



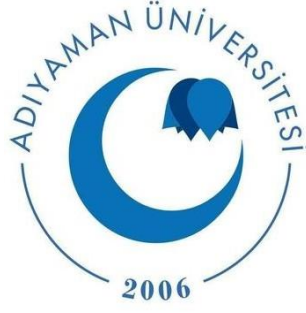
**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DİKLOFENAK SODYUM UYGULANMIŞ SIÇANLARIN BÖBREK
DOKULARINDA PODOKALİKSİN VE ÜROTENSİN-2 DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. EDA NACAR**

**DANIŞMAN
PROF.DR. RAMAZAN ULU**

ADYAMAN - 2024



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

**DİKLOFENAK SODYUM UYGULANMIŞ SIÇANLARIN BÖBREK
DOKULARINDA PODOKALİKSİN VE ÜROTENSİN-2 DÜZEYLERİNİN
İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. EDA NACAR

DANIŞMAN

PROF.DR. RAMAZAN ULU

ADYAMAN - 2024

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Ramazan ULU danışmanlığında Dr. Eda NACAR tarafından yapılan “Diklofenak sodyum uygulanmış sıçanların böbrek dokularında Podokaliksin ve Ürotensin-2 düzeylerinin incelenmesi” başlıklı tez çalışması gün/...../..... tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI’NDA TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Ramazan ULU
Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
(İmza)

ÜYE

Doç. Dr. Ayşe Şahin TUTAK
Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
(İmza)

ÜYE

Dr. Öğr. Üyesi Aşkı VURAL
Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
(İmza)

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../....

Prof. Dr. Haydar Bağış
Adıyaman Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması, yönlendirilmesi ve hazırlanmasında katkılardan dolayı tez danışmanım sayın Prof. Dr. Ramazan Ulu ve Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Türk'e;

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesinden yararlandığım tüm saygıdeğer hocalarım ve uzman hekim abi ve ablalarıma;

Birlikte ihtisas eğitimi aldığım, dertleri ve sevinçleri paylaştığım tüm kıdemli, eş kıdemli ve diğer asistan hekim arkadaşlarıma;

Her zaman yanımda olan desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, emekleri hiç ödenemeyecek olan annem, babam ve kardeşlerime,

Her zaman yanımda olan değerli eşim ve canım kızım Ela'ya teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Eda Nacar

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLOLAR DİZİNİ	vi
ÖZET	vii
İNGİLİZCE ÖZET	viii
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
GEREÇ VE YÖNTEM	35
BULGULAR	39
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR	48

SİMGELER ve KISALTMALAR

AA:	Araşidonik asit
ACTH:	Adrenokortikotropik hormon
AEC:	3-amino-9-ethylcarbazole
COX:	Siklooksijenaz
FÜDAM:	Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
GFR:	Glomerüler filtrasyon hızı
KBH:	Kronik böbrek hastalığı
NO:	Nitrik oksit
NHERF:	Na ⁺ /H ⁺ değiştirici düzenleyici faktör
NSAİİ:	Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaç
PBS:	Phosphate buffered saline
PG:	Prostaglandin
PODXL:	Podokaliksin
ROS:	Reaktif oksijen türleri
TAS:	Total antioksidan seviyesi
TOS:	Total oksidan Seviyesi
U II:	Ürotensin-II
URP:	Ürotensin II related peptid
UTR:	Ürotensin-II reseptörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1	Böbrek kesiti.....	2
Şekil 2	Böbreğin anatomik konumu.....	3
Şekil 3	Böbrek damarlanması ve tübüler yapıları.....	4
Şekil 4	Böbrek yapısı.....	5
Şekil 5	Nefron yapısı.....	7
Şekil 6	Diklofenak sodyum formülü.....	13
Şekil 7	Diklofenak sodyumun asidik koşullarda siklizasyon reaksiyonu.....	15
Şekil 8	Oksidan ile antioksidan dengesi.....	17
Şekil 9	Risk altındaki hastalarda NSAİİ'lerin kompansetuvar mekanizmalar üzerine etkileri.....	21
Şekil 10	Renal dokunun Hematoksilen&eozen boyama altında incelenmesi.....	39
Şekil 11	Böbrek dokusunda PODXL için immünohistokimyasal boyanma.....	40
Şekil 12	Böbrek dokusunda U II için immünohistokimyasal boyama.....	41

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1 Gebelikte ilaç kullanımları	12
Tablo 2 Diklofenak Sodyumun Özellikleri.....	13
Tablo 3 Oksidatif streste etkili olan ROS ve reaktif nitrojen türleri.....	18
Tablo 4 Türler arasında COX–1 ve COX–2 lokalizasyon farklılıkları.....	26
Tablo 5 COX Enzim Lokalizasyonları ve Muhtemel Fonksiyonları.....	28
Tablo 6 Histolojik Takip Serileri.....	36
Tablo 7 PODXL histoskoru	41
Tablo 8 U II histoskoru	42
Tablo 9 Serum TAS Düzeyi.....	42
Tablo 10 Serum TOS Düzeyi	42

ÖZET

Diklofenak sodyum uygulanmış sıçanların böbrek dokularında Podokaliksin ve Ürotensin-2 düzeylerinin incelenmesi

Dr. Eda Nacar

Böbrek kısmen siklooksijenaz (COX) bağımlı bir organdır. PGler böbrekte vasküler direncin ayarlanmasında ve su-tuz homeostazının sağlanmasında glomerül hemodinamisini ve distal nefron fonksiyonlarını düzenleyerek aktif rol alırlar. Fizyolojik fonksiyonları temel olarak COX-1'e dayanan gastrointestinal sistem ve trombositlerin aksine böbreklerde hem COX-1 hem de COX-2 eksprese olmaktadır.

Deneyisel çalışmamızda selektif olmayan bir nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaç olan diklofenak soyumun böbrekte oluşturduğu oksidatif hasarı biyokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle ortaya koymayı amaçladık. Çalışmada 7 adet diklofenak sodyum, 7 adette kontrol grubu olmak üzere 2 gruba ayrılan 14 adet dişi *Wistar Albino* cinsi 14 adet rat kullanıldı. Kontrol grubunda bulunan ratlara 5 günlük deney süresi boyunca her gün 1ml/kg %0,9 salin intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edildi. Diklofenak sodyum grubunda bulunan ratlara ise 50mg/kg diklofenak sodyum 5 gün boyunca her gün intramuskuler (i.m) olarak uygulandı. Sakrifikasyon sonrası biyokimyasal analiz olarak TAS ve TOS analizi yapıldı. TAS düzeyleri, kontrol grubu ile kıyaslandığında diklofenak sodyum grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştı ($p<0,001$). Serum TOS düzeyi ise kontrol grubuna göre diklofenak grubunda istatistiksel olarak artmıştı ($p<0,001$). Doku incelemesi de histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak yapıldı. Kontrol grubuyla kıyaslandığında diklofenak sodyum grubunda glomerullerde belirgin atrofi ve bowman boşluğunda azalma; proksimal ve distal tübül epitelinde dejenerasyon ile yer yer hiyalin kistleri görüldü. İmmünohistokimyasal boyama sonrası Podokaliksin (PODXL) ve Ürotensin II (U II) immünreaktivitesi ve histoskorlaması, çalışma grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olarak tespit edildi ($p<0,001$).

Sonuç olarak diklofenak sodyumun 50 mg/kg/gün dozunda verildiğinde sıçanlarda akut böbrek yetersizliği geliştirdiği, histopatolojik değişiklikler yaptığı; yine PODXL ve U II immunoreaktivitesini çalışma grubunda anlamlı şekilde artırdığı sonuçları elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Diklofenak sodyum, Oksidatif Stres, Podokaliksin, Ürotensin II.

SUMMARY

Investigation of Podocalyxin and Urotensin-2 levels in kidney tissues of rats treated with diclofenac sodium

Dr Eda Nacar

The kidney is a partially cyclooxygenase (COX)-dependent organ. PGs play an active role in the regulation of vascular resistance in the kidney and in the provision of water-salt homeostasis by regulating glomerular hemodynamics and distal nephron functions. Unlike the gastrointestinal system and platelets, whose physiological functions are primarily based on COX-1, both COX-1 and COX-2 are expressed in the kidneys.

In our experimental study, we aimed to reveal the oxidative damage caused by diclofenac sodium, a non-selective nonsteroidal anti-inflammatory drug, in the kidney by biochemical and immunohistochemical methods. In the study, 14 female Wistar Albino rats, divided into 2 groups, 7 diclofenac sodium and 7 control, were used. Rats in the control group were injected with 1ml/kg 0.9% saline intraperitoneally (i.p) every day for 5 days. Rats in the diclofenac sodium group were administered 50mg/kg diclofenac sodium intramuscularly (i.m) every day for 5 days. After sacrificing, TAS and TOS were performed as biochemical analyses. TAS levels were statistically significantly decreased in the diclofenac sodium group compared to the control group ($p<0.001$). Serum TOS levels were statistically significantly increased in the diclofenac group compared to the control group ($p<0.001$). Histopathological and immunohistochemical examinations were also performed. Compared to the control group, marked atrophy in the glomeruli and a decrease in Bowman's space; degeneration in the proximal and distal tubule epithelium and hyaline cysts were observed in the diclofenac sodium group. After immunohistochemical staining, Podocalyxin (PODXL) and Urotensin II (U II) immunoreactivity and histoscore were found to be statistically significantly increased in the study group ($p<0.001$).

As a result, it was obtained that diclofenac sodium, when given at a dose of 50 mg/kg/day, developed acute renal failure in rats, caused histopathological changes, and also significantly increased PODXL and U II immunoreactivity in the study group.

Key words: Diclofenac sodium, Oxidative Stress, Podocalyxin, Urotensin II.

GİRİŞ VE AMAÇ

Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanmış hastalarda nefrotoksisite prevalansı görece düşük olmasına rağmen, bu etken maddeli ilaçların toplumda sık kullanımı düşünüldüğünde pek çok kişinin risk altında olduğu anlaşılabilmektedir.

Normal koşullarda böbreğin hemodinamik fonksiyonlarının devamında renal PGlerin rolü çok dominant değildir. Böbreğin perfüzyonunun bozulduğu, azaldığı bazı kardiyak ve renal hastalıklarda, uzun süreli dehidratasyonda ve yaş ile birlikte renal PG üretiminin yeterli gelip gelmediği oldukça önem taşımaktadır. Bu gibi durumlarda NSAİİ kullanımı ile renal PG oluşumunun inhibisyonu ya da negatif yönde etkilenmesi birden fazla renal fonksiyon hasarına sebep olabilmektedir. Sıvı ve elektrolit imbalansı, akut renal bozukluk, renal papiller nekroz, intersitisyel nefrit ve nefrotik sendrom bunlar arasında sayılabilmektedir. NSAİİ kullanımı sonucu renal homeostazın bozulması nedeniyle tansiyon kontrolü, özellikle diüretik, beta bloker ve anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri kullanan hastalarda zorlaşmaktadır.

NSAİİ'ler prostanoid oluşumunda kritik enzimler olan COX-1 ve COX -2'ye antagonist etki göstermektedirler. Böbrekte kortikal ve medüller bölgede farklı düzeylerde bulunabilen bu enzimler aynı etkilere değişik yanıtlar verebilmektedirler. Bu iki enzim inhibisyon yoluyla sadece prostanoid düzeyini azaltmakla kalmayıp, eş zamanlı olarak renal vasküler tonisite ve renin-anjiyotensin-aldosteron yolağı ile de etkileşerek renal dokuda birçok patofizyolojik süreçte rol oynayabilmektedirler.

Mevcut deneysel çalışmamızda nonselektif bir nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaç olan diklofenak sodyumun böbrek dokusunda histolojik inceleme sonrası PODXL ve U II düzeyleri üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

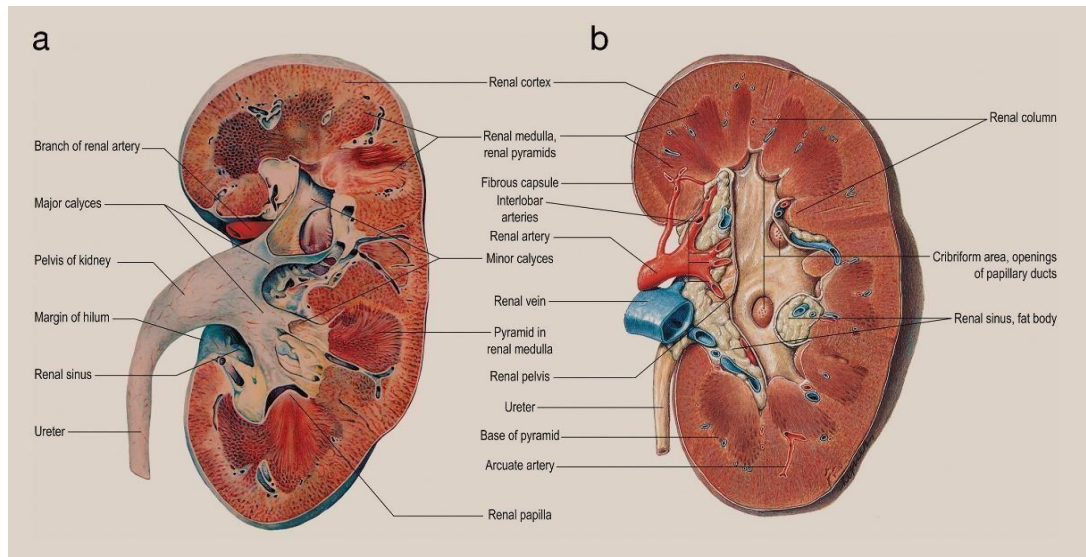
GENEL BİLGİLER

BÖBREK

Böbreğin Anatomisi

Böbrek, etrafını tamamen saran bir kapsül bulunan solid bir organdır. Parankimi ince fibroelastik bir yapıdan oluşur. Her iki böbreğin de medial yüzeyinde renal sinüse açılan bir çöküntü şeklinde hilumu vardır. Böbrek parankimi ile çevrili olan hilum, üriner toplayıcı yapıları, sinirleri ve böbrek damarlarını içeren toplayıcı bir havza görevi üstlenmektedir (1).

Retroperitoneal bölgede yerleşik olan böbrekler retroperitoneal yerleşimli olup, 3. lomber ile 12. torakal vertebralar arasında, psoas kaslarının lateralinde bulunan kahverengi renkte organlardır (2,3). Sağ böbrek, karaciğerin kütlesinden dolayı sıklıkla sola göre daha aşağıda lokalize olmaktadır. Her iki böbreğin de eksenleri, alt kutupları orta hattın daha uzakta ve üst kutuplardan daha önde olacak şekilde olup oblik olarak yerleşmişlerdir (1). Böbrekler kendisini mekanik etkilerden koruyan retroperitoneal yağ dokusu ile çevrili şekilde bulunmaktadırlar (3).



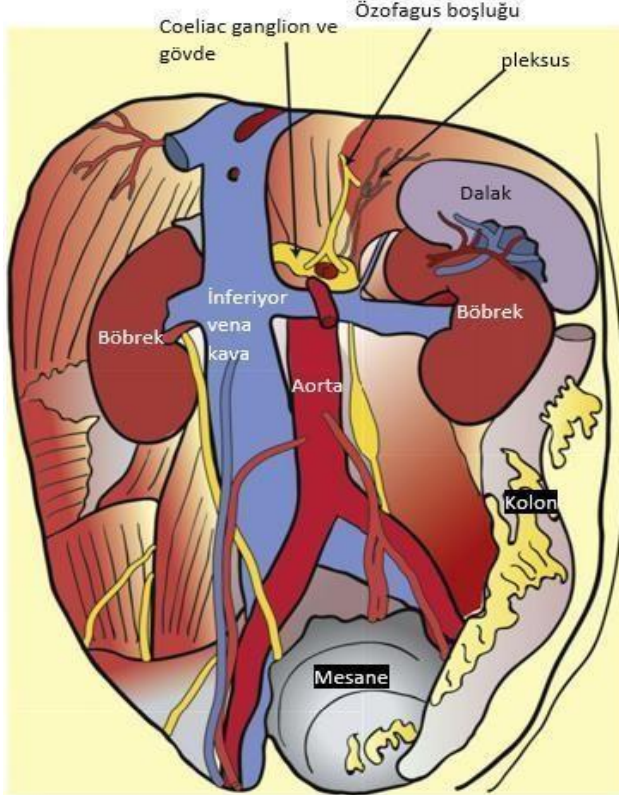
Şekil 1. Böbrek kesiti (Mahadevan V, 2019).

Böbrekleri sabitleyen yapılar

Böbrekler kısmi mobilize yapılardır ve solunum sırasında pozisyonları değişebilmektedir (1). Böbrekte fonksiyon bozukluğu oluşmaması için bu mobilitenin kısmi seviyede olması ve diğer faktörlerden kaynaklı yer değişikliği göstermemesi için sabit kalması gerekir. Bu sabitlenmeyi sağlayan majör oluşumlar damarların asma kuvveti ve fascia renalistir. Bunlara ek olarak paranteral yağ tabakası ve capsula adiposa'da bu işlevde görev üstlenmektedir (5).

Komşulukları

Böbreküstü bezleri adından da anlaşılacağı üzere suprarenal bölgede bulunmaktadır. Sağ böbreğin alt lobu sağ kolonik fleksura ve ince bağırsaklar ile komşuluk göstermekteyken, üst lobu duodenumun retroperitoneal kısmı ve karaciğer ile komşudur. Sol böbrekte ise alt kısım jejunum ve kolonik fleksura ile komşu iken üst kısmı mide, böbrek üstü bezleri, damarlar, dalak ve retroperitoneal pankreas ile yakınlık göstermektedir (3).

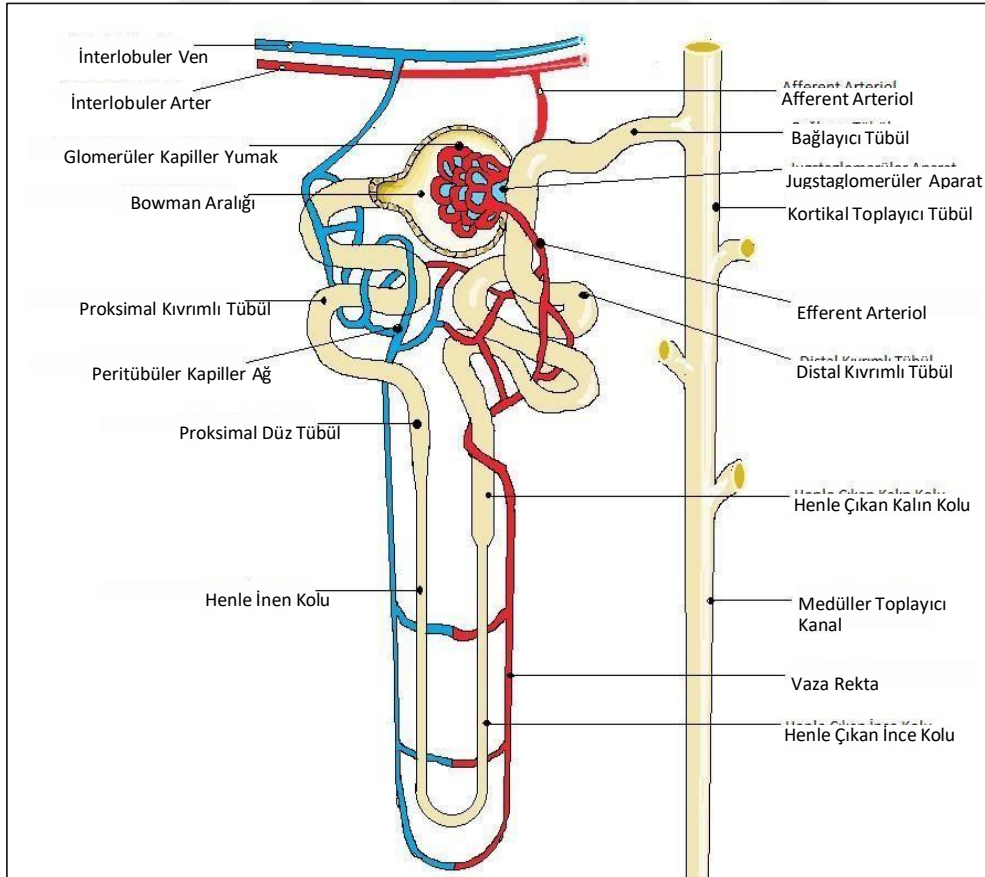


Şekil 2. Böbreğin anatomik konumu (Wood D et al.,2013).

Damarlanma ve kanlanma

Kalp debisinin yaklaşık %20'si böbreğe kan akımı olarak gelir (6). Her böbreğe bir renal arter tarafından kan akışı sağlanmaktadır. Sağ ve sol renal arterler, doğrudan abdominal aortun lateral kısmından, superior mezenterik arterin çıkış seviyesinin altında belirip ortaya çıkarlar. Sağ renal arter genellikle sol renal arterden biraz daha yüksek bir seviyede ortaya çıkıp görünür. Renal hiluma yaklaştıkça her renal arter bir ön bölüme ve bir de arka bölüme ayrılır. (4).

Özel bir sistemden oluşan böbrek kan dolaşımı peritübüler ve glomerüler olarak iki ayrı kapiller yatağa sahiptir. Efferent arteriyol hidrostatik basıncı düzenler ve bu iki yatağı ayırır. Hızlı filtrasyon işlemi yüksek hidrostatik basınçta (60 mmHg) sahip olan glomerüler kapillarda yapılabiliyor iken, sıvının hızlı geri Emilimi ise daha düşük basınçlı (13 mmHg) peritübüler kapillerde gerçekleşir. Bu sayede böbrekler vücudun homeostatik dengesini ayarlayabilmektelerdir (6).



Şekil 3. Böbrek damarlanması ve tübüler yapıları (Erken E ve ark.,2017).

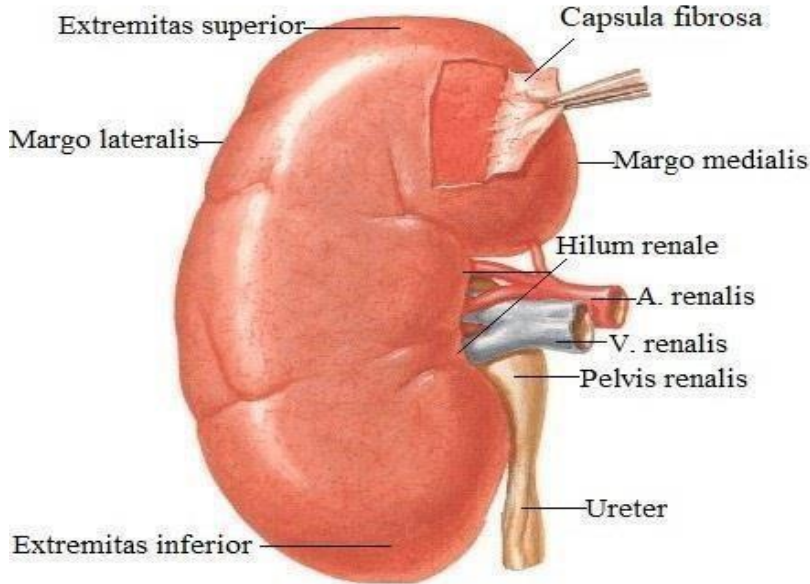
Böbreğin Endokrin Gelişimi

Doğum öncesi dönemde böbrekler amniyon sıvı üretimi sağlarken homeostaz kontrol görevi plasenta tarafından yapılabilmektedir. Ana görevi boşaltım olan böbrekler, ek olarak endokrin bir organ olarak da hormon salgılayabilmektedir (7).

Böbrekten salınan hormonlar arasında renal PGler, renin- anjiyotensin sistemi, kinin-kallikrein sistemi, antihipertansif lipid, renal dopamin, histamin ve serotonin bulunmaktadır (8,9).

Sıçan Böbrek Anatomisi

Retroperitoneal yerleşimli, periton ile çevrili olan sıçan böbrekleri ortalama 2 cm uzunluk, 1,5 cm genişlik, 1 cm kalınlık ve 0,73-1,2 g ağırlığındadır (3,10). Korteks ve medulla olarak iki bölümden oluşur. Medulla korteksin 2 katı büyüklüğündedir. Sıçan böbreğinde 1 adet papilla, 30 000 adet civarı da nefron bulunur (11).



Şekil 4. Böbrek yapısı (Netter FH, 1989).

Böbrek Histolojisi

Böbrek tubulünün bölümleri;

I- Nefron

- A. Böbrek Cisimciği (Malpigi cisimciği)
 - 1. Glomerulus
 - a. Glomerular Ağ (kapillar ağ)
 - b. Mezangiyum
 - 2. Glomerular kapsül (Bowman Kapsülü)
- B. Proksimal Kıvrımlı Tubul
- C. Proksimal Düz Tubul
- D. İnce Tubul (Hanle kulpu)
 - 1. İnen Bölüm (Desending bölüm)
 - 2. Çıkan Bölüm (Assending bölüm)
- E. Distal Düz Tubul
- F. Distal Kıvrımlı Tubul

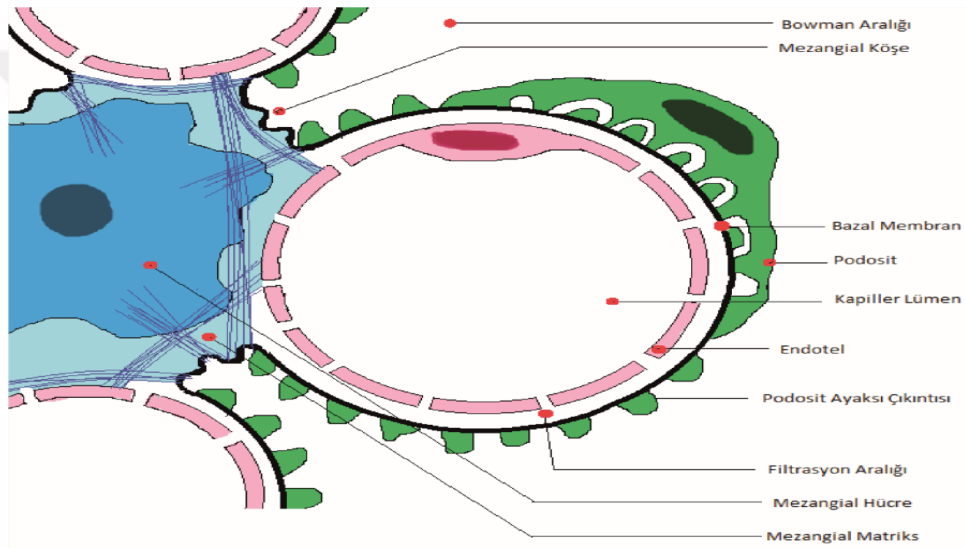
II- Toplayıcı Borucuklar

- A. Tubulus Konnektivus
- B. Tubulus Kollektivus
 - 1. Kortikal Tubulus Kollektivus
 - 2. Dış Medullar Tubulus Kollektivus
 - 3. İç Medullar Tubulus Kollektivus

Nefron

Her böbrekte yaklaşık 1.000.000 adet civarında bulunan ve kendini yenileme özelliği taşımayan nefron, fonksiyonel olan en küçük yapıdır. Bir nefron yapısal olarak corpusculum renale, ansa nephroni, tubulus contortus proximalis ve tubulus contortus distalis kompartmanlarından oluşmaktadır. Temel olarak bir nefronu malpighi cisimciği ve tubuler sistem oluşturmaktadır (13). Arteriola glomerularis

afferens ve efferens'in oluşturduğu bir kapiller yumağı olan glomerul ve bowman kapsülü malpigi cisimciğini oluşturmaktadır. Glomeruler kapillerde filtrasyon gören idrar önce bowman kapsülüne, oradan ise tubulus proksimaline akar. Tubulus proksimalis'in düz kısmı henle kulpu'nun inen kalın kolu olarak adlandırılır ve bu yapının devamı ise tubulus distalis adını alır. Tubulus proksimalis'e gelen idrar, tubulus distalis ve henle kulpundan oluşan idrar kanalcığına ulaşır. Kalın toplayıcı kanallar ise idrar kanalcıklarının kombinasyonu ile oluşur (3,5,12,14,15).



Şekil 5. Nefron yapısı (Erken E ve ark.,2017).

Böbrek Cisimciği

Kortikal labirente gelen kanın süzülmesi işlevini gösteren küre benzeri şekilli cisimciğdir. Yuvarlak bir şekil göstermekte olup vasküler kutup ve idrar kutbu isminde iki adet kutup noktası bulunmaktadır (16).

Glomerulus

Glomerulus, böbrek cisimciğinin oluşmasında rol oynayan bowman kapsülü içinde bulunan kompleks bir oluşumdur. Yumak bir görüntüsü bulunan, içinde aferent ve eferent arteriyoller yapılarını barındıran kritik bir oluşumdur. Akuaporin-1 kanallarında suyun geçişi sağlanır. PG ve nitrik oksit (NO) salınım yetkinlikleri bulunmaktadır. Glomerüler geçirgenliğin spesifite ve selektivitesine “-” yüklü olmalarıyla önemli katkıda bulunurlar (17).

Glomerular Kapsül (Bowman Kapsülü)

Glomerulusu sarmalayan bu kapsül nefronların proksimal kısımlarında yerleşmiştir. Çift yapraktan meydana gelen bu yapının visseral yaprağı glomerular bazal membranın eksternal yüzeyinde bulunur ve podosit hücrelerini barındırır. Bu podosit hücreler polarize yapıdadır ve sitoplazmalarında mikrotubuluslar, ribozom ve mikrofilamentler bulundurmaktadır. Visseral yaprağın devamı olan pariyetal yaprak ise tek katlı yassı epitel hücrelerden oluşur. İki tabaka arasından süzülen sıvının birikim yaptığı idrar boşluğu vardır (16).

Proksimal Kıvrımlı Tubul

Proksimal kıvrımlı tubul, emilim görevinin başladığı lokalizasyondur ve bu kısımda birçok mikrovillus bulunur. Amino asit ile glikozun tamamı, bir kısım su ve sodyum klorür bu bölgede emilip elimine olmaktadır. Bunlara ek olarak kalsiyum ile fosfat emilimi de burada gerçekleşmektedir (13).

Proksimal Düz Tubul

Proksimal düz tubul, dış medulla ve medullar radyus'a kadar uzanmaktadır. Boyutları proksimal kıvrımlı tubula oranla görece daha kısa olduğu için kortikal labirentte daha az bulunur. Birçok spesifik özelliği kıvrımlı tubullere benzemesine rağmen fırçamsı kenarları bulunmamaktadır, çekirdek sayıları daha fazla ancak daha az gelişmişlerdir. Henle kulpunun baş kısmını oluşturan proksimal düz tubuller medulla kısmına doğru devam ederek ince tubulün başlangıcında sonlanmaktadır (16,18).

İnce Tubul (Henle Kulpu)

Genel olarak işlevi gelen suyun tutulup vücuttaki suyu muhafaza etmek olan henle kulpu dört farklı bölümden oluşmaktadır. Sadece elektron mikroskopu ile ayırt edilen bu kısımlar kalın inen kol, ince inen kol, ince çıkan kol ve kalın çıkan kol olarak farklı şekilde isimlendirilirler. U harfi şeklinde oluşum gösteren bu yapı farklı boylarda olabilir ve nefronun inen, çıkan kolunu meydana getirmektedir (8,16).

Distal Kıvrımlı Tübül

Kıvrımlı yapıda olan bu tübül boyutsal olarak kıvrımlı proksimal tübülden daha kısadır ve tek katlı basit kübik epitelden oluşmaktadır (16,19).

Toplayıcı Borucuklar

Boşaltıcı kanal sisteminin başlangıcı, idrarın kollekte edildiği, kortikal labirint içinde bulunan ve idrar asiditesi ve konsantrasyonunun şekillendiği önemli terminal bölgedir. Tek katlı kübik epiteller ile örtülü olup, anti diüretik hormon salgılayarak geri emilimin artmasını sağlamaktadır. Medullar ve kortikal diye iki farklı kısmı bulunmakta ve bu kısımların ayırt edilmesi zordur (16,19).

Böbreğin Fizyolojisi

Multifoksiyonel işlevi olan böbrekler filtrasyon, emilim, salgılama ve metabolik atıkların uzaklaştırılması için önemli bir boşaltım organı olarak görev yapmaktadır. İnternal ortam homeostaz görevi sağlayan böbrekler bedendeki tüm dokuların hemodinamik sabitliğini sağlarlar. Sinir, kardiyovasküler ve endokrin sistem ile kolloberasyon yaparak vücut sıvı içeriklerini, elektrolit dengesini sabit tutmaya çalışırlar. Böbrek fonksiyonlarında yaşanan tam kayıplar sonucunda yaklaşık yedi gün içinde ölüm görülürken, kısmi fonksiyon kayıplarında kreatinin ve üre kan konsantrasyonlarında artış, önemli toksisite birikimi, azotemi, uyuşukluk, iştahsızlık, mukozal ülserler, kusma, ishal, kilo kaybı ve anemi görülebilir (20).

Vücut için anormal gelişmelerin olduğu zaman dilimlerinde su ve birçok elektrolit böbrekler vasıtasıyla korunur. Vücut sıvılarının işlenmesi sırasında böbrekler, glukoz gibi besinlerin emilimini yapar, hidrojen iyonlarını sekrete ederek veya koruyarak kan pH'sını belirli aralıklar içinde tutar, üre gibi azot metabolizmasının son ürünlerini, kreatinin ve allantoini vücuttan uzaklaştırarak metabolizma stabilizasyonunu sağlar. Böbrekler, eritropoietin ve PGler dâhil olmak üzere birkaç farklı tipte hormon üretir, önemli bir vitamin olan D vitamininin aktivasyonuna önemli katkıda bulunur.

Nefronlar tarafından temel süzülme işlemi yapılmaktadır. Glomerüllerde kanın plazma kısmı süzülerek idrarı oluştur. Glomerüler kılcal damarların perfüzyonu kan basıncı altında ki kan geçişi ile olur. Süzüntü kılcal duvarlardan Bowman'ın alanına geçer. Süzüntü daha sonra her nefronun tübül sisteminden geçer. Sonra süzüntünün bir kısmı lümen içeriğinin tübül hücreleri tarafından yeniden emilimi ile vücuda geri döner. Buna ek olarak, yardımcı fonksiyonlar tübül hücreleri tarafından gerçekleştirilir, bu sayede materyaller kan yoluyla renal interstitiuma iletilir. Atılım için interstisyumdan tübül lümenine taşınır. Bu boru şeklindeki yapının sonucunda süzüntü hacminde belirgin bir azalma olur. Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) 10,7 ile 24 kPa (80 ile 180 mm Hg) arasındadır (20).

DİKLOFENAK SODYUM

Non-Steroid Anti İnflamatuvar İlaçlar

1971' de Sir John Vane tarafından keşfedilen NSAİİ etki mekanizmaları, yan etkileri ve kullanım oranları genellikle benzer olmalarına rağmen kimyasal yapıları birbirinden farklıdır (21,22). 1883 yılında sentezlenen ve günümüzde dünyada en çok tercih edilen ilaç gruplarından biri haline gelmiştir (23).

NSAİİ ' lar analjezik, antiinflamatuvar ve antipiretik etkilerini birlikte barındıran bir ilaç sınıfıdır (24). Gösterdikleri antiinflamatuvar etki ile NSAİİ'lerin çoğu COX enzimlerini inhibe eder ve bu nedenle PG üretimini etkileyerek gastrointestinal ve renal hasar oluştururlar. COX'in iki izoformu vardır. COX-1 gastrointestinal dokuda, böbrekte ve trombositlerde eksprese ederek koruyucu ve düzenleyici bir işlev görür. COX-2, böbrek, karaciğer ve akciğer gibi çoğu normal dokuda düşük yoğunlukta bulunur. Enflamatuvar süreç özellikle COX-2'den etkilenir (24). Glukokortikoidlerden ayrımının olabilmesi için NSAİİ olarak adlandırılırlar (22).

Böbrekte sıklıkla GFR oranını azaltırlar. Sodyum algılama mekanizmaları, büyük ölçüde böbreğin makula densasında bulunan COX-2 enzimatik yolundan geçer. Bu nedenle, bu enzimin inhibisyonu, anti-natriüretik bir etkiye yol açacaktır (22,25).

Non-Steroid Anti İnflamatuvar İlaçların Böbrek Üzerinde Etkileri

Reçetesiz ve kolay ulaşılabilen NSAİİ ilaçların yan etkilerinden biri de böbrek fonksiyon hasarıdır. NSAİİ, tüm akut böbrek yetmezliği (ABY) vakalarının % 7' sinden ve ilaçla ilişkili ABY vakalarının % 37' sinden sorumludur (26).

NSAİİ uygulamalarının bir sonucu olarak hemodinamik aracılı iskemik nefropati ve akut interstisyel nefrit olmak üzere iki farklı ABY oluşmaktadır. Bu akut böbrek yetmezlikleri, PG sentezinin NSAİİ aracılığıyla durdurulmasının doğrudan ilişkili olduğu düşünülmektedir. Genel olarak, renal PGler esas olarak vazodilatör görevi görür (26). Böbreklerde PGler, büyüme faktörleri, angiotensin II, NO ve serbest oksijen radikalleri gibi maddeler hasar oluşumunda etkili olmaktadır (27). NSAİİ uygulamaları PG sentezinin inhibisyonu, renal iskemiye, glomerüler hidrolik basınçta düşüşe sonuç olarakta ABY'ye yol açabilir (26).

Gebelikte Nonsteroid Antiinflatuar İlaç Kullanımı

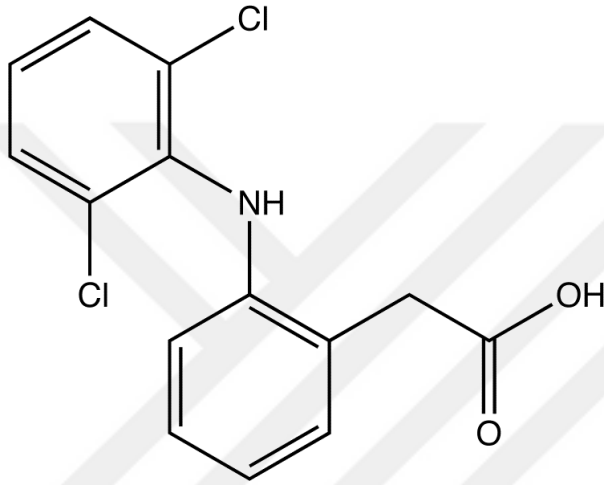
Diklofenak sodyumun gebelik kategorisi D'dir (28). Diklofenak ve metabolitleri plasentaya ve anne sütüne geçebilmektedir. İnsanlarda 18 yaşından küçük bireylerde, hayvanlarda ise yavrularda kullanılması önerilmez (29).

Tablo 1. Gebelikte ilaç kullanımları (28).

Kategori	Gebelikte kullanımları
A	Doz aşımı yapılmadan kullanılabilir.
B	Genellikle yan etki oluşturmamaktadır.
C	Başka seçenek yoksa kullanılmalıdır.
D	Gebe olan canlıda ölüm riski varsa kullanılmalıdır.
X	Gebe olan canlıda hiç kullanılmamalıdır.

Diklofenak Sodyum Formülü

Diklofenak, non-steroidal antiinflamatuvar ilaç gurubunda yer alan bir etken maddedir. Düşük çözünürlüğü nedeniyle ticari olarak diklofenak sodyum formu genellikle mevcuttur. Bu madde, sodyum (O - ((2,6-diklorofenil) -amino) -fenil) -asetat, ap K_a değeri 4 ve bölme katsayısı (*n*- oktanol / sulu tampon, pH 7.4) 13.4 olan zayıf bir asittir (30).



Şekil 6. Diklofenak sodyum formülü (Palomo ME et al.,1999).

Tablo 2. Diklofenak Sodyumun Özellikleri (31-33).

Kapalı Formülü	$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$
Molekül Ağırlığı	318.13
Sistemik Adı	Sodyum 2-[2-(2,6-diklorofenil)aminofenil]etanoik asit
Renk	Beyaz, açık sarıya
Erime Noktası	275°C
Sudaki Çözünürlüğü (mg/ml)	50
Asitlik sabiti	4.0
Partison Katsayısı	13,4
PH	5,2

Diklofenak Sodyum Farmakolojisi

Diklofenak, asetik asit türevi olan dünyada sıklıkla preskripte edilen, analjezik - antipiretik etkiye sahip NSAİİ etkili bir ilaçtır. Bazı diğer NSAİİ'lar gibi ağrı kesici ve ateş düşürücü, PG sentezini baskılayan etkilerinin yanında ek olarak osteoartrit, romatoid artrit, ankilozan spondilit ve aktinik keratoz, üriner inkontinans tedavilerinde de kullanılmaktadır (31,34,35).

NSAİİ sınıfına ait olan diğer ilaçlara göre mide ve duodenum mukozasına olumsuz etkisi görece daha azdır (36). NSAİİ ilaçların etkilerine ek olarak lipooksijenaz yolağını da düzenleme işlevi bulunmaktadır (31). Diklofenak farklı hayvan modellerinde akut ve kronik iltihaplanmayı, ağrıyı ve hipertermiyi bastırır. Diklofenakın terapötik indeksi genellikle hayvanlarda daha iyidir (29). Diklofenak sodyum veteriner sahada at ve sığır tedavilerinde sıklıkla kullanılmaktadır (28).

Hızlı salıveren ve gecikmeli salıveren olarak iki farklı formülasyonu olan diklofenak sodyumun gecikmeli formu artrit tedavisinde kullanılırken hızlı formu daha çok ağrı kesici amaçlı kullanılır. Diklofenak sodyum oral olarak alındığında emilimin çok büyük kısmı gastrointestinal kanallarda olur (34). Kas içi alımlarda hızlı formu ortalama 20 dakika içerisinde emilim gösterirken gecikmeli formu 2 saatte emilim gösterir (29). Bütün veriliş yollarında ilaç absorpsiyonu yüzde yüze yakındır ve büyük bir kısmı plazma proteinlerine bağlanarak etki gösterir (36,37).

İlk geçiş mekanizmasına karaciğer olup gıda veya antiasitlerle beraber alınması emilim hızını düşürebilir. Vücutta geniş bir dağılım gösteren diklofenak sodyum büyük oranda sinoviyal sıvıya geçer. Karaciğerde hidroksilasyon ve konjugasyona uğrar (34,38).

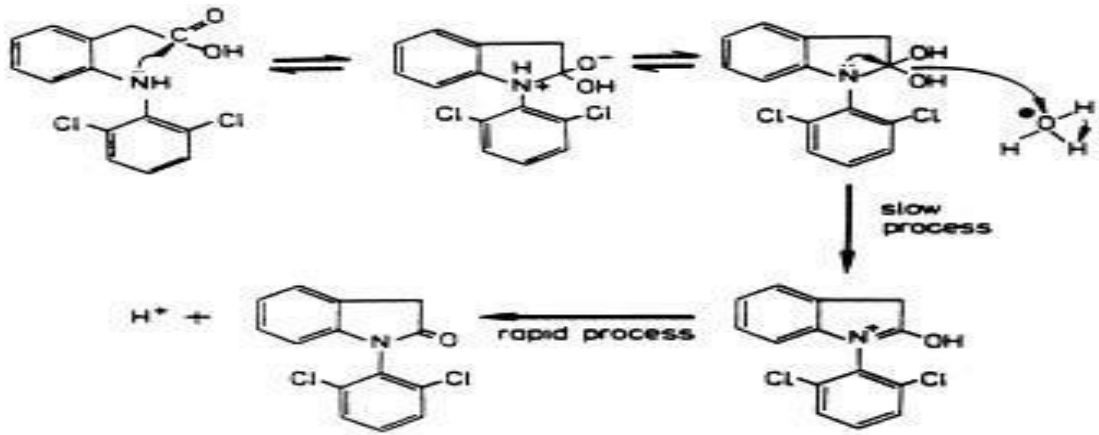
COX enziminin inhibisyonu yoluyla güçlü bir PG ve tromboksan sentez inhibitörü etkisi gösterir. Hem COX-1 hem de COX-2 izozimlerini inhibe eder (24,35). Anti-enflamatuar aktivitesinin etkileri genellikle PG sentezini inhibe etmesi

ile ilişkilidir. Bir COX inhibitörü olması PG'lerin, prostasiklin ve tromboksan ürünlerinin sentezini azaltmaktadır. Diklofenak, adenosin disfosfat tarafından indüklenen trombosit agregasyonunun ikincil fazının güçlü bir inhibitörüdür ve kanama süresini uzatabilir (29,35,37).

Diklofenak ayrıca polimorfonükleer lökosit fonksiyonunu da etkiler, böylece kemotaksiyi, süperoksit üretimini ve proteaz üretimini azaltır. (29). Diklofenak sodyum aynı zamanda araşidonic asit ve prostasiklin miktarını azaltarak da etki göstermektedir (31).

Diklofenak sodyum, mide sularında bulunan asidik koşullar altında inaktivasyonuna neden olabilen intramoleküler bir siklizasyona uğrar (Şekil 7), bu nedenle tok karına kullanılması gerekir (30). Gastrointestinal mukoza korunması ile ilgili PGleri engelleyerek gastrik ülserasyon neden olmaktadır (35). Molekül içi siklizasyonun bir sonucu olarak Na^+ kaybolur, dolayısıyla bileşiğin çözünürlüğü azalır (30).

Diklofenak, indometasin ve piroksikam, asetilsalisilik asit ve ibuprofeninkinden daha fazla analjezik aktivite gösterir (35). Aspirin ile birlikte uygulanması plazma konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltır (37).



Şekil 7. Diklofenak sodyumun asidik koşullarda siklizasyon reaksiyonu (Palomo ME et al.,1999).

Ortalama 4 günde vücuttan uzaklaştırılan diklofenak sodyum atılımının %70’lik kısmı idrarla olurken %30’luk kısmı feçesle olur. Hafif böbrek yetmezliği olan canlılarda çok sık kullanılmamalıyken, orta veya şiddetli böbrek yetmezliği olan canlılarda kesinlikle kaçınılmalıdır (34,38). Böbrek yetmezliği olan canlılarda metabolit konsantrasyonları artabilir (29). Eğer bu canlıya düşük dozda bile olsa diklofenak sodyum verilmişse böbrek fonksiyonları takip edilmelidir. Böyle bir durumda böbreklerde su ile sodyum birikimine bağlı renal fonksiyon bozuklukları görülebilir (34).

Aspirine göre daha iyi tolere edilebilmektedir. Kullanan canlıların %10’unda gastrointestinal yan etkiler görülmektedir (37). Diklofenak sodyum hepatositte görevli P-450 enzimi tarafından metabolize edilerek karaciğer hasarına da yol açabilmektedir. Midede ise mukozada kanamalara, mide kan akışının yavaşlamasına ve apoptoz gibi etkiler gösterebilir (39). İlaç 30 °c de, ışıktan uzak bir şekilde saklanmalıdır (34,38).

Pakistan bölgesinde akbaba ölümlerinin artması sonucunda yapılan araştırmalarda bölgede ki veteriner hekimlerin sıkça diklofenak sodyum kullandıkları öğrenilmiştir. Akbabaların besin kaynağı olan leşler ve ölen akbabalar incelendiğinde vücutlarında diklofenak sodyum kalıntıları bulunduğu görülmüştür ve akbabaların çoğunun ölüm nedeninin böbrek yetmezliği olduğu tespit edilmiştir. Diklofenak sodyumun akbaba popülasyonunu tehdit ettiği düşünülmektedir (40). Yapılan başka bir çalışmada ex halde bulunan 12 adet Beyaz Sırtlı Akbaba ve 4 adet Mısır Akbabasının kan plazmasında diklofenak kalıntılarına rastlanmıştır ve ölüm nedenlerinin diklofenak toksikasyonu olduğu düşünülmektedir (41).

OKSİDATİF STRES

Oksijen, dünyamızda yaklaşık 2,8 milyar yıl önce siyanobakteriler ve bitkiler tarafından üretilmesi sonucunda ortaya çıkmıştır. Oksijen toksisitesi nedeniyle antioksidan sistemler geliştiremeyen canlı organizmalar yok oldu. Sadece reaktif oksijen türleri (ROS) kullanabilen ve oksijenle ilişkili toksisiteyi nötralize eden organizmalar hayatta kalabildi (42). Ökaryotik hücreler, bu süreçte ROS oluşumu ile enerji üretmek için oksijen kullanabilen bakterileri yutmuşlardır. Hücrelere girdikten sonra, bu simbiyotik bakteriler mitokondri ile dönüştü ve ROS ile ilgili oksidatif yaralanmalara karşı koruyabilen düzenleyici sistemler geliştirdi (42).

1900 yılların başlarında birçok hayvan türünde oksijenin toksik etkileri gözlemlendi. Daha sonrasında radyasyona bağlı toksisite ve oksijenle ilişkili hasarlar arasında benzerlikler görüldü. 1954 yılında ise ilk kez ROS terimi kullanıldı (42).

Vücutta oksidanlar ile antioksidanlar arasında bir denge bulunmaktadır (43). İlk kez 1970'li yıllarda kullanılmaya başlayan oksidatif stres sözcüğü reaktif oksijen türlerinin sayısının artması veya antioksidanların sayısının azalması durumunda, ROS ile antioksidanlar arasındaki dengenin ROS lehinde bozulması ile oluşur (44). Vücutta antioksidan savunmanın yetersiz kalması genellikle DNA baz oksidasyon kanaklı olup, oluşan bu dengenin bozulması birçok hastalığın etiolojisinde ve patogenezinde kritik bir rol oynamaktadır (45).



Şekil 8. Oksidan ile antioksidan dengesi (Daenen K et al.,2018).

ROS ve reaktif nitrojen türleri, genellikle oksidatif hasar oluşturmak için birlikte hareket ederler. Tablo 3’de ROS ve reaktif nitrojen türleri verilmiştir (47).

Tablo 3. Oksidatif strese etkili olan ROS ve reaktif nitrojen türleri (47).

	REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ	REAKTİF NİTROJEN TÜRLERİ
Serbest Radikaller	Süperoksit (O_2^-)	NO
	Hidroksil (OH)	Nitrojen dioksit (NO_2^-)
	Peroksil ($R-O^\cdot$)	Azot dioksit (NO_2)
Radikal olmayan	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Peroksinitrit ($ONOO^-$)
	Hidroperoksil (HRO_2^-)	
	Organik Peroksit ($R-OOH$)	

NSAİİ İLE İLİŞKİLİ NEFROTOKSİK SENDROMLAR

Sıvı ve Elektrolit Bozuklukları

NSAİİ’lerin çok görülen yan etkilerinden olan sodyum birikimi ve ödemin bulguları çok net olamayabilmektedir. İlacın başlamasından sonra genellikle kısa zaman içinde gelişebilmektedir. Semptomatik ödem görülme prevalansı %3 ile %5 arasındadır (48). NSAİİ’lerin PG sentezini bloke etmesi sonucunda rutinde olan;

- Distal tübülden su ve sodyum reabsorbsiyonunun regülasyonu
- Antidiüretik hormon etkisinin inhibe edilmesi
- Kortikal bölgeden jukstamedüller bölgeye olan kan akımının regülasyonu gibi PG bağımlı işlevler gerçekleşmez ve bunun sonucu olarak

sodyum birikimi ve ödem ortaya çıkar (49,50).

Hiperkalemi NSAİİ kullanımına sekonder oluşan diğer bir elektrolit bozukluğudur. Hiperkalemi patofizyolojik olarak iki faktöre dayanır. İlk olarak NSAİİ'ler, PG ilişkili renin sekresyonunu baskılayarak aldosteron oluşumunu ve buna bağlı olarak potasyum ekskresyonunu azaltırlar (51). İkinci olarak GFR'nin azaldığı durumlarda NSAİİ'ler renal tubülde klor ve sodyum geri emilimini artırma etkisi göstererek intraluminal sodyum düzeyini kısmi bloke ederler, bu da distal nefronda potasyum-sodyum takasını bloke eder (51).

Eksternal potasyum desteği alan (52), potasyum tutucu diüretik (53) ya da anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü kullanmakta olan hastalar hiperkalemi tablosu için ciddi risk altında bulunmaktadırlar. Renal disfonksiyon (54), kalp yetmezliği (55), diabetes mellitus (56) ve multiple myelom (57) gibi hastalıklar NSAİİ kullanımı ile hiperkalemi gelişimini kolaylaştırır. NSAİİ kullanımı sonucu renal disfonksiyon gelişen hastalarda, renal fonksiyon bozukluğunun derecesi ile paralel olmayacak şiddette hiperkalemi kliniği gelişebilir.

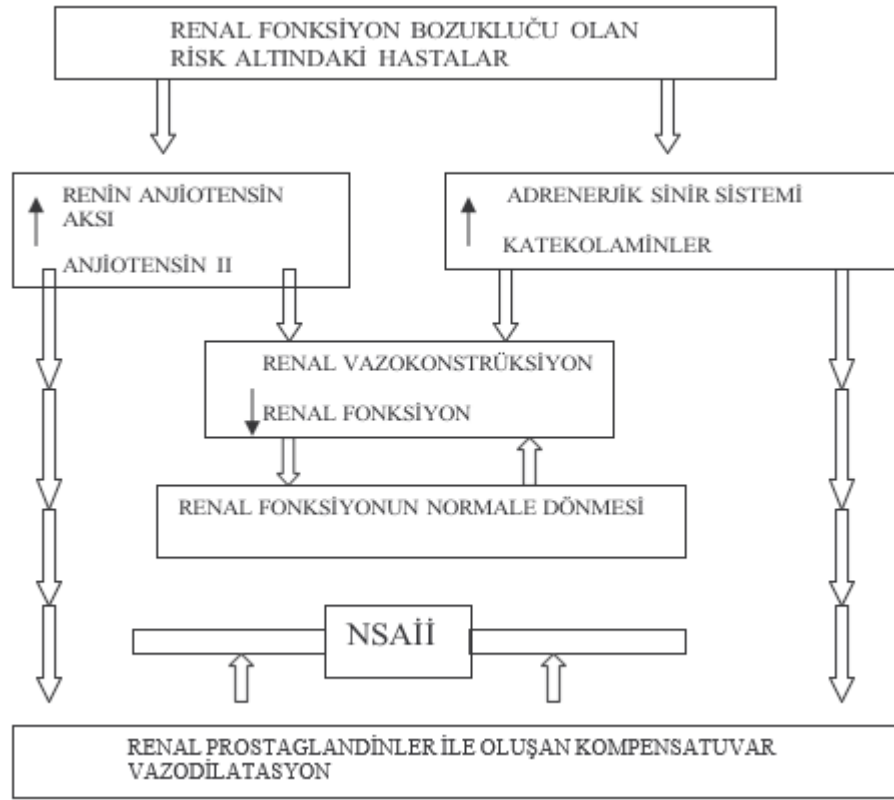
Renal Fonksiyonda Akut Bozulma

NSAİİ'ler temel olarak PG'lerin vazodilatatör etkilerine sekonder renal disfonksiyona yol açarlar. İndometazin kullanımı ile bu komplikasyon riski en şiddetli iken aspirinin genelde kullanılan teröpatik doz aralığında çok daha azdır. Diklofenak sodyum, piroksikam, ibuprofen ve naproksen sodyum ise orta düzeyde (aspirin ile indometazin arasında) renal disfonksiyon sebebiyet verebilir.

Ağır kalp hastalığı (örn. konjestif kalp yetmezliği (58)), ilerlemiş karaciğer hastalığı (örn. siroz), nefrotik sendrom (59,60), diüretik tedavi ya da komorbid hastalık (61,62) sebebiyle uzamış dehidratasyon varlığı ve ilerlemiş yaş (özellikle seksen yaş sonrası (48)) durumlarında hastalar akut renal disfonksiyona daha eğilimli hale gelebilmekteledir.

NSAİİ ilişkili akut böbrek yetersizliğine hızlı tanı konulması ve eken olan ajanın hızlıca kesilmesi ile renal disfonksiyon 7 gün içinde (genellikle 72–96 saat) geri düzelim başlar. Bu şekil NSAİİ sekonder nefrotoksisite oluşumunun temel göstergeleri: kreatinin, kan üre azotu ve potasyum serum düzeylerinde artış, vücut ağırlığında artışı ve saatlik idrar çıkımında azalmadır. Renal disfonksiyonlar NSAİİ maruziyet süresi ve alınan doza oldukça bağlıdır. Renal nefrotoksisite oluşum ve klinik izlenme süresi ise NSAİİ farmakokinetiği ile doğrudan ilişkilidir. Bu süre ibuprofen gibi yarı ömrü çok kısa olan etken maddelerde, sulindak ve piroksikam benzeri yarılanma ömrü görece daha uzun olan ilaçlardan daha hızlı olabilmektedir (63).

Sulindak ilaç biyofarmatiği sebebiyle daha az nefrotoksik bir etken madde olarak değerlendirilmekle birlikte ana etken molekül olan sulindak sulfoksid inaktif bir proilaç olup karaciğerde metabolize olarak aktif metabolit olan sulindak sülfide dönüşmektedir. Renal dokuda sulindak sülfid tekrar ana etken moleküle okside olup renal PG ekskresyonunu etkilememektedir (64). Kronik böbrek yetmezliği, asitin eşlik ettiği siroz gibi hastalıklarda sulindakın böbrek dokusunda PG sentezini aslında antagonize ettiği ve renal disfonksiyona neden olabileceği tespit edilmiştir. Bu sebepten ötürü bu ajanın dikkatli kullanımı ve yakın monitörizasyonu gerekebilmektedir.



Şekil 9: Risk altındaki hastalarda NSAİİ'lerin kompensetuar mekanizmalar üzerine etkileri

Nefrotik Sendrom ve İnterstisyel Nefrit

NSAİİ ilişkili interstisyel nefrit ve nefrotik sendrom nadir görülen sendromik bir durumdur. İlacın alınımından haftalar ya da aylar sonrasında izlenebilmektelerdir (ortalama 5,4 ay); 14 gün ile 18 ay peryotlarında değişir. Kliniğinin farklı olması, patofizyolojisi ve risk düzeyinin yüksek olması NSAİİ ilişkili nefrotik sendrom/interstisyel nefriti diğer ajanlara bağlı interstisyel nefritlerden farklı olarak görünmesine sebep olmaktadır.

Döküntü, ateş, eozinofili, eozinofilüri gibi alerjik durumlarda oluşan interstisyel nefrit klinik bulguları sıklıkla izlenmemektedir. İdrar analizinde tübüler epitel hücre silindirleri ve mikroskopik hematüri gözükabilmektedir.

Proteinüri klasik olarak nefrotik düzeyde tespit edilir (65,66). Böbrek histolojisi genellikle minimum değişiklik glomerülonefriti ile beraber interstisyel nefrit histolojik görünümü gösterir. Bu histopatolojik birliktelik diğer klinik hastalıklarda çok nadir birlikte izlenir. (65-67). Radford ve arkadaşları (68) NSAİİ ilişkili nefrotik sendrom olgularında histolojik olarak membranöz glomerülonefrit görünümü olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarında 13 hastanın nefrotik sendromu, medikasyonlarının bırakılmasıyla hızlıca gerilemiş ve izlemlerinde stabil seyrettikleri gözlenmiştir.

NSAİİ'lerin renal tubüler inflamasyona neden olamsı arasıdonik asit (AA) metabolizmasının çiftli yolağı ile açıklanabilmektedir. COX yolağının sekteye uğraması AA metabolitlerinin alternatif olan lipoksijenaz yolağına, kemotaktik-vazoaktif lökotriyenleri üretmek üzere, yönlendirmesine sebep olur. Peritubüler ve glomerüler kapillerlerde lökotriyenler nedeniyle permeabilite artışının nefrotik düzeyinde proteinüri ve interstisyel nefrit oluşturduğu öngörülebilir.

NSAİİ ilişkili nefrotik sendrom veya interstisyel nefrit gelişmesi için risk faktörleri net belirlenememiştir. Önceden mevcut olan renal fonksiyon bozukluğu risk oluşturunca faktör olarak düşünülebilir. Fakat sistemik lupus gibi otoimmün bir hastalık NSAİİ kullanımına sekonder oluşan nefrotik sendromu daha dominant hale getirebilir. İleri yaş NSAİİ ile daha yoğun maruziyel ilişkili olarak risk olarak değerlendirilmektedir.

NSAİİ'lerin hepsinin nefrotik sendrom oluşturduğu raporlanmakla birlikte fenoprofen en çok neden olan etken olarak bilinmektedir. NSAİİ'nin moleküler kimyasal yapısı bu kliniğin patogeneğinde kritik görev oluşturmaktadır.

Sebep olan NSAİİ'nin bırakılmasıyla proteinüri sıklıkla otuz gün içinde düzelebilmekle birlikte bu zaman dilimi on iki ay kadar sürebilir. Kortikosteroid ajanlar bu durumun tedavisinde ampirik yöntem olarak kullanılabilir ancak klinik etkinliği ile ilgili veriler henüz net değildir (50,61,66). Ancak NSAİİ bırakılmasından sonraki ondört gün içinde proteinüri belirgin düzeyde azalmıyor ise kortikosteroid tedaviye başlanmanın optimal tedavi yaklaşımı olabileceği öngörülmektedir.

Renal Papiller Nekroz

Renal papiller nekroz durmu NSAİİ'lere bağlı akut veya kronik olarak gelişebilir (69-71). Çok izlenmeyen bir klinik durum olmasına rağmen böbrek parankimal hasarının ciddi ve kalıcı olabilmesi sebebiyle NSAİİ ilişkili diğer nefropatilerden çok daha ciddi klinik öneme sahiptir. Akut veya kronik renal papiller nekroz öncesinde renal fonksiyon bozukluğu olmayan dehidratasyona maruz kalmış kişilerde yüksek doz NSAİİ alımı ile meydana gelebilmektedir. Fenasetin bu şekilde nefropati yapmasından dolayı en çok suçlanan ajandır ve analjezik ilaçların kötü amaçlı kullanımına bağlı nefropati yaptığı ispatlanmasının ardından eczanelerden toplatılmıştır.

Akut Renal Papiller Nekroz

Akut renal papiller nekroz, nadir tanı alan bir klinik tdurum olup sıklıkla makroskopik hematüri ve beraberinde renal kolik durumu ile karıştırılır. Coğunlukla uzamış dehidratasyon zamanlarında aşırı doz NSAİİ maruziyetinin olması klinik tanı için önem arz eder. Akut renal papiller nekrozun fizyopatolojisinde gelişen iskemik nekroz durumu vardır (71). Renal papiller lezyon belirgin bir patolojik sınır çizgisi ile ayrılır ve histolojik olarak koagölasyon nekrozu barındırır. Dokunun nekrozu olayın içinde olan renal piramit distal bölümü ile sınırlıdır. İdrarın maksimum konsantrasyon düzeyi renal papillanın anatomik ve vasküler intaktlığına bağlıdır. Renal papillanın kan ile buluşmasında ise PG'nin yakın bölgede üretimi oldukça fazla önemlidir.

Uzun süreli dehidratasyon, fazla miktarda NSAİİ tüketimi ile birleşirse papillada yerel olarak NSAİİ ve/veya metabolitleri toplanır. Artan bu ilaç konsantrasyonu kompensatuvar vazodilatatör renal papiller PG sentezini de ekstradan antagonize eder.

Akut renal papiller nekrozun uzun dönemli klinik verileri iyileşen kişinin idrarı konsantre etme becerisiyle doğrudan bağlıdır. Bunun sebebi; nefronların çok az bir miktarının (yaklaşık 1/7'sinin) Henle kolları papillaya kadar uzanım gösterir ve bu

kollar irreversible olarak hasarlanır, fakat kalan nefronlar faaliyeti bırakmazlar. Nekroze olan papiller kenarların içindeki toplayıcı kanal terminal bölümleri ise piramidin medüller noktasında son bularak piyelokaliksiyel sisteme idrar akışını temin eder. Hayvan deneylerinde neredeyse tüm NSAİİ'lerin renal papiller nekroza sebebiyet verdiği tespit edilmiştir. Fenoprofen, fenilbutazonun ve ibuprofenin diğerlerine göre bu patolojiye çok daha fazla sebep olduğu raporlanmıştır (68,69,72).

Kronik Renal Papiller Nekroz

Tekrarlayan uzun peryotlarda antipiretik analjezik ajan alımı ile kronik renal yetmezlik gelişimi arasında ilişki 1950'li yıllarda saptanmıştır. Bu yıllarda fenasetin ve aspirin analjezik karışımlarının uzun süreli alınmaları sonrasında meydana gelen tubulointerstisyel nefritin kadın hastalarda erkeklerden çok daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir. Piyasadan toplatılmış olan fenasetine rağmen analjezik ajan fazla alınmasına bağlı nefropatinin halen yeni tanı konuluyor olması diğer analjezik maddelerin de buna benzer toksisiteye sebep olduğunu doğal olarak düşündürmektedir. Diyaliz hastalarının yüzde ikisinden azı maalesef bu tanı ile kliniklerde takip edilmektedir.

Analjezik ajan fazla kullanımına bağlı renal disfonksiyon patogenezi hala açık olarak aydınlatılabilmiş değildir. Hayvan çalışmalarında renal papiller nekroz oluşturmak için fazla doz NSAİİ uygulaması gerekmektedir. Literatürde NSAİİ ilaç kombinasyon tedavi protokolleri, özellikle aspirin içeren ilaç kombinasyonları, tekli ajan rejimlerinden çok daha fazla nefrotoksik bulunmuşlardır. Fenasetin'in ana metabolit ajanı olan asetaminofen, fenasetin kadar nefrotoksik değildir ve üriner epitelyum kökenli tümörlerle de ilişkisiz bulunmuştur (73,74). Önerilen dozlarda tek başına kullanıldığında asetaminofenin renal toksisitesinin olmadığı kanıt A düzeyinde ispat edilmiştir.

COX İZOFORMLARI

1970’li yıllarda ilk kez Vane tarafından NSAİİ’lerin teröpatik etki ve toksisitelerinin PG üretiminin ilk basamağı olan COX enziminin inhibe edilmesi ile olduğu öne sürülmüştür (75). Bu öngöründen yaklaşık yirmi yıl sonrasında iki farklı COX izoformu daha olduğu saptanmıştır. İlerleyen yıllarda çeşitli laboratuvarlar iki farklı gen tarafından kodlanan iki ayrı COX (COX–1 ve COX–2) izoformu olduğunu teyit etmiştir (76).

Birçok organ ve hücrede yapısal olarak bulunan COX–1, gastrik mukoza savunması, trombosit agregasyon fonksiyonu gibi önemli fizyolojik fonksiyonları regüle eden PG’lerin sentezinde rol alır. COX–2 ise birçok dokuda yapısal olarak yer almasına rağmen COX-1’den farklı olarak bakteriyel endotoksinler, büyüme faktörleri ve sitokinler tarafından indüklenerek pro-inflamatuvar PG’lerin sentezini katalize etme fonksiyonunu üstlenir.

COX–1 ve COX–2 knock-out farelerde ve bu enzimlerin spesifik inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda her iki enzimin de fizyolojik fonksiyonlardaki görevlerinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır. Bazı fonksiyonlarda her izoform farklı farklı yer alır. Trombosit agregasyonu görevi üstlenen tromboksan A₂’nin sentezi sadece COX–1 aracılığı ile oluşur. COX–1 knock-out farelerde AA ile agregasyon oluşamaması (77), COX-2’nin bu gibi durumlarda COX-1’in eksikliğini karşılayamadığını gösterir. Ovulasyon için ise COX–2 enzimi gereklidir ki COX–2 eksik olan ratların infertil oldukları gözlenmiştir (78). İnflamasyon ve karsinogenezde iki enzim de koordine şekilde görev üstlenirken, doğum ve duktus arteriyozusun remodelingi esnasında birbirlerinin noksanlıklarını tolere edebilirler.

RENAL COX EKSPRESYONU

Köpek ve sıçan gibi hayvanlarda ve primatlarda (insan ve maymun) böbrek dokusunda COX-1 ve COX-2'nin yapısal olarak birlikte görev aldıkları gösterilmiştir (79-81). COX-1 immünoaktivitesi türler arasında ciddi farklılık göstermemektedir ve genellikle toplayıcı kanallar, renal vasküler yatak, glomerüller ve papiller interstisyel hücrelerde yoğunluk oluşturmaktadırlar. Bazal COX-2 immünoaktivitesi ise daha az yoğun olup türler arasında bir miktar değişiklikler gösterebilmektedir. Köpek ve sıçanlarda COX-2'nin renal dağılımı maküla densa, Henle çıkan kalın kolu ve papiller interstisyel hücreler gibi bölgeleri kapsamaktadır. Farelerde kortikal toplayıcı kanallarda da COX-2 immünoaktivitesi gösterilmiştir. İnsanlarda ve diğer primatlarda COX-1 ve COX-2 renal vasküler bölge ve glomerüllerde beraber bulunurken maküla densada COX-2 tespit edilememiştir (81,82). Ancak sonrasında yapılan bazı çalışmalarda COX-2'nin altmış yaş üzerindeki insanların maküla densasında da tespit edildiği bildirilmiştir (83).

Tablo 4: Türler arasında COX-1 ve COX-2 lokalizasyon farklılıkları

Doku	Türle		köpek		maymun		insan	
	İ	ş	COX-1	COX-2	COX-1	COX-2	COX-1	COX-2
Damarlar	Y		Y	Y	Y	Y	Y	Y
Glomeruller		U			Y		Y	Y
Makula densa	Y	Y, U		Y, U			Y	
Henle'nin çıkan kalın kolu	Y	Y, U		Y, U			Y	
Toplayıcı kanal	Y		Y		Y		Y	
İnterstisyum	Y	Y		Y	Y		Y	Y
Y: Yapısal, U: Uyarılabilir								

İmmünoaktivite literatür bilgisi doğrultusunda COX-1 inhibisyonunun birbirinden değişik türler arasında böbrek fonksiyonları açısından benzer sonuçlar verebileceği, COX-2 inhibisyonunun ise insanlar ile daha alt türler kıyaslandığında çok değişik sonuçlar verebileceği düşünülebilir.

BÖBREKTE COX İNHİBİSYONUNUN SONUÇLARI

Sodyum Atılımı

Sodyum ekskresyonu, natriürezis, renal interstisyel volüm artışı ile tetiklenir ve PG bağımlıdır (84). Bazı hastalarda NSAİİ maruziyeti sonrasında sodyum birikimi meydana gelebilir. COX-1 laboratuvar hayvanları ve insanlarda nefronun sodyum atılımının regülasyonunda aktif toplayıcı kanallarda oldukça yüksek düzeyde sentezlenebilmektedir (85). Ayrıca COX-2 sıçan nefronlarında sodyum regülasyonunda görevli olabileceğini düşündürecek şekilde Henle'nin çıkan kalın kolunda $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPaz ile birlikte bulunur (86). Selektif COX-2 inhibitörleri ile yapılan çalışmalar böbrek dokusunda PGE_2 konsantrasyonunun bu etken maddelerin kullanımıyla azaldığını ve antinatriüretik etkinin kısmi olarak COX-2 bağımlı PG'ler aracılığı ile olduğunu düşündürmektedir.

Tuz ve volüm yükü ile COX-2 regülasyonunu araştıran çok miktarda laboratuvar çalışmaları yapılmıştır. Yang ve arkadaşları (87) yedi gün süresince yüksek ve düşük tuz içeren diyet rejimi verdikleri sıçanların renal dokularında COX-2 ekspresyonunu araştırdıklarında; COX-2 mRNA düzeyinin iç medullar bölgede yüksek tuzlu diyet verilen örneklerde 4,5 kat arttığını ancak düşük tuzlu diyet verilenlerde COX-2 mRNA düzeyinin değişmediğini tespit etmişlerdir. Kortikal zondaki COX-2 mRNA düzeyi ise hem düşük hem de yüksek tuz rejim uygulamaları ile değişiklik göstermiştir. Yüksek tuz rejiminde 2,9 kat azalma meydana gelirken, düşük tuz rejiminde ise 3,3 kat fazla artış gözlenmiştir. COX-1 mRNA düzeyi ise her iki diyet ile renal dokunun değişik bölgelerinde farklılık göstermemiştir. COX-2 ekspresyonunun başlıca maküla densa, kortikal çıkan kalın kol ve medüller interstisyel hücrelerde olduğu saptanmıştır. Medüller interstisyum bölgesinde artmış olan basınç ve volüm yüküne cevap olarak artan COX-2 düzeyinin medüller interstisyumda sodyum ekspresyonuna pozitif katkıda bulunduğunu düşünmüşlerdir. Düşük tuz alımında kortekste izlenen COX-2 artışının ise volüm azalması durumlarında kortikal kanlanmanın dengelenerek korunmasına yönelik olduğunu bildirmişlerdir.

Bazal Renal Kan Akımı

Normal hayvanlarda COX izoformlarının böbrek kan akımı üzerine direkt etkilerini inceleyen çok az miktarda çalışma mevcuttur. Brooks ve arkadaşları (88) indometazin, 6-MNA (nabumeton aktif metaboliti) ve selekoksib'in intravenöz uygulanması sonrası köpeklerde renal kanlanma üzerine etkileşimini incelemişlerdir. Çalışma sonrasında sadece selekoksibin renal kanlanmayı azalttığı saptanmış olup bu etki COX-2'nin selektif özelliğine bağlanmıştır. Fakat selekoksibi intravenöz yoldan uygulamak için kullanılan organik solventin etkisinin farklı bir grupta değerlendirilmemiş olması ve pozitif kontrol olan indometazin ile etkinin ortaya çıkmayışı bu çalışma ile ortaya çıkan sonuçları sınırlandırmıştır. Nimesulid'in COX-2 selektif dozlarıyla köpeklerde yapılan başka bir araştırmada ise, COX-2 selektivite trombosit agregasyonuna etkisinin olmaması ile konfirme edilmiş, ilacın ortalama kan basıncı, GFR ve renal kanlanma üzerine herhangi bir etkisi olmadığı raporlanmıştır (89). Bu çalışmada sodyum ve idrar volümü azalması ilacın tübüler etkisi olarak düşünülmüştür. Bu çalışmaya göre COX-2 bazal kan akımı kontrolünde ciddi bir etkiye sahip değildir.

Tablo 5: COX Enzim Lokalizasyonları ve Muhtemel Fonksiyonları.

Lokalizasyon	COX-1	COX-2	PG	Muhtemel Fonksiyon
Glomerül	+	+	PGE ₂ , PGI ₂	Podosit kontraktilesi ve GFR'nin sağlanması
Henle'nin ç. kalın kolu	—	+ 1	PGE ₂	Sodyum ve klorid ekskresyonunun artırılması
Maküla Densa	—	+ 1	PGE ₂	Renin salınımının regülasyonu; tübüloglomerüler feedback düzenlenmesi
Toplayıcı kanallar	+	+ 2	PGE ₂	Sodyum, klorid ve su ekskresyonunun artırılması
Papiller interstisyel hücreler	+	+	PGE ₂ , TXA ₂	Vazodilatasyon ve natriürezis

<i>Renal vaskülatür</i>	+	+	<i>PGE₂</i> <i>PGI₂</i> , <i>TXA₂</i>	Bölgesel kan akımının düzenlenmesi, anjiotensin II ile indüklenen vazokonstriksiyona antagonizma
-------------------------	---	---	---	--

1. Genç insan ve primatlarda görülmez, yaşlılarda görülür.
2. Sadece farelerde gözlenmiştir.

PODOKALİKSİN

CD34 ve endoglikan ile yakın ilişkili ve bir sialomüksin olan PODXL, renal podositleri, hematopoetik progenitörler, vasküler endotel ve bir nöron alt kümesinden salgılanır. Çeşitli hücre içi proteinler ve en az bir hücre dışı ligand ile yaptığı etkileşimler yoluyla, PODXL hem yapışmayı hem de hücre morfolojisini düzenleme işlevi görür. Gelişmekte olan böbrekte, PODXL, podosit ayak işlemlerinin oluşumunda ve korunmasında önemli fonksiyon gösterir ve yokluğunda perinatal ölüm meydana gelir.

Hematopoetik sistemde PODXL ekspresyonu, hücre göçü ve yeni hematopoetik dokuların tohumlanması ile ilişkilidir. Ek olarak, meme, prostat, karaciğer, pankreas ve böbrek kanseri ile lösemi alt gruplarında anormal boyutlarda salgılanır. Çarpıcı şekilde, çoğu zaman en agresif vakalarla ve çok büyük olasılıkla metastaz ile ilişkilidir. Dolayısıyla PODXL normal aktivitelerinin ayrıntılı bir şekilde incelenmesi, bazı hastalıkların yanında yeni kanser tedavi protokollerinin geliştirilmesini kolaylaştırabilir (90).

PODXL, geniş bir kanser yelpazesinde yer alan ve normal olarak böbrek podositlerinde, hematopoetik progenitör hücrelerde, vasküler endotelde ve nöronların bir alt kümesinde eksprese edilen kapsamlı bir O-glikosile ve sialilale edilmiş tip I transmembran proteinidir (91,92). PODXL'nin C-terminal -bağlanma motifi olan DTHL, Na⁺/H⁺ değiştirici düzenleyici faktör 1 (NHERF1) ve NHERF2 ile etkileşimi kolaylaştırır (93). Bu iki adaptör protein, çok sayıda protein ile kompleksler oluşturur ve protein trafiği, iyon taşınımı ve sinyalleşmede belirgin rol alır (94).

PODXL ayrıca, aktin bağlayıcı protein ezrin ile de ilişkilidir (95). Dolayısıyla, PODXL, NHERF proteinleri, ezrin ve aktin sito-iskeleti yoluyla çok çeşitli önemli hücresel fonksiyonları etkileyebilir.

PODXL en çok hematopoetik kök hücre belirteci CD34 ve yakın zamanda keşfedilen sialomusin endoglikan ile ilişkilidir. Bu proteinler benzer protein ve gen yapılarına ve kısmen benzeyen davranış modellerine sahiptir (96). Yüksek endotelial venüller denilen özel lenf nodu endotel hücrelerinde, CD34 ve PODXL'nin modifiye edilmiş formları, dolaşımdaki lenfositler üzerinde L-selektin için yapışkan ligandlar olarak etki eder ve böylece hücre trafiğini regüle eder (97). Bununla birlikte, diğer birçok durumda, CD34 ve yakınları, yapışma engelleyici olarak düzenlenmiş olarak zıt kapasitede hareket etmektedir. Örneğin, hematopoetik sistemde hücre göçünü kolaylaştırır ve spesifik olmayan yapışmayı önler (98).

İlginç bir şekilde, hücre morfolojisinin oluşturulmasında PODXL için yeni bir rol tanımlanmıştır. Meme veya böbrek epitel hücrelerinde ektopik olarak eksprese edildiğinde, PODXL, mikrovillus oluşumunu dramatik şekilde artırır. Çünkü aktin polimerizasyonunun bozulması fenotipi ortadan kaldırır (99). Benzer şekilde, PODXL ekspresyonunun bloke edilmesi böbrek tübülogenez modelinde tübül oluşumunu önler. Ayrıca, PODXL, böbrek podositlerinde ayak işlemlerinin uzatılması için gereklidir. Bu deliller hücre morfogenezde PODXL'nin rol oynadığını göstermektedir (90).

Çeşitli Dokularda PODXL'nin Farklı Roller

PODXL başlangıçta renal glomerüllerde tanımlanmıştır, burada sadece bol bulunduğu için değil, aynı zamanda böbrek gelişimi için de gerekli olduğu anlaşılmıştır (100).

İdrar boşluğuna bakan podositlerin apikal yüzeyi, epitelyal polianyon olarak belirtilen ve esas olarak PODXL'den oluşan sialik asit zengini bir glikokaliks ile kaplanır. Glomerüler gelişim bir dizi aşama gösterir (101,102). İlk adımlar mesanjiyal hücrelerin, glomerüler epitel hücrelerinin (podositler), proksimal tübül hücrelerin ve kapiller endotelin oluşumunu içerir. Podositler daha sonra proliferer olur ve kavşak

(junctional) proteinleri, apikal yüzeylerden bazolateral olarak glomerüler bazal membrana doğru göç ederler. Ayak işlemlerinin daha sonra meydana geldiği ve birleşme yerlerinin tekrar dağıldığı, genişleyen morfolojik düzenlemeler; kavşaklar daha sonra yarık diyaframlar ile değiştirilir. PODXL, ilk önce ayak işlemlerinin ve yarık gözeneklerinin oluşmasından hemen önce ortaya çıkar ve bunun yeniden dağılımı, kavşaklar ile ilişkilidir (103). Kavşak proteinleri bazolateral olarak göç eder ve her zaman podosit hücre gövdelerinin apikal yüzeyi ve yarık diyafram seviyesinin üzerindeki ayaksı yapıları boyunca bulunur (90).

Karmaşık glomerüler podosit mimarisinin bakımı, optimum filtreleme için şarttır. Çok sayıda hastalık ve glomerüler fonksiyon bozukluğunu gösteren hayvan modelleri, anormal PODXL'ye atıf yapar (103). Kronik böbrek yetmezliği ve son dönem böbrek hastalığının önde gelen bir nedeni olan diyabetik nefropati, ayaksı yapılarda genişlemeye ve glomerüler sialik asit içeriğindeki bir azalmaya eşlik eder. Aynı zamanda, nefrotik sendromlu hastalarda da temel anomali ayaksı yapıların kaybıdır. Glomerüler hastalığın modellendiği iki hayvan deneyinde, PODXL'nin negatif yükü nötralize edilir, ayaksı yapı mimarisi bozulur ve yarık diyaframları tamamen sızdıran kavşaklar ile değişir; periton içi sialidaz enjeksiyonu da benzer etkiler yapar (104).

PODXL eksikliği olan fareler, PODXL'nin eşsiz podosit morfolojisini koruduğuna dair kanıt sağlar. PODXL-null fareler daha az büyük yapılara sahiptir ve ayaksı yapılar ve yarık diyaframlardan tamamen yoksundurlar. Ayrıca, podosit hücre gövdeleri kılcal halkaları kaplar ve bitişik podositler arasında çarpıcı bir kavşak kompleks varlığı vardır. Başlangıçta glomerüler filtrasyon için yük seçici bir bariyer oluşturduğu düşünülen PODXL'nin, artık podosit morfogenezi ve yapısal bütünlüğünün korunmasında rol oynadığı bilinmektedir (90).

PODXL'nin hücre dışı alanının nötralizasyonu, podosit morfolojisini değiştirir. PODXL normal olarak NHERF proteinleri ve ezrin, ile aktin hücre iskeletine bağlanır, ancak PODXL /NHERF2/ezrin kompleksin parçalanması veya tüm kompleksin aktinden ayrılması yoluyla da hücre iskeletinden ayrılır (105). Bu düzenleme, podositlerde belirtilen morfolojik değişikliklerle ilgili olası bir açıklama sunar. Bunu

desteklemek için, indirgenmiş çekirdek-1, 3- galaktosiltransferaz aktivitesine sahip fareler, hipoglikozile edilmiş PODXL'yi eksprese eder ve glomerüler yapıyı bozar. Benzer şekilde, PODXL'nin hücre dışı alanının silinmesi, ektopik olarak PODXL'nin in vitro ortamda uyardığı mikrovillüs yapısını bozar (99).

PODXL eksikliği bulunan farelerde gözlemlenen podosit fenotipleri, PODXL'nin hücre adezyonunu azaltmada ve hücre morfolojisini etkilemedeki rolüyle tutarlıdır. Gelişmekte olan glomerüllerde olduğu gibi, PODXL -null (boş) hayvanlardaki podositler apikal bağlantıları tutar; hücre-hücre bağlantıları bazolateral olarak göçmez ve yarık diyaframlara dönüşürler. Bu nedenle bu hücreler olgunlaşmamış bir mimariyi korurlar. Normal şartlar altında, PODXL'nin ya sıkı bağlantı proteinlerinin sitoplazmik etkileşim ortakları vasıtasıyla dağılımını değiştirdiği veya apikal yüzey üzerinde bu hacimli, negatif yüklü molekülün yüksek seviyelerde ekspresyonu fiziksel olarak bağlantıları daha bazal bir konuma getirebileceği düşünülmektedir. PODXL eksikliği bulunan hayvanlarda göze çarpan anormal podositler böbrek fonksiyonunu bozar ve bu molekülün olmayan tüm farelerde perinatal ölümün belirgin nedeni olur (90).

Fetomaternal açıdan da bakıldığında muhtemelen maternal endotelial hücrelerden salgılanan PODXL, gebe serumunda bulunur ve erken başlangıçlı preeklampside anlamlı olarak artar (106).

U II VE ÜROTENSİN II RESEPTÖRÜ (UTR)

U II, somatostatine benzeyen, 1969 yılında izole edilen siklik 11 aminoasitlik bir peptid hormondur. UTR de Ames ve arkadaşları tarafından 1999 yılında keşif edilmiştir (107,108). Biyolojik aktivitenin asıl sorumlusu olduğu düşünüln C-terminal ucu sistein köprüleri siklik hekzapeptid yapısındadır. C- terminal siklik hekzapeptid yapısı (Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-Cys) insanlarda, domuzlarda, maymunda ve ratlarda bulunmaktadır. N-terminal ucu ise uzunluk ve sekans olarak C terminal uca göre farklı özellikler göstermektedir. U II, renal, kardiyak ve vasküler sistem üzerine çok etkili

olan bir peptittir (109). İnsan U II peptidi öncül molekül olan pre-pro U II molekülünden üretilir ve bu molekülün mRNA'sı insan vücudunda birçok farklı dokudan elde edilebilir (110). U II akciğer, kalp, karaciğer, dalak, pankreas, timüs, böbrek, ince bağırsak, prostat, adrenal bezi, hipofiz bezi ve periferik dokularda bulunur (111,112). UTR G protein ilekenetli yapıdadır (113). UTR'yi kodlayan gen 17q25.3 konumunda lokalizedir ve intronu bulunmamaktadır (114). UTR en çok arteriyal düz kaslarda, kardiyak miyozitlerde ve böbrekte, bunların yanısıra endotelde, monosit ve makrofajlarda da bulunabilmektedir (112, 115-117).

UT günümüzde tespit edilmiş olan en güçlü vazokonstrüktör ajandır (107). Kardiyovasküler sistemde arterlerin en güçlü kasıcısıdır. Kalp üzerine pozitif inotropik etkisi endotelinden 10 kat, serotonininden 100 kat ve noradrenalinden 300 kat daha çoktur (118). UT bilinen en güçlü vazokonstrüktör ajan olmasına rağmen, UT'nin vazokonstrüktör etkisinin canlı türüne ve damar yatağına göre farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir ve bazı vasküler bölgelerde endotel bağımlı vazodilatatör etkileri de vardır (119). Örnek olarak insan ve diğer memelilerde koroner arter ve aortta vazokonstriksiyona (120-123), ratlarda renal arterde ve mezenterik arterde vazodilatasyona (124-126), insanda internal torasik arterde vazokonstriksiyona neden olabilmektedir (120). Sağlıklı insanda deride küçük damarlarda herhangi bir etki göstermiyor iken (127), kalp yetmezlikli hastalarda vazokonstriksiyona (128), insanda abdominal rezistans arterlerde vazodilatasyona neden olur (119).

UT'nin vazodilatasyon ve vazokonstriksiyon meydana getirme mekanizmasında UTR ekspresyonu oldukça önemli rolü sahiptir. UTR ekspresyonu, inositol trifosfatı aktive ederek hücre içi kalsiyum düzeyini artırır, L-tipi kalsiyum kanallarının aktivasyonu da hücre içine kalsiyum girişi olur ve buna sekonder vazokonstriksiyon gerçekleşir. UTR ekspresyonu bazı vasküler yapıların endotelinde meydana gelirse artan kalsiyum nitrikoksit sentazı aktive ederek vazodilatasyona sebebiyet verir (129-132).

UT plazma konsantrasyonu sağlıklı kişilerde düşük iken hastalık durumunda yüksek düzeylere çıkmaktadır (133). UT plazma konsantrasyonları kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, hipertansiyon, diyabet ve karaciğer yetmezliği, son dönem böbrek hastalıkları, preeklampsi ve pulmoner hipertansiyonda yüksek seviyelerdedir

(133,134).

Renal doku, memeli canlılarda UT'nin ana kaynağı olup, ana bileşik olan pre-pro UT renal dokuda çok yoğun olarak eksprese edilir (135). UT, böbreklerde arteriyal endotel, arteriyal düz kas hücresi, proksimal ve distal tübül ve glomerüllerde üretilmektedir. UT böbreklerde GFR refleks kontrolünü sağlar ve bunun sonucunda glomerüler filtrasyon hızının regülasyonunda önemli rol oynar. Böbreklerde vazodilatatör ve natriüretik etki yaparak memelilerin renal fonksiyonları ve kan basıncı regülasyonunda rol alır (136-140). Vasküler renal fonksiyon bozukluğu olan hastalarda, kronik böbrek yetmezliği olanlarda ve tip II diyabetes mellitus hastalarında plazma UT seviyesi yüksek seyrederek (135). UT'nin kardiyoprotektif etkisi nedeni ile kronik böbrek yetmezliği olan hastalarda yükseldiği de belirtilmektedir (141,142).

UT beyinde hipokampus, talamus, hipotalamus, pitüiter bez, pons, pineal bez, medulla, spinal kord gibi birçok anatomik bölgede bulunmaktadır (143,144). Beyin, spinal kord ve motor nöronlarda UT ve UTR benzeri immün reaktivite saptanması, UT'nin santral sinir sistemindeki önemli fonksiyonunu göstermektedir. Santral sinir sistemi içinde UT ekspresyonu gösterilmesi; UT'nin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinin, santral sinir sistemindeki UT tarafından da kontrol edildiğini göstermektedir (144). UT intraserebroventriküler olarak uygulandığında beş dakika sonra arteriel kan basıncı ve kalp hızında artışa, Adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve adrenalinde serbestleşmeye, beyinde kortikal kan akımında çok güçlü bir artışa sebep olmaktadır (145,146). Ratlarda sağ serebral arterin oklüzyonu yoluyla yapılan serebral iskemi modelinde ise UT'nin intraserebroventriküler enjeksiyon sonrasında iskemi bölgesinde alevlenme görülmüştür (147,148). Bu sonuçlar ACTH sekresyonunun merkezi sitümlasyonunda UT'nin beyinde nöromodulatör ya da nörotransmitter olarak önemli rol üstlendiği şeklinde yorumlanmaktadır (145).

GEREÇ YÖNTEM

ETİK KURUL KARARI

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'nun 21.02.2024 tarih ve 2024/04-07 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ve Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. Çalışma bütçesinin tamamı münferid olarak karşılandı.

DENEY HAYVANLARININ TEMİNİ VE BESLENMELERİ

Deneylerde kullanılan 14 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino cinsi dişi sıçanlar, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar FÜDAM hayvan laboratuvarında bulundukları ortamın sıcaklığı 22–25°C arasında sabit tutularak 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00-07:00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek add libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elâzığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı.

DENEY GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Gruplar aşağıda sıralanan şekilde oluşturuldu.

Grup I (Kontrol grubu n:7); Sıçanlara 5 günlük deney süresi boyunca her gün 1ml/kg %0,9 salin intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edilmiştir (149).

Grup II (Diklofenak Sodyumun grubu n:7); 5 gün boyunca her gün 50mg/kg intramüsküler (i.m) yolla diklofenak sodyum uygulanmıştır (149).

Son uygulamalardan 24 saat sonra tüm gruplardaki sıçanlardan anestezi altında intra kardiyak olarak kan alındıktan sonra anestezi altında sakrifiye edildi. Alınan doku ve kan örnekleri çalışma gününe kadar uygun koşullarda muhafaza edildi.

DOKU VE SERUM ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Deney süresi sonunda tüm gruplardaki sıçanlardan anestezi altında intra kardiyak olarak kan alındıktan sonra anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Alınan böbrek

doku örnekleri serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra %10'luk formaldehit içine konularak histolojik ve immunohistokimyasal çalışmalar için uygun koşullarda saklanmıştır. Alınan sıçan kan örnekleri ise 4000 rpm'de 8 dakika (Hettich ROTİNA 380/380R, Germany) santrifüj edilerek serumları alınmış olup serum örnekleri analiz tarihine kadar -80°C'de saklandı.

HİSTOLOJİK ANALİZLER

Histopatolojik değerlendirme Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı. Sakrifiye edilen hayvanlardan alınan doku örnekleri %10'luk formol çözeltisinin içerisinde bir haftalık post-fiksasyon işleminden sonra ışık mikroskopik analizleri gerçekleştirmek için rutin doku takip işlemleri yapıldı (tablo 6). Otomatik doku takip cihazı (Leica TP1020, Nussloch, Germany) ile rutin histolojik takibi (alkol, ksilen ve parafin serilerinden oluşan) yapılarak hazırlanan parafin bloklardan Thermo Shandon Finesse ME mikrotom cihazı (Thermo Fisher Scientific, Cheshire, UK) kullanılarak 4-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Daha sonra kesitler Hematoksilen-Eozin boyama metodu ile boyanıp ışık mikroskopta değerlendirilerek fotoğraflandı.

Tablo 6: Histolojik Takip Serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Etil Alkol	2 saat
2	%80 Etil Alkol	1,5 saat
3	%96 Etil Alkol I	30 dakika
4	%96 Etil Alkol II	30 dakika
5	%100 Etil Alkol I	30 dakika
6	%100 Etil Alkol II	30 dakika
7	Etil Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

İmmünohistokimyasal Analizler

Parafin bloklardan 4–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alınıp deparafinize edildi. Ardından dereceli alkol serilerinden geçirilen kesitler sitrat tampon solüsyonunda pH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Kaynatmanın ardından soğutmak için oda ısısında bekletilen dokular Phosphate Buffered Saline (PBS) ile yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesinin engellenmesi için 6 dakika hidrojen peroksid solusyonu uygulandı.

PBS ile 3x5 dakika yıkanana dokulara 5 dakika blok solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen primer antikorlar (PODXL antibody, 39-3800, thermofisher, USA, U II, sc-52300 santa Cruz Biotechnology, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra primer antikor ile uyumlu sekonder antikor ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı.

Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak tüm gruplar PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoxilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Leica DM500 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı (Leica DFC295). Boyamada immünreaktivitenin yaygınlığı (0.1: <%25, 0.4: %26-50, 0.6: %51-75, 0.9: %76-100) ve şiddeti (0: yok, +0.5: çok az, +1: az, +2: orta, +3: şiddetli) esas alınarak histoskor oluşturuldu.

Histoskor= yaygınlıkxşiddet (150,151).

BİYOKİMYASAL ANALİZLER

Total Antioksidan Seviyesi (Tas) Analizi

Serum örneklerinde TAS düzeyi Rel Assay marka ticari kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kataloğunda belirtilen prosedürlere uygun olarak ölçüldü. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazı (AwarenessTechnology Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar mmol Trolox equiv./lt olarak ifade edildi.

Total Oksidan Seviyesi (Tos) Analizi

Serum örneklerinde TOS düzeyi Rel Assay marka ticari kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Türkiye) kataloğunda belirtilen prosedürlere uygun olarak ölçüldü. Plate yıkamalarında otomatik yıkayıcı Bio-Tek ELX50 (BioTek Instruments, USA), absorbans okumalarında ChroMate, Microplate Reader P4300 cihazı (AwarenessTechnology Instruments, USA) kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv./lt olarak ifade edildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Sayısal ölçümler median ve minimum-maksimum olarak özetlendi. İki grup arasında karşılaştırmasında independent samples- Mann Whitney U testi kullanıldı. Bununla birlikte bonferroni düzeltilmesi yapılarak tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0, 01 olarak alındı. Bağımlı değişkenlerin analizinde ise paired samples t test kullanıldı ve istatistiksel önem düzeyi 0, 05 olarak alındı.

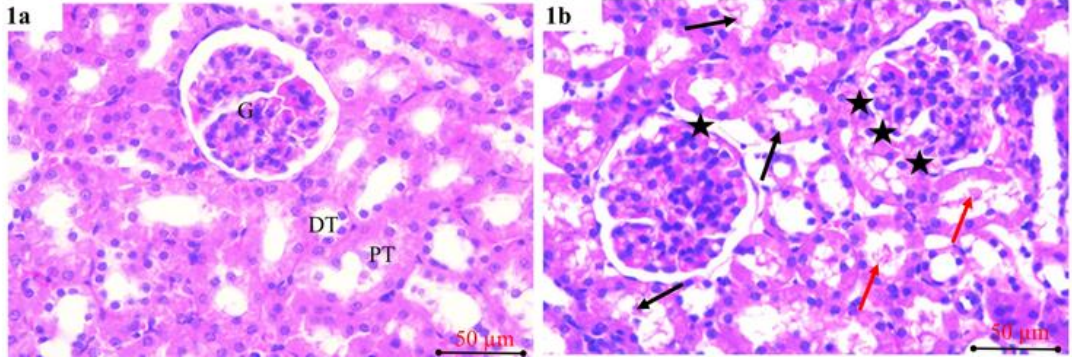
BULGULAR

HİSTOLOJİK BULGULAR

Histopatolojik bulgular

Hematoksilen&eozin, boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol (Şekil10.1a) grubuna ait böbrek dokusu normal histolojik yapısında gözlemlendi.

Kontrol grubuyla kıyaslandığında diklofenak sodyum grubunda (şekil10.1b) Glomerullerde belirgin atrofi ve bowman boşluğunda azalma izlendi (siyah yıldız). Ayrıca proksimal ve distal tübül epitelinde dejenerasyon (siyah ok) ile yer yer hiyalin kistleri (kırmızı ok) görüldü.

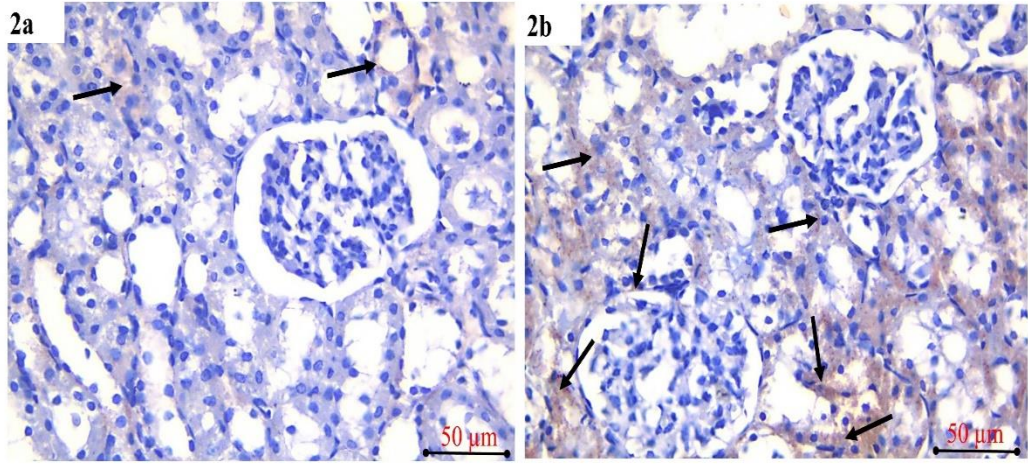


Şekil 10. Renal dokunun Hematoksilen&eozin boyama altında incelenmesi Hematoksilen&eozin, boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol (1a) böbrek dokusu normal histolojik yapısında gözlemlendi. Kontrol grubuyla kıyaslandığında ve diklofenak sodyum grubunda (1b) Glomerullerde belirgin atrofi ve bowman boşluğunda azalma izlendi (siyah yıldız). Ayrıca proksimal ve distal tübül epitelinde dejenerasyon (siyah ok) görüldü. (Scala bar: 50 µm, G: Glomerül, DT: Distal Tübül, PT: Proksimal Tübül).

İmmünohistokimyasal Bulgular

Böbrek dokusunda PODXL düzeyi

PODXL immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; PODXL immünreaktivitesi böbrek dokusunda (siyah ok) gözlemlendi. Kontrol grubuyla (Şekil2.2a) karşılaştırıldığında diklofenak sodyum grubunda PODXL immünreaktivitesi (Şekil2.2b) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştı ($p<0,001$).



Şekil 11. Böbrek dokusunda PODXL için immünohistokimyasal boyanma

Böbrek dokusunda PODXL (siyah ok) için immünohistokimyasal boyama. 2a- Kontrol grubu 2b- diklofenak sodyum grubunda artmış PODXL immunoreaktivitesi Mayer'in Hematoksilen ile boyanmıştır. Renklendirmede AEC kromojen kullanılmıştır. Scala bar: 50 µm

Tablo 7. PODXL histoskoru

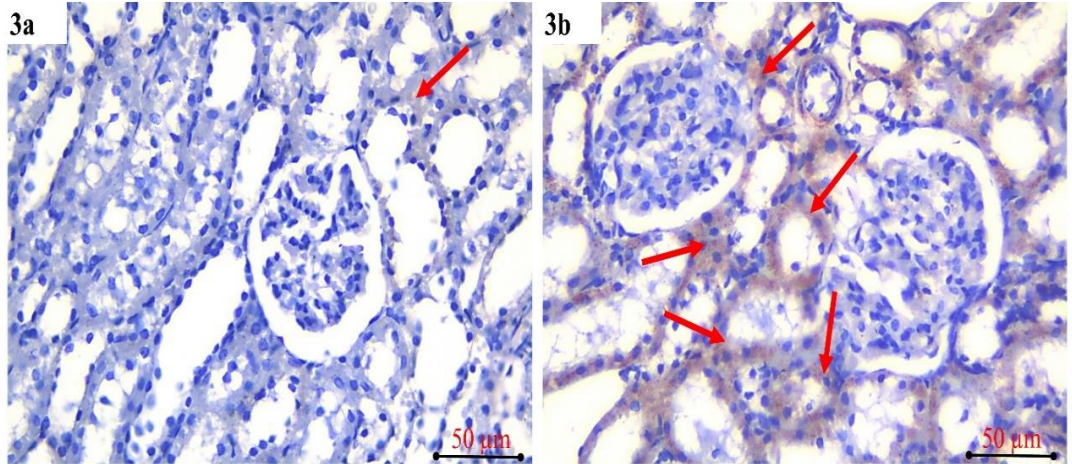
	PODXL Median (min-maks)
Kontrol	0, 40(0, 20-, 0,60)
Diklofenak sodyum	1, 20(0, 80-1,8) ^a

Değerler ortalama $\pm$ Median (min-maks) olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p < 0.05$).

Böbrek dokusunda U II düzeyi

U II immünreaktivitesi için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; U II immünreaktivitesi böbrek dokusunda (kırmızı ok) gözlemlendi. Kontrol grubuyla (Şekil3.3a) karşılaştırıldığında diklofenak sodyum grubunda U II immünreaktivitesi (Şekil3.3b) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmıştı ($p < 0,001$).



Şekil 12. Böbrek dokusunda U II için immünohistokimyasal boyama

Böbrek dokusunda U II (kırmızı ok) için immünohistokimyasal boyama. 3a- Kontrol grubu, 3b- diklofenak sodyum grubunda artmış U II immunoreaktivitesi Mayer'in Hematoksilen ile boyanmıştır. Renklendirmede AEC kromojen kullanılmıştır. Scala bar: 50 µm

Tablo 8. U II histoskoru

	U II Median (min-maks)
Kontrol	0, 20(0, 10-, 0,30)
Diklofenak sodyum	1, 20(0, 80-1,8) ^a

Değerler ortalama $\pm$ Median (min-maks) olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

BİYOKİMYASAL BULGULAR

Serum TAS ve TOS Düzeyi

Tüm gruplara ait serum TAS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan biyokimyasal çalışmada; TAS düzeyleri, Kontrol grubu ile kıyaslandığında Diclofenak sodyum grubunda, TAS düzeyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştı. ($p<0,001$)(Tablo 9). Bununla birlikte kontrol grubuna göre serum TOS düzeyi diklofenak grubunda istatistiksel olarak artmıştı. ($p<0,001$)(Tablo 10).

Tablo 9. Serum TAS Düzeyi

	TAS (mmol Trolox equiv./lt) Median (min-maks)
Kontrol	9,21 (6,16-12,36)
Diklofenak sodyum	4,18 (2,36-6,38) ^a

Değerler median (min-maks) olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında, ($p<0,01$).

Tablo 10. Serum TOS Düzeyi

	TOS (μmol H₂O₂ equiv./lt) Median (min-maks)
Kontrol	3,84 (2,27-5,69)
Diklofenak sodyum	13,58(12,54-14,33) ^a

Değerler median (min-maks) olarak verilmiştir.

^a Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında ($p<0,01$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Nonselektif non steroidal anti-inflamatuar ilaçlar tüm dünyada her geniş kitleler tarafından yan etkileri çoğunlukla bilinmeden sıklıkla kullanılmaktadır. Bu etken maddeye sahip her türlü ilacın anti-inflamatuvar, analjezik, antipiretik ve anti-trombosit etkileri vardır. Toplumda görülen en yaygın yan etkisi ise gastrointestinal sistem üzerinde olup, bu durumda daha çok COX-1 inhibisyon mekanizması ile ilişkilendirilmiştir.

NSAİİ'ye sekonder oluşan renal sendromlardan NSAİİ bağlı hipertansiyon, fazla su ve tuz tutulumu, ödem, hiperkalemi gibi önemli tıbbi durumlar oluşturmakta olup kronik dönemde hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği, siroz ve özellikle yaşlılarda GFR azalması oluşabilecek önemli riskli durumlardır.

NSAİİ'ler prostanoid oluşumunda anahtar enzimler olan COX 1 ve 2'yi inhibe ederek etki göstermektedirler. Bu enzimler böbrekte kortikal ve medüller bölgede farklı düzeylerde bulundukları gibi aynı etkilere farklı yanıtlar da verebilirler. Bu enzimlerin inhibisyonu sadece prostanoid düzeyini azaltmakla kalmaz aynı zamanda renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi ve renal vasküler tonisite ile etkileşerek böbrekte birçok patofizyolojik süreçte rol oynarlar.

Bu çalışmada selektif olmayan NSAİİ olan diklofenak sodyumun 14 adet 8-10 haftalık erişkin Wistar albino cinsi dişi sıçanlara uygulanması sonucu renal dokuda diklofenak sodyumun gösterdiği renal hasar histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Yine PODXL ve ürotensin II, renal dokuda göstermiş olduğu immunohistokimyasal histoskorlaması yapıldı. Ratların sakrifikasyonu sırasında alınan serumlarında kontrol ve çalışma gruplarının TOS, TAS düzeyleri incelenerek bu ve benzeri ilaçların olası yan etki profilleri biraz daha aydınlatılmaya çalışıldı.

Nonselektif COX inhibitörleri hem sistemik hem de böbrekte vazodilatör etkili PG yapımını inhibisyona uğratma özelliklerine de sahiptir Ayrıca COX sisteminin substratı olan araziidonik asitin lipoksijenaz yoluna yönelmesine neden olarak renal ve sistemik vazokonstüktör fonksiyonları olan lökotriyenlerin sentezinin artışına sebep olurlar (26). Vazodilatör ve vazokonstüktör moleküller arasındaki dengesizliğe lökotriyenlerin peritübüler kapiller permeabiliteyi artırarak yaptıkları tübüler hasar

oluşumu eklenince NSAİİ ile akut böbrek yetersizliği gelişebilmektedir.

Olağan koşullar altında dahi böbrek medullası sınırlı düzeyde kanlanma özelliği nedeniyle hipoksi sınırında olup, PGE2'nin lokal üretimi medüllaya yeterli kan akımının sağlanması için gereklidir (152). Laboratuvar çalışmalarında nonselektif COX inhibitörlerinin süperfisiyal kortikal kan akımını bir miktar artırırken medüller kan akımını anlamlı düzeyde azalttıkları ve bunun akut ve kronik renal hasara neden olabileceği gösterilmiştir (153). NSAİİ' nın böbrek hasarı üzerinde ki etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada böbrek tubulus epitellerinde dejenerasyon ve nekroz görüldüğü bildirilmiştir (154).

Diklofenak sodyum kullanılan bir çalışmada ratların böbrekleri histopatolojik yönden incelenmiş olup yapılan bu çalışmada böbreklerde glomerüller atrofi, hiyalin materyalleri ve tübülüs epitellerinde nekroz görülmüştür (26). Bu durum bizim çalışmamızda da benzer şekilde izlendi.

Diklofenak sodyum verilerek böbrek hasarı oluşturulan çok sayıda çalışma histopatolojik inceleme açısından genel olarak değerlendirildiğinde glomerulusta nekroz, bowman boşluğunda genişleme, distal ile proksimal tubulus epitellerinde hidropik dejenerasyon ve nekroz, böbrek dokusunda hafif orta şiddetli hiperemi, interstisyel kanamalar, hiyalin materyalleri görüldüğü şeklinde de rapor edilmiştir (155-158). Bizim çalışmamızda da literatür verileriyle uyumlu olacak şekilde böbrek dokusunun histopatolojik incelenmesinde glomerullerde belirgin atrofi ve bowman boşluğunda azalma izlendi. Ayrıca proksimal ve distal tübül epitelinde dejenerasyon ile yer yer hiyalin kistleri görüldü.

Çalışmamızdaki kontrol grubu ratlarında ise beklendiği gibi histopatolojik olarak herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Bahsedilen lezyonlar diklofenak sodyumla oluşturulan böbrek hasarını göstermekte olup, oksidatif stresin renal hasara sekonder artış göstereceği öngörüldüğünden bu bulgular serum TOS seviyesindeki artış ve TAS seviyesindeki azalış ile de uyumlu görünmektedir. Literatürde TOS- TAS düzeylerinin değerlendirilmesi için yapılan çalışmalarda da doku nekrozunun gerçekleştiği ya da histolojisinin bozulduğu durumlarda beklendiği şekilde tüm vücut sistematğinde olduğu gibi TOS düzeyi artmakta olup, TAS düzeyi azalmaktadır.

Ekstraselüler matriks proteini olan ve hasarlanmış podositlerden

ekspresyonunun arttığı bilinen PODXL immunhistokimyasal düzeyde incelenebiliyorken idrarla atılımı da olabilmektedir.

PODXL'nin kalp, akciğer, beyin, overler ve böbrek gibi birçok organın endotel hücrelerinde salgılanabildiği gösterilmiştir. Preeklampsinin erken evresinde serum PODXL düzeyinin anlamlı olarak arttığı ortaya konulmuştur ($p<0,0001$). Aynı çalışmada ayrıca PODXL'nin plasenta trofoblastlarından değil vasküler endotel hücrelerinden salgılandığı da gösterilmiştir. Preeklampsili hastalarda serum PODXL düzeyinin yüksek olması endotel hücre hasarına bağlanmıştır (159).

72 tip 2 DM hastasının ve 142 glomerüler hastalığı olan hastanın idrarlarında PODXL düzeylerine bakıldığı çalışmada idrar PODXL düzeyleri DM ve glomerüler hastalıkları olan hastalarda kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. (160).

Kanno ve ark. 2003 yılında yaptığı bir çalışmada IgA nefropatisi, Henoch-Schönlein purpura nefriti, lupus nefriti, membranoproliferatif glomerulonefrit, poststreptokokal glomerulonefrit, membranöz nefropati ve fokal segmental glomeruloskleroz gibi glomerüler hastalıkları olan çocukların idrarlarındaki PODXL düzeyini sağlıklı çocuklarınkıyla karşılaştırmıştır. Kontrol grubuna göre hasta grubunun idrarlarında PODXL düzeyi daha yüksek bulunmuştur (ortanca 3,4 pg/ml (0,6–27,2) (161).

Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da olduğu gibi preeklampsinin erken evresinde serum PODXL düzeyi yüksek saptanmıştır ve gestasyon yaşı arttıkça serum PODXL düzeylerinin de arttığı görülmüştür. Bu durum PODXL'nin böbrekten eksprese edildiği ve böbrek fonksiyonlarında bozulma olması durumunda ekspresyonun arttığı buna bağlı idrarla atılımının da arttığını göstermektedir (159).

Bizim çalışmamızda da diklofenak sodyumun farklı yollar üzerinden yapmış olduğu renal hasar nedeniyle, incelenebilseydi eğer ratların serum ve idrar PODXL ekspresyon düzeyleri de literatürdeki diğer çalışmalar gibi büyük olasılıkla yüksek saptanacaktı. Hücre hasarında artışa sekonder ekspresyonu artan PODXL bizim çalışmamızda immunhistokimyasal olarak incelendi ve önceden de belirtildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde artmış izlendi.

U II'nin renal ekspresyonu tübüleri ve glomerülleri içerir (162). Böbreklerdeki U II renal medulla ve kortekste lokalize olup, renal medulla önemli ölçüde bolluğa sahiptir (163). Dolaşımdaki veya idrardaki U II ve ürotensin II related peptid (URP)

konsantrasyonlarının yanı sıra doku UII, UTR ve URP, çeşitli kardiyovasküler ve böbrek fonksiyon bozuklukları ile ilişkilidir, bu da UII sistemini kardiyovasküler ve böbrek hastalıkları için potansiyel bir terapötik hedef haline getirir (164).

Literatürde kronik böbrek hastalığı (KBH)'nda U-II düzeyleriyle ilgili az sayıda çalışma vardır. Totsune ve ark., 24 sağlıklı kontrol, 14 diyaliz ihtiyacı olmayan kronik böbrek hastası ve 12 hemodiyaliz hastasında U II düzeylerini araştırmışlar ve kontrollerle kıyaslandığında KBH'larında U II düzeylerinin 2 kat, diyalize girenlerde ise 3 kat arttığını izlemişlerdir. Yaş ve cinsiyet ile U II düzeyleri arasında ilişki izlememişlerdir (165).

10 kontrol ve kreatinin klerensine göre grupladıkları 48 diyabetik hastayı kapsayan araştırmalarında (grup-1: GFH >70 ml/dk; grup-2: GFH 30-70 ml/dk; grup-3: GFH <30 ml/dk), tüm hasta gruplarında U II düzeylerini kontrollere göre, grup-3'te ise grup-1 ve grup-2 'ye göre daha yüksek bulmuşlardır. İdrar U II'sinin, plazma U-II düzeyleriyle pozitif korelasyon gösterdiğini ve en yüksek idrar U II atılımının grup-3'te olduğunu görmüşlerdir (166). Matsushita ve ark., renal tübüler anormallığı olanlarda, glomerüler patolojisi olanlara ve sağlıklı kişilere göre, gram kreatinin başına düşen, idrar U II konsantrasyonlarının arttığını göstermişler ve bu durumu U II'nin proksimal tübüllerden salgılanıp, distal tübüllerden reabsorbe olmasıyla açıklamışlardır (167). Dolayısıyla, renal patolojilere eşlik eden tübüler hasarın idrarda artmış U II atılımına neden olabileceğini düşünmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda da diklofenak sodyumun COX yolağını bozmasına sekonder oluşan renal hasar sonrası immunohistokimyasal düzeyde incelemede U II ekspresyonunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde arttığı tespit edilmiştir.

U II gen polimorfizminin insanlarda diyabet riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Tip 2 diyabetli Han Çinlilerinde U II geni rs228648 polimorfizmleri bildirilmiştir. Kontrolsüz diyabetin uzun dönemde nefropati yaptığı düşünülürse U II'nin hem sebep hem sonuç olarak arttığı da düşünülebilir (168).

Sonuç olarak diklofenak sodyum verilerek deneysel nefrotoksisite oluşturulan ratlarda böbrek dokusunda oksidatif hasar oluşumu sonucunda serum biyokimya analizinde TOS seviyesinde artış, TAS seviyesinde azalış gösterilmiştir. NSAİİ'lerin oluşturduğu nefrotoksisitenin antioksidan ajanlar ile önlenmesi veya sınırlandırılması

için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.



KAYNAKLAR

1. Wood D, Greenwell T. Surgical anatomy of the kidney and ureters. *Surgery*, 2013;31(7): 326-328.
2. Kabalin JN: Surgical anatomy of the retroperitoneum, kidneys and ureters. In *Campbell's Urology*, (7) (Eds PC Walsh, AB Retik, ED Vaughan, AJ Wein) Philadelphia, Saunder, 1998:49-88.
3. Erken E, Arınoy ST. Böbrek Fizyopatolojisi. Arınoy T, Güngör Ö, Koçyiğit Ğ. (Eds): Reaktif, 2017:147-158.
4. Mahadevan V: Anatomy of the kidney and ureter. *Surgery (Oxford)* , 2019;37(7);359-364.
5. Bassett S: *Anatomy & Physiology*, Wiley Publishing, Hoboken, 2005:326-330.
6. Hall JE: *Guyton & Hall Textbook of Medical Physiology*, 12nd ed. Saunders Elsevier, Philadelphia. 2011.
7. . Malyankar UM, Almeida M, Johnson RJ, Pichler RH, Giachelli CM: Osteopontin regulation in cultured rat renal epithelial cells. *Kidney International* 1997;51(6):1766-1773.
8. Rouffignac CD, Elalouf JM, Roinel N: Physiological control of the urinary concentrating mechanism by peptide hormones. *Kidney International* 1987;31(2): 611-620.
9. Cheng CY, Chu JY, Chow BK: Vasopressin-independent mechanisms in controlling water homeostasis. *J Mol Endocrinol* 2009;43(3): 81-92.
10. Chiasson RB. *Laboratory anatomy of the white rat*, 5nd ed. Wm, Brown. 1987.
11. Çakır ÖO, Yürük E, Binbay M: Üriner Sistem Taş Hastalığında Deneysel Modeller. *Endoüroloji Bülteni*. 2014;7:13-7.
12. Netter FH, Colacino S: *Atlas of human Anatomy*. Ciba-Geigy Corporation. 1989.
13. Junqueira LC, Carneiro J: *Basic Histology*, 10 nd ed. 2002. Aytekin Y, Solakoğlu S: *Temel Histoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2006: 383-399.
14. . Arıncı K, Elhan A: *Anatomi*, 5. baskı. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara. 2014;311-316.

15. Özbağ D: İnsan Anatomi, 1. Baskı. İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul. 2020; 36-38.
16. Girgin A, Alabay B, Liman N, Özfiliz N, Gülmez N, Özcan Z ve ark.: Veteriner Özel Histoloji, 1. baskı. Nobel yayın dağıtım TİC LTD ŞTİ, Ankara. 2008; 48-52.
17. Deniz MN: Böbrek Fizyolojisi. <http://www.jcam.com.tr/files/JCAM-3906.pdf>. Erişim tarihi: 20.05.2024.
18. Kröning R, Katz D, Lichtenstein A, Nagami G: Differential effects of cisplatin in proximal and distal renal tubule epithelial cell lines. *British journal of cancer* 1999;79(2): 293-299.
19. Silverthorn DU, Johnson BR: Human physiology: an integrated approach, 5nd ed. Pearson Benjamin Cummings, USA. 2010;624-42.
20. Finco DR: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5nd ed. In: Kaneko J, Harvey J, Michael B (Eds): Chapter 17 - Kidney Function. Academic Press 1997;441-484.
21. Meade EA, Smith WL, DeWitt DL: Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other nonsteroidal antiinflammatory drugs. *J Biol Chem*, , 1993;9:6610-6614.
22. Dural EÖA: Farmakoloji, 3. Baskı. Nobel Tıp Yayınevi, İstanbul.2002;255-259.
23. Muñoz FM, Ancillo AM, Noche DC, Pena JMD, Ara CG, Boyano T et al. Evaluation of drug-related hypersensitivity reactions in children. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1999;9(3): 197-177.
24. Andalib S, Naeini AM, Garjani A, Asl NA, Abdollahi: A comparative study pertaining to deleterious effects of diclofenac sodium and meloxicam on kidney tissue in rats. *EXCLI J* 2011;10:149-154.
25. Izhar M, Alausa T, Folker A, Hung E, Bakris G.L: Effects of COX Inhibition on Blood Pressure and Kidney Function in ACE Inhibitor-Treated Blacks and Hispanics. *Hypertension* 2004;43(3): 573-577.
26. Efrati S, Berman S, Tov Y.S, Lotan R, Averbukh Z, Weissgarten J, Golik A: Nacetylcysteine attenuates NSAID-induced rat renal failure by restoring intrarenal prostaglandin synthesis. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(7): 1873–1881.

27. Chevalier RL: Molecular and cellular pathophysiology of obstructive nephropathy. *Pediatr Nephrol* 1999;13(7): 612-619.
28. Traş B, Elmas M, Yazar E: Veteriner ilaç, 2. Baskı. Olgun-Çelik ofset matbaa Ltd. Şti, Konya 2016;379-386.
29. Todd PA, Sorkin EM: Diclofenac sodium. A reappraisal of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy. *Drugs*, 1988;35(3): 244-285.
30. Palomo ME, Ballesteros MP, Frutos P: Analysis of diclofenac sodium and derivatives. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 1999;21(1): 83–94.
31. Açıkgöz M, Kaş HS, Hıncal AA: Diklofenak sodyum. *FABAD farmasötik Bilimler Dergisi* 1994;19:37-47.
32. Žilnik LF, Jazbinšek A, Hvala A, Vrečer F, Klamt A: Solubility of sodium diclofenac in different solvents. *Fluid Phase Equilibria* 2007;261:140-145.
33. Serri C, de Gennaro B, Quagliariello V, Iaffaioli RV, De Rosa G, Catalanotti L, Biondi M, Mayol L: Surface modified zeolite-based granulates for the sustained release of diclofenac sodium. *Eur J Pharma Sci* 2017;99: 202–208.
34. Willkens RF: Worldwide clinical safety experience with diclofenac. *Semin Arthritis Rheum* 1985;15(2): 105–110.
35. McCormack, PL, Scott LJ: Diclofenac sodium injection (Dyloject): in postoperative pain. *Drugs* 2008;68(1): 123–130.
36. Kayaalp O: Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 12. Baskı. Ankara.2009: 81-84.
37. Brogden RN, Heel RC, Pakes GE, Speight TM, Avery GS: Diclofenac Sodium: A Review of its Pharmacological Properties and Therapeutic Use in Rheumatic Diseases and Pain of Varying Origin. *Drugs* 1980;20:24–48.
38. Small R: Diclofenac sodium. *Clin Pharm* 1989;8(8): 545–548.
39. Mostafa RE, El-Marasy SA, Abdel Jaleel GA, Bakeer RM: Protective effect of royal jelly against diclofenac-induced hepato-renal damage and gastrointestinal ulcerations in rats. *Heliyon* 2020;6(2):e03330.
40. Oaks JL, Gilbert M, Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA, et al. Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*

2004;427(6975): 630–633.

41. Muralidharan S, Dhananjaya V: Diclofenac Residues in Blood Plasma and Tissues of Vultures Collected from Ahmedabad India. *Bull Environ Contam Toxicol* 2010;85: 377– 380.
42. Preiser JC: Oxidative Stress. *JPEN* 2012;36(2): 147-154.
43. Tabakoğlu E, Durgut R: Veteriner Hekimlikte Oksidatif Stres ve Bazı Önemli Hastalıklarda Oksidatif Stresin Etkileri. *AVKAE Dergisi*, 2013;3(1): 69-75.
44. Aslan SN, Karahalil B: Oksidatif Stres ve Parkinson Hastalığı. *Ankara Ecz Fak Dergisi* 2019;43(1): 94-116.
45. Ercan N, Fidancı UR: Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2'deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri. *Ankara Üniv Vet Fak Dergisi* 2012;59(3): 163-168.
46. Daenen K, Andries A, Mekahli D, Schepdael A.V, Jouret F, Bammens B: Oxidative stress in chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology* 2018;34(6): 975–991.
47. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC: Oxidative stress, anti- oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology* 2012;17(4): 311–321.
48. Whelton A, Hamilton CW. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: Effects on kidney function. *J Clin Pharmacol* 1991;31: 588–598.
49. Oates JA, FitzGerald GA, Branch RA, Jackson EK, Knapp HR, Roberts LJ 2nd. Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A₂ formation. *N Engl J Med*. 1988; 319: 689–698.
50. Clive DM, Stroff JS. Renal syndromes associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *N Engl J Med* 1984; 310: 563–572.
51. Tan SY, Shapiro R, Franco R, Stockard H, Mulrow PJ. Indomethacin-induced prostaglandin inhibition with hyperkalemia. *Ann Intern Med* 1979; 90: 783–785.
52. Akbarpour F, Afrasiabi A, Vazirin ND. Severe hyperkalemia caused by indomethacin and potassium supplementation. *South Med J* 1985; 78: 756–757.
53. Mor R, Pitlik S, Rosenfeld JB. Indomethacin and moduretic-induced hyperkalemia. *Isr J Med Sci* 1983; 19: 535–537.
54. Galler M, Folkert VW, Schlondorff D. Reversible acute renal insufficiency

and hyperkalemia following indomethacin therapy. *JAMA* 1981; 246: 154–155.

55. Nicholls MG, Espiner EA. Indomethacin-induced azotemia and hyperkalemia: a case study. *N Z Med J* 1981; 94: 377–379.

56. Findling JW, Beckstrom D, Rawsthorne L. Indomethacin-induced hyperkalemia in 3 patients with gouty arthritis. *JAMA* 1980; 244: 1127–1128.

57. Paladini G, Tonazzi C. Indomethacin-induced hyperkalemia and renal failure in multiple myeloma. *Acta Haematol (Basel)* 1982; 68: 256–260.

58. Walshe JJ, Venuto RC. Acute oliguric renal failure induced by indomethacin: possible mechanisms. *Ann Intern Med* 1979; 91: 47–49.

59. Arisz L, Donker AJ, Brentjens JR, van der Hem GK. The effect of indomethacin on proteinuria and kidney function in the nephrotic syndrome. *Acta Med Scand* 1976; 199: 121–125.

60. Kleinknecht C, Broyer M, Gubler MC, Palcoux JH. Irreversible renal failure after indomethacin in steroid-resistant nephrosis. *N Engl J Med* 1980; 302: 691.

61. Blackshear JL, Napier JS, Davidman M, Stillman MT. Renal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Identification and monitoring of those at risk. *Semin Arthritis Rheum* 1985; 14: 163–175.

62. McCarthy JT, Torres VE, Romero JC, Wochos DN, Velosa JA. Acute intrinsic renal failure induced by indomethacin: Role of prostaglandin synthesis inhibition. *Mayo Clin Proc* 1982; 57: 289–296.

63. Whelton A, Stout RL, Spilman PS, Klassen DK. Renal effects of ibuprofen, piroxicam and sulindac in patients with asymptomatic renal failure: A prospective, randomized, crossover comparison. *Ann Intern Med* 1990; 112: 568–576.

64. Bunning RD, Barth WF. Sulindac: A potentially renal sparing nonsteroidal anti-inflammatory drug. *JAMA* 1982; 248: 2864–2867.

65. Levin ML. Patterns of tubulo-interstitial damage associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Semin Nephrol* 1988; 8: 55–61.

66. Bender WL, Whelton A, Beschoner WE, Darwish MO, Hall-Craggs M, Solez K. Interstitial nephritis, proteinuria, and renal failure caused by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Immunologic characteristics of the inflammatory infiltrate. *Am J*

Med 1984; 76: 1006–1012.

67. Stachura L, Jayakumar S, Bourke E. T and B lymphocyte subsets in fenoprofen nephropathy. *Am J Med* 1983; 75: 9–16.
68. Radford, M. G., Jr, Holley, K. E., Grande, J. P., Larson, T. S., Wagoner, R. D., Donadio, et al. Reversible membranous nephropathy associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *JAMA* 1996; 276: 466–469.
69. Shah GM, Muhalwas SS, Winer RL. Renal papillary necrosis due to ibuprofen. *Arthritis Rheum* 1981; 24: 1208–1210.
70. Gregg, N. J., Elseviers, M. M., De Broe, M. E., & Bach, P. H. Epidemiology and mechanistic basis of analgesic- associated nephropathy. *Toxicol Lett* 1989; 46: 141–151.
71. Atta MG, Whelton A. Acute renal papillary necrosis induced by ibuprofen. *Am J Therapeut* 1997; 4: 55–60.
72. Husserl FE, Lange RK, Kantrow JM. Renal papillary necrosis and pyelonephritis accompanying fenoprofen therapy. *JAMA* 1979; 242: 1896–1898.
73. Bengtsson U, Johansen S, Angervall L. Malignancies of the urinary tract and their relation to analgesic abuse. *Kidney Int* 1978; 13: 107–111.
74. McCredie M, Ford JM, Stuart TJ, Stewart JH. Analgesics and cancer of the pelvis in New South Wales. *Cancer* 1982; 49: 2617–2625.
75. Vane JR: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971; 231: 232–234.
76. Kujubu, D. A., Fletcher, B. S., Varnum, B. C., Lim, R. W., & Herschman, H. R. TIS10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J Biol Chem* 1991; 266: 12866–12872.
77. Langenbach R. Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration. *Cell* 1995; 83: 483–492.
78. Dinchuk J.E. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. *Nature* 1995; 378: 406–409.
79. Stanfield KS, Khan KN, Gralinski MR: Localization of cyclooxygenase

isozymes in cardiovascular tissues of dogs treated with naproxen. *Vet Immuno* 2001; 80: 309–314

80. Smith WL, Bell TG. Immunohistochemical localization of the prostaglandin-forming cyclooxygenase in renal cortex. *Am J Physiol* 1978; 235: 451–457.

81. Khan, K. N., Venturini, C. M., Bunch, R. T., Brassard, J. A., Koki, A. T., Morris, D., et al. Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: Implications in nonsteroidal antiinflammatory drug-related nephrotoxicity. *Toxicol Pathol* 1998; 26: 612–620.

82. Kömhoff, M., Grone, H. J., Klein, T., Seyberth, H. W., & Nüsing, R. M. Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: Implication for renal function. *Am J Physiol* 1997; 272: 460–468.

83. Nantel, F., Meadows, E., Denis, D., Connolly, B., Metters, K. M., & Giaid, A. Immunolocalization of cyclooxygenase-2 in the macula densa of human elderly. *FEBS Lett* 1999; 457: 475–477.

84. Haas JA, Knox FG. Effect of meclofenamate or ketoconazole on the natriuretic response to increased pressure. *J Lab Clin Med* 1996; 128: 202–207.

85. Currie MG, Needleman P. Renal arachidonic acid metabolism. *Annu Rev Physiol* 1984; 46: 327–341.

86. Vio, C. P., Cespedes, C., Gallardo, P., & Masferrer, J. L. Renal identification of cyclooxygenase-2 in a subset of thick ascending limb cells. *Hypertens* 1997; 30: 687–692.

87. Yang, T., Singh, I., Pham, H., Sun, D., Smart, A., Schnermann, J. B., et al. Regulation of cyclooxygenase expression in the kidney by dietary salt intake. *Am J Physiol* 1998; 274: 481–489.

88. Brooks, D. P., DePalma, P. D., Pullen, M., Elliott, J. D., Ohlstein, E. H., Nambi, P. SB 234551, a novel endothelin—A receptor antagonist, unmasks endothelin-induced renal vasodilatation in the dog. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31: 339–341.

89. Rodríguez, F., Llinás, M. T., González, J. D., Rivera, J., Salazar, F. J. Renal changes induced by a cyclooxygenase-2 inhibitor during normal and low sodium intake. *Hypertens* 2000; 36: 276–281.

90. Nielsen JS, McNaghy KM. The Role of Podocalyxin in Health and Disease. *J*

Am Soc Nephrol. 2009 Aug 1;20(8):1669.

91. Doyonnas, R., Kershaw, D. B., Duhme, C., Merkens, H., Chelliah, S., Graf, T., et al. Anuria, Omphalocele, and Perinatal Lethality in Mice Lacking the Cd34-Related Protein Podocalyxin. *J Exp Med* 2001;194(1):13-27.
92. Orlando, R. A., Takeda, T., Zak, B., Schmieder, S., Benoit, V. M., McQuistan, T., et al. The Glomerular Epithelial Cell Anti-Adhesin Podocalyxin Associates with the Actin Cytoskeleton through Interactions with Ezrin. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(8):1589- 1598.
93. Tan, P. C., Furness, S. G., Merkens, H., Lin, S., McCoy, M. L., Roskelley, C. D., et al. Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor-1 is a hematopoietic ligand for a subset of the CD34 family of stem cell surface proteins. *Stem Cells*. 2006;24(5):1150–61.
94. Shenolikar S, Voltz JW, Cunningham R, Weinman EJ. Regulation of ion transport by the NHERF family of PDZ proteins. *Physiology (Bethesda)*. 2004 Dec;19:362–9.
95. Schmieder S, Nagai M, Orlando RA, Takeda T, Farquhar MG. Podocalyxin Activates RhoA and Induces Actin Reorganization through NHERF1 and Ezrin in MDCK Cells. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(9):2289-2298.
96. Nielsen JS, Doyonnas R, McNagny KM. Avian models to study the transcriptional control of hematopoietic lineage commitment and to identify lineage-specific genes. *Cells Tissues Organs*. 2002;171(1):44–63.
97. Sasseti C, Tangemann K, Singer MS, Kershaw DB, Rosen SD. Identification of Podocalyxin- like Protein as a High Endothelial Venule Ligand for L-selectin: Parallels to CD34. *J Exp Med* 1998;187(12):1965-1975.
98. Drew E, Merzaban JS, Seo W, Ziltener HJ, McNagny KM. CD34 and CD43 inhibit mast cell adhesion and are required for optimal mast cell reconstitution. *Immunity*. 2005;22(1):43– 57.
99. Nielsen JS, Graves ML, Chelliah S, Vogl AW, Roskelley CD, McNagny KM. The CD34- related molecule podocalyxin is a potent inducer of microvillus formation. *PLoS One* 2007 ;2(2):e237.

100. Montesano R, Matsumoto K, Nakamura T, Orci L. Identification of a fibroblast-derived epithelial morphogen as hepatocyte growth factor. *Cell* 1991;67(5):901–8.
101. Dechend, R., Viedt, C., Müller, D. N., Ugele, B., Brandes, R. P., Wallukat, G., et al. AT1 receptor agonistic antibodies from preeclamptic patients stimulate NADPH oxidase. *Circulation*. 2003;107(12):1632–9.
102. Zhou, C. C., Zhang, Y., Irani, R. A., Zhang, H., Mi, T., Popek, E. J., et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nat Med*. 2008;14(8):855–62.
103. Schnabel E, Dekan G, Miettinen A, Farquhar MG. Biogenesis of podocalyxin--the major glomerular sialoglycoprotein--in the newborn rat kidney. *Eur J Cell Biol*. 1989;48(2):313–26.
104. Kurihara H, Anderson JM, Kerjaschki D, Farquhar MG. The altered glomerular filtration slits seen in puromycin aminonucleoside nephrosis and protamine sulfate-treated rats contain the tight junction protein ZO-1. *Am J Pathol*. 1992;141(4):805–16.
105. Takeda T, McQuistan T, Orlando RA, Farquhar MG. Loss of glomerular foot processes is associated with uncoupling of podocalyxin from the actin cytoskeleton. *J Clin Invest*. 2001;108(2):289–301.
106. Chen Q, Wang Y, Li Y, Zhao M, Nie G. Serum podocalyxin is significantly increased in early-onset preeclampsia and may represent a novel marker of maternal endothelial cell dysfunction. *J Hypertens*. 2017;35(11):2287–94.
107. Ames RS, Sarau HM, Chambers JK, Willette RN, Aiyar NV, Romanic AM, et al. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature* 1999;401: 282-6.
108. Onan D, Hannan RD, Thomas WG. Urotensin II: the old kid in town. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15: 175-82.
109. Langham RG, Kelly DJ, Gow RM, Zhang Y, Dowling JK, Thomson NM, et al. Increased expression of urotensin II and urotensin II receptor in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2004;44: 826-31.
110. Ross B, McKendy K, Giaid A. Role of urotensin II in health and disease. *Am*

J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2010;298:1156-72.

111. Vaudry H, Do Rego JC, Le Mevel JC, Chatenet D, Tostivint H, Fournier A, et al. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci*, 2010;1200: 53-66.

112. Jegou S, Cartier D, Dubessy C, Gonzalez BJ, Chatenet D, Tostivint H, et al. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 2006;495: 21-36.

113. Clozel M, Binkert C, Birker-Robaczewska M, Boukhadra C, Ding SS, Fischli W, et al. Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-[2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin System. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;311: 204-12.

114. Protopopov A, Kashuba V, Podowski R, Gizatullin R, Sonnhammer E, Wahlestedt C, et al. Assignment of the GPR14 gene coding for the G-protein-coupled receptor 14 to human chromosome 17q25.3 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 2000;88: 312-3.

115. Douglas SA, Tayara L, Ohlstein EH, Halawa N, Giaid A. Congestive heart failure and expression of myocardial urotensin II. *Lancet*, 2002;359: 1990-7.

116. Totsune K, Takahashi K, Arihara Z, Sone M, Ito S, Murakami O. Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)*, 2003;104: 1-5.

117. Bousette N, Patel L, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Increased expression of urotensin II and its cognate receptor GPR14 in atherosclerotic lesions of the human aorta. *Atherosclerosis* 2004;176: 117-23.

118. Russell FD, Molenaar P, O'Brien DM. Cardiostimulant effects of urotensin-II in human heart in vitro. *Br J Pharmacol* 2001;132: 5-9.

119. Stirrat A, Gallagher M, Douglas SA, Ohlstein EH, Berry C, Kirk A, et al. Potent vasodilator responses to human urotensin-II in human pulmonary and abdominal resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;280: 925-8.

120. Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2000;131: 441-6.

121. Maguire JJ, Kuc RE, Wiley KE, Kleinz MJ, Davenport AP. Cellular distribution of immunoreactive urotensin-II in human tissues with evidence of increase expression in atherosclerosis and a greater constrictor response of small compared to large coronary arteries. *Peptides*, 2004;25: 1767-74.
122. Bottrill FE, Douglas SA, Hiley CR, White R. Human urotensin-II is an endothelium-dependent vasodilator in rat small arteries. *Br J Pharmacol*, 2000;130: 1865-70.
123. Gray GA, Jones MR, Sharif I. Human urotensin II increases coronary perfusion pressure in the isolated rat heart: potentiation by nitric oxide synthase and cyclooxygenase inhibition. *Life Sci*, 2001;69: 175-80.
124. Zhang AY, Chen YF, Zhang DX, Yi FX, Qi J, Andrade-Gordon P, de Garavilla L, Li PL, Zou AP. Urotensin II is a nitric oxide-dependent vasodilator and natriuretic peptide in the rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003;285: F792-8.
125. Gardiner SM, March JE, Kemp PA, Bennett T. Bolus injection of human UII in conscious rats evokes a biphasic haemodynamic response. *Br J Pharmacol*, 2004;143: 422-30.
126. Gardiner SM, March JE, Kemp PA, Davenport AP, Bennett T. Depressor and regionally-selective vasodilator effects of human and rat urotensin II in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 2001;132: 1625-9.
127. Hillier C, Berry C, Petrie MC, O'Dwyer PJ, Hamilton C, Brown A, et al. Effects of urotensin II in human arteries and veins of varying caliber. *Circulation*, 2001;103: 1378-81.
128. Sondermeijer B, Kompa A, Komesaroff P, Krum H. Effect of exogenous urotensin-II on vascular tone in skin microcirculation of patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*, 2005;18: 1195-9.
129. Maguire JJ, Davenport AP. Is urotensin-II the new endothelin? *Br J Pharmacol*, 2002;137: 579-88.
130. Luscher TF. Endothelium-derived nitric oxide: the endogenous nitrovasodilator in the human cardiovascular system. *Eur Heart J*, 1991;12 Suppl E: 2-11.
131. Tzanidis A, Hannan RD, Thomas WG, Onan D, Autelitano DJ, See F, et al.

Direct actions of urotensin II on the heart: implications for cardiac fibrosis and hypertrophy. *Circ Res*, 2003;93: 246-53.

132. Moncada S, Higgs EA. Nitric oxide and the vascular endothelium. *Handb Exp Pharmacol*, 2006;213-54.

133. McDonald J, Batuwangala M, Lambert DG. Role of urotensin II and its receptor in health and disease. *J Anesth*, 2007;21: 378-89.

134. Zhu YC, Zhu YZ, Moore PK. The role of urotensin II in cardiovascular and renal physiology and diseases. *Br J Pharmacol*, 2006;148: 884-901.

135. Matsushita M, Shichiri M, Imai T, Iwashina M, Tanaka H, Takasu N, et al. Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens*, 2001;19: 2185-90.

136. Lim M, Honisett S, Sparkes CD, Komesaroff P, Kompa A, Krum H. Differential effect of urotensin II on vascular tone in normal subjects and patients with chronic heart failure. *Circulation*, 2004;109: 1212-4.

137. Shenouda A, Douglas SA, Ohlstein EH, Giaid A. Localization of urotensin-II immunoreactivity in normal human kidneys and renal carcinoma. *J Histochem Cytochem*, 2002;50: 885-9.

138. Abdel-Razik AE, Balment RJ, Ashton N. Enhanced renal sensitivity of the spontaneously hypertensive rat to urotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008;295: 1239-47.

139. Debiec R, Christofidou P, Denniff M, Bloomer LD, Bogdanski P, Wojnar L, et al. Urotensin-II system in genetic control of blood pressure and renal function. *PLoS One*, 2013;8(12): e83137.

140. Forty EJ, Ashton N. Ontogeny of the renal urotensin II system in the rat. *Exp Physiol*, 2012;97: 785-95.

141. Zoccali C, Mallamaci F. Urotensin II: a cardiovascular and renal update. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2008;17: 199-204.

142. Takahashi K, Jones PM, Kanse SM, Lam HC, Spokes RA, Ghatei MA, et al. Endothelin in the gastrointestinal tract. Presence of endothelinlike immunoreactivity, endothelin-1 messenger RNA, endothelin receptors, and pharmacological effect. *Gastroenterology*, 1990;99: 1660-7.

143. Vaudry H, Leprince J, Chatenet D, Fournier A, Lambert DG, Le Mevel JC, et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCII. Urotensin II, urotensin II-related peptide, and their receptor: from structure to function. *Pharmacol Rev*, 2015;67: 214-58.
144. Hunt BD, Ng LL, Lambert DG. A rat brain atlas of urotensin-II receptor expression and a review of central urotensin-II effects. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2010;382: 1-31.
145. Watson AM, McKinley MJ, May CN. Effect of central urotensin II on heart rate, blood pressure and brain Fos immunoreactivity in conscious rats. *Neuroscience*, 2008;155: 241-9.
146. Lin Y, Tsuchihashi T, Matsumura K, Fukuhara M, Ohya Y, Fujii K, et al. Central cardiovascular action of urotensin II in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 2003;26: 839-45.
147. Huitron-Resendiz S, Kristensen MP, Sanchez-Alavez M, Clark SD, Grupke SL, Tyler C, et al. Urotensin II modulates rapid eye movement sleep through activation of brainstem cholinergic neurons. *J Neurosci*, 2005;25: 5465-74.
148. Chuquet J, Lecrux C, Chatenet D, Leprince J, Chazalviel L, Roussel S, et al. Effects of urotensin-II on cerebral blood flow and ischemia in anesthetized rats. *Exp Neurol*, 2008;210: 577-84.
149. El-Shafei, R. A., Saleh, R. M. Pharmacological effects of vitamin C & E on diklofenak sodium intoxicated rats. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2016;84:314-322
150. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29:577–80.
151. Türk, A., Kuloğlu, T., Zencirci, B., Gürel, A., Karadağ, A., Özay, Y., Hançer, S., Yüzer, M. E., Türkawoodn, K. & Özkaya, A. Effects of 3-Benzoyl-7-Hydroxy Coumarin Compound on TNF- α and Caspase-3 Immunoreactivity in Kidneys of Rats Exposed to Aluminum . *Commagene Journal of Biology* 2023;7: 73-78 .
152. Brezis, M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla-its implications for disease. *N Engl J Med* 1995;332: 647–655.

153. Agmon, Y, Brezis M. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs upon intrarenal blood flow: selective medullary hypoperfusion. *Exp Nephrol* 1993;1: 357–363.
154. Cheng CY, Chu JY, Chow BK: Vasopressin-independent mechanisms in controlling water homeostasis. *J Mol Endocrinol* 2009;43(3): 81-92.
155. Iftikhar A, Hasan IJ, Sarfraz M, Jafri L, Ashraf MA: Nephroprotective Effect of the Leaves of *Aloe barbadensis* (Aloe Vera) against Toxicity Induced by Diclofenac Sodium in Albino Rabbits. *West Indian Med J* 2015;64 (5): 462.
156. Ahmed AY, Gad AM, El-Raouf OMA: Curcumin ameliorates diclofenac sodium-induced nephrotoxicity in male albino rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2017.;31(10).
157. Borghi SM, Fattori V, Ruiz-Miyazawa KW, Bertozzi MM, Lourenco-Gonzalez Y, Tatakihara RI, et al. Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits mouse acute kidney injury induced by diclofenac by targeting oxidative damage cytokines and NF- κ B activity. *Life Sciences* 2018;208: 221-231.
158. Wadie W, Abdel-Razek NS, Salem HA. Phosphodiesterase (1, 3 & 5) inhibitors attenuate diclofenac-induced acute kidney toxicity in rats. *Life Sciences*, 2011;277.
159. Chen, Q., Wang, Y., Li, Y., Zhao, M., Nie, G. Serum podocalyxin is significantly increased in early-onset preeclampsia and may represent a novel marker of maternal endothelial dysfunction. *Placenta* 2017; 57: 322.
160. Hara, M., Yamagata, K., Tomino, Y., Saito, A., Hirayama, Y., Ogasawara, et al. Urinary podocalyxin is an early marker for podocyte injury in patients with diabetes: establishment of a highly sensitive ELISA to detect urinary podocalyxin. *Diabetologia* 2012; 55: 2913-9.
161. Kanno, K., Kawachi, H., Uchida, Y., Hara, M., Shimizu, F., Uchiyama, M. Urinary sediment podocalyxin in children with glomerular diseases. *Nephron Clinical Practice* 2003; 95: 91-9.
162. Balat, A., Büyükçelik, M. Urotensin-II: more than a mediator for kidney. *Internet J. Nephrol.* 2012; 249790

163. Abdel-Razik A.E., Balment R.J. Ashton N. Enhanced renal sensitivity of the spontaneously hypertensive rat to urotensin II. *Am. J. Physiol. Ren. Physiol* 2008;295(4): 1239–1247.
164. Vaudry H., Leprince J., Chatenet D., Fournier A., Lambert D.G., Le Mevel J.C., et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCII. Urotensin II, urotensin II-related peptide, and their receptor: from structure to function. *Pharmacol. Rev* 2015; 67(1), 214–258.
165. Totsune, K., Takahashi, K., Arihara, Z., Sone, M., Ito, S., & Murakami, O. Increased plasma urotensin II levels in patients with diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond)*, 2003; 104(1): 1-5.
166. Totsune, K., Takahashi, K., Arihara, Z., Sone, M., Murakami, O., Ito, S, et al., Elevated plasma levels of immunoreactive urotensin II and its increased urinary excretion in patients with Type 2 diabetes mellitus: association with progress of diabetic nephropathy. *Peptides*, 2004; 25(10): 1809-14.
167. Matsushita, M., Shichiri, M., Imai, T., Iwashina, M., Tanaka, H., Takasu, et al. Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. *J Hypertens*, 2001; 19(12): 2185-90.
168. Sun H.X., Du W.N., Zuo J., Wu G.D., Shi G.B., Shen Y., et al. The association of two single nucleotide polymorphisms in PRKCZ and UTS2 respectively with type 2 diabetes in Han people of northern China. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2002;24(3):223–227.





T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK
KURULU
KARARLARI



Oturum Tarihi
21.02.2024

Oturum Saati
14:00

Oturum Sayısı
2024/04-07

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 21.02.2024 tarihinde saat 14:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

Prof.Dr. Ramazan ULU tarafından yürütülecek olan "**Diclofenac sodyum uygulanmış sıçanların böbrek dokularında Podokaliksin ve Ürotensin-2 düzeylerinin incelenmesi**" başlıklı araştırma projenizde **14 adet erkek Sprague-Dawley Rat** kullanılacağı ve hayvanlar üzerinde yapılacak girişimlerde hayvan kullanım etiği ilkelerine uyulacağı tarafınızdan beyan edilmiştir. Bu çerçevede aşağıda ismi bulunan araştırmacılara ait projenin "Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesi" gereği altı ay aralıklarla Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kuruluna bilgi verilmesi şartıyla uygun olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

1. Prof. Dr. Ramazan ULU
2. Arş. Gör.Dr. Eda EVCI
3. Prof. Dr. Tuncay KULOĞLU
4. Dr. Öğr. Üyesi Ahmet TÜRK
5. Dr. Öğr. Üyesi Gülsen BAYRAK
6. Arş. Gör. Dr. Serhat HANÇER

Kurul Üyeleri:

Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Prof. Dr. Seyfettin GÜR
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT (bulunmadı)
Prof. Dr. Cemal Georg ORHAN
Prof. Dr. Serkan DÜNDAR (Bulunmadı)
Prof. Dr. Muhammet Enis YONAR
Prof. Dr. Tuncay KULOĞLU (Katılmadı)
Doç. Dr. Burcu GÜL
Öğr. Gör. Vet. Hek. Dr. Ebru GÖKDERE
Murat ÇİÇEK
Şaban YAŞA

Başkan
Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Seyfettin GÜR

Prof. Dr. Cemal Georg ORHAN



T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK
KURULU
KARARLARI



Oturum Tarihi
21.02.2024

Oturum Saati
14:00

Oturum Sayısı
2024/04-07

Prof. Dr. Muhammet Enis YONAR

Doç. Dr. Burcu GÜL

Öğr.Gör. Ebru GÖKDERE

Murat ÇİÇEK

Şaban YAŞA





T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK
KURULU
KARARLARI



Oturum Tarihi
22.05.2024

Oturum Saati
14:00

Oturum Sayısı
2024/10-11

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 22.05.2024 tarihinde saat 14:00'da Kurul Başkanı Prof. Dr. Mustafa İSSİ başkanlığında, aşağıda imzaları bulunan kurul üyelerinin katılımlarıyla toplanarak gündemdeki konuları görüşmüş ve aşağıdaki kararları almıştır.

Prof.Dr. Ramazan ULU tarafından yürütülecek olan 21.02.2024 tarih ve 2024/04-07 sayılı karar ile onaylanan "**Diclofenac sodyum uygulanmış sıçanların böbrek dokularında Podokaliksin ve Ürotensin-2 düzeylerinin incelenmesi**" başlıklı araştırma projesi ile ilgili dilekçesinde belirtmiş olduğu hayvan cinsiyetinin dişi olarak değiştirilmesine oybirliği ile karar verilmiştir.

Kurul Üyeleri:

Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Prof. Dr. Seyfettin GÜR
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT
Prof. Dr. Cemal Georg ORHAN
Prof. Dr. Serkan DÜNDAR
Prof. Dr. Muhammet Enis YONAR
Prof. Dr. Tuncay KULOĞLU
Doç. Dr. Burcu GÜL
Öğr. Gör. Vet. Hek. Dr. Ebru GÖKDERE
Murat ÇİÇEK
Şaban YAŞA

Başkan
Prof. Dr. Mustafa İSSİ
Kurul Başkanı

Prof. Dr. Seyfettin GÜR

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Prof. Dr. Cemal Georg ORHAN

Prof. Dr. Serkan DÜNDAR

Prof. Dr. Muhammet Enis YONAR

Prof. Dr. Tuncay KULOĞLU

Doç. Dr. Burcu GÜL

Öğr.Gör. Ebru GÖKDERE

Murat ÇİÇEK

Şaban YAŞA

Kurul Başkanı tarafından Oy Çokluğuyla kurul imzaları tamamlanmıştır.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5392&eD=BSV8PTTKYH&eS=24454> adresinden yapılabilir.

