin Chest Med* 1989;10:71-81.
- 150- Schurr A, Tseng MT, West CA, Rigor BM. Taurine improves the recovery of neuronal function following cerebral hypoxia: an invitro study. *Life Sci* 1987;40:2059-2066.
- 151- Nakamari K, Koyama I, Nakamura T, Yoshida T, Umeda M, Inoue K. Effectiveness of taurine in protecting biomembrane against oxidant. *Chem Pharm Bull* 1990;38:3116-3119.
- 152- Marcinkiewicz J, Chain B, Nowak B, Grabowska A, Bryniarski K, Baran J. Antimicrobial and cytotoxic activity of hypochlorous acid: interactions with taurine and nitrite. *Inflamm Res* 2000;49:280-289.
- 153- Thomas EL, Grisham MB, Melton FD, Jefferson MM. Evidence for a role of taurine in the *in vitro* oxidative toxicity of neutrophils toward erythrocytes. *J Biol Chem* 1985;260:3321-3329.
- 154- Stapleton PP, Charles RP, Redmond HP, Bouchier-Hayes DJ. Taurine and human nutrition. *Clin Nutr* 1997;16:103-108.
- 155- Airaksinen EM, Paljarvi L, Partanen J, Collan Y, Laakso R, Pentikäinen T. Taurine in normal and diseased human skeletal muscle. *Acta Neurol Scand* 1990;81:1-7.
- 156- Hochachka PW. Defensive strategies against hypoxia and hypothermia. *Science* 1986;231:234-241.

- 157- Velazquez A, Delgado NM, Rasodo A. Taurine content and amino acid composition of human acrosome. *Life Sci* 1986;38:991-995.
- 158- Aruoma O, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochem J* 1988;256:251-255.
- 159- Tseng M, Liu KN, Radtke NR. Facillilated ERG recovery in taurine treated bovine eyes, ex vivo study. *Brain Res* 1990;509:153- 155.
- 160- Mrsny RJ, Meizel S. Inhibition of hamster sperm Na^+ , K^+ -ATPase activity by taurine and hypotaurine. *Life Sci* 1985;36:271-275.
- 161- Petrosian AM, Haroutounian JE. Taurine as a universal carrier of lipid soluble vitamins: a hypothesis. *Amino Acids* 2000;19:409-421.
- 162- Sharples EJ, Patel N, Brown P, Stewart K, Mota-Philipe H, Sheaff M, Kieswich J, Allen D, Harwood S, Raftery M, Thiemermann C, Yaqoob MM. Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia-reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:2115-2124.
- 163- Yagi K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal and pancreatic diseases. *Adv Exp Med Biol* 1994;366:165-169.
- 164- Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A rapid simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 2001;5:62-71.
- 165- Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968;25:192-205.
- 166- Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993;26:351-357.
- 167- Ray G, Batra S, Shukla NK, Deo S, Raina V, Ashok S, Husain SA et al. Lipit peroxidation, free radical production and antioxidant status in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2000;59:163–170.
- 168- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, ed 2. Oxford, Clarendon Press, 1989.
- 169- Rikans LE, Hornbrook KR. Lipid peroxidation, antioxidant and aging. *Biochim Biophys Acta* 1997;362:116-127.
- 170- Aksoy Y, Malkoc I, Atmaca AF, Aksoy H, Altinkaynak K, Akcay F. The effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on antioxidant enzymes in erythrocytes. *Cell Biochem Funct* 2006;24:467-469.

- 171- Li X, He D, Zhang L, Cheng X, Sheng B, Luo Y. A novel antioxidant agent, astragalosides, prevent shock wave-induced renal oxidative injury in rabbits. *Urol Res* 2006;34:277-282.
- 172- Al-Awadi KA, Kehinde EO, Loutfi I, Mojiminiyi OA, Al-Hunayan A, Abdul-Halim H, Al-Sarraf A, Memon A, Abraham MP. Treatment of renal calculi by lithotripsy: minimizing short-term shock wave induced renal damage by using antioxidants. *Urol Res* 2008;36:51-60.
- 173- Serel TA, Ozguner F, Soyupek S. Prevention of shock wave-induced renal oxidative stress by melatonin: an experimental study. *Urol Res* 2004;32:69-71.
- 174- Biri H, Oztürk HS, Büyükkoçak S, Kaçmaz M, Cimen MY, Unal D, Birey M, Bozkirli I, Durak I. Antioxidant defense potential of rabbit renal tissues after ESWL: protective effects of antioxidant vitamins. *Nephron* 1998;79:181-185.
- 175- Hagar HH, El Etter E, Arafá M. Taurine attenuates hypertension and renal dysfunction induced by cyclosporine A in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33:189-196.
- 176- Park E, Schuller-Levis G, Quinn MR. Taurine chloramine inhibits production of nitric oxide and TNF-alpha in activated RAW 264.7 cells by mechanisms that involve transcriptional and translational events. *J Immunol* 1995;154:4778-4784.
- 177- Cunningham C, Tipton KF, Dixon HB. Conversion of taurine into N-chlorotaurine (taurine chloramine) and sulphoacetaldehyde in response to oxidative stress. *Biochem J* 1998;330:939-945.
- 178- El-Abhar HS, El-Gaward HM. Modulation of cortical nitric oxide synthase, glutamate, and redox state by nifedipine and taurine in PTZ-kindled mice. *Epilepsia* 2003;44 (3):276-281.
- 179- Guz G, Oz E, Lortlar N, Ulusu NN, Nurlu N, Demirogulları B, Omeroglu S, Sert S, Karasu C. The effect of taurine on renal ischemia/reperfusion injury. *Amino Acids* 2007;32:405-411.
- 180- Gürer H, Özgünes H, Saygin E, Ercal N. Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001;41:397-402.
- 181- Andreula CF, Simonetti L, De Santis F, Agati R, Ricci R, Leonardi M. Minimally invasive oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003;24:996-1000.

- 182- Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm* 2004;13:3-11.
- 183- Souza YM, Fontes B, Martins JO, Sannomiya P, Brito GS, Younes RN, Rasslan S. Evaluation of the effects of ozone therapy in the treatment of intra-abdominal infection in rats. *Clinics (Sao Paulo)* 2010;65:195-202.
- 184- Pryor WA. Mechanisms of radical formation from reactions of ozone with target molecules in the lung. *Free Radic Biol Med* 1994;17:451-465.
- 185- Bhalla DK, Gupta SK, Reinhart PG. Alteration of epithelial integrity, alkaline phosphatase activity, and fibronectin expression in lungs of rats exposed to ozone. *J Toxicol Environ Health A* 1999;57:329-343.
- 186- Morsy M, Hassan WN, Zalat SI. Improvement of renal oxidative stress markers after ozone administration in diabetic nephropathy in rats. *Diabetol Metab Syndr* 2010;13:29.
- 187- Barber E, Menéndez S, León OS, Barber MO, Merino N, Calunga JL, Cruz E, Bocci V. Prevention of renal injury after induction of ozone tolerance in rats submitted to warm ischaemia. *Mediators Inflamm* 1999;8:37-41.