



T.C.

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**ETİLEN GLİKOLLE İNDÜKLENMİŞ NEFROLİTİYAZISLI
RATLARDA KAFEİNİN PROFLAKSİDEKİ ETKİNLİĞİ VE
ANNEXİN A1'İN PATOFİZYOLOJİDEKİ ROLÜ**

DR. MUHAMMET ÜNAL BOYRAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

BOLU 2024



T.C.

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**ETİLEN GLİKOLLE İNDÜKLENMİŞ NEFROLİTİYAZISLI
RATLARDA KAFEİNİN PROFLAKSİDEKİ ETKİNLİĞİ VE
ANNEXİN A1'İN PATOFİZYOLOJİDEKİ ROLÜ**

DR. MUHAMMET ÜNAL BOYRAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ HÜSEYİN ALPEREN

YILDIZ

BOLU 2024

ETİK KURUL ONAY BELGESİ



T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayı : 6
Konu : Kararlar

18.3.2024

BAŞVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Etilen glikolle indüklenmiş nefrolitiazisli ratlarda kafeinin profilaksisteki etkinliği ve annexin A1'in patofizyolojideki rolü.
	ARAŞTIRMANIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Efficacy of caffeine in prophylaxis in rats with ethylene glycol-induced nephrolithiasis and the role of annexin A1 in pathophysiology.
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin Alperen YILDIZ
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Arş.Gör.Dr.Muhammet Ünal BOYRAZ, Doç.Dr.Murat Alışık, Doç.Dr.Selma ERDOĞAN DÜZCÜ, Prof.Dr.Seyit Ali KAYIŞ
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2024/05	Tarih (Date): 06.03.2024
	Dr.Öğr.Üyesi Hüseyin Alperen YILDIZ'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın 36 adet sıçan ile gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu
Prof.Dr. İdris TÜREL (Başkan)	Farmakoloji AD. Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Prof.Dr. Seyit Ali KAYIŞ (Başkan Yardımcısı)	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilgi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Prof.Dr. Uğur ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Doç.Dr. Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Doç.Dr. Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Doç.Dr. ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK (Üye)	Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi
Dr.Öğr. Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi
Dr.Öğr. Üyesi Canan AKÜNAL TÜREL (Üye)	Nöroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi
Dr.Öğr.Üyesi Ömer Faruk BOYLU (Üye)	Ağız Diş ve Çene Cerrahisi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi
Veteriner Hekim Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi
Veteriner Hekim Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.
Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Aşağı Soku Mah. Şair Şinasi Sok. Ayşe Hanım Apt.24/6 BOLU

ETİK İLKELERE UYULDUĞUNA İLİŞKİN BEYAN

Tıpta uzmanlık tezi olarak sunduğum “**Etilen glikolle indüklenmiş nefrolitiyazisli ratlarda kafeinin profilaksideki etkinliği ve Annexin A1’in patofizyolojideki rolü**” başlıklı çalışmanın yazılmasında bilimsel ve etik kurallara uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda atıfta bulunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin tamamının ya da bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitede bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

09/06/2024

Dr. Muhammet Ünal Boyraz

TEŞEKKÜR

Eğitim sürecim boyunca mesleki bilgi ve deneyimi kazanmamda emeği geçen değerli hocam Ana bilim dalı başkanımız Prof. Dr. Uğur Üyetürk'e,

Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin Alperen YILDIZ' a,

Değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet Metin, Prof. Dr. Eray Kemahlı,

Doç. Dr. Emrullah Söğütöden ve kliniğimizin uzmanı olan değerli

Uzm. Dr. Mevlüt YILDIZ ağabeye,

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve
klinikteki çalışma arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca her zaman ve her koşulda yanımda olan emekleri ödenemeyecek
aileme,

Her konuda olduğu gibi bu süreçte de bana destek olan, varlığını hissettiren sevgili
eşime,

Sonsuz teşekkürler...

İçindekiler

ETİK KURUL ONAY BELGESİ.....	i
ETİK İLKELERE UYULDUĞUNA İLİŞKİN BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
TABLO DİZİNİ.....	v
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Üriner Sistem Taşlarının Epidemiyolojisi.....	2
2.2. Taş Oluşum Mekanizmaları.....	4
2.2.1. Kristal Nükleasyonu.....	5
2.2.2. Kristal Agregasyonu ve Büyümesi.....	5
2.2.3. Hücresel Düzeyde Taş Oluşumu.....	6
2.2.4. Doygunluk ve Süpersatürasyon.....	6
2.2.5. Genetik ve Metabolik Faktörler.....	7
2.2.6. Oksidatif Stresin Rolü.....	7
2.2.7. Diyet ve Yaşam Tarzı Faktörleri.....	7
2.2.8. İnhibitör ve Promoter Maddeler.....	7
2.2.9. Annexin A 1 kristal bağlayıcı protein.....	8
2.2.9.1 Annexin A1'in yapısı ve işlevi.....	9
2.2.9.2 Annexin A1 ve Kristal Bağlanma Mekanizması.....	9
2.2.9.3 Annexin A1 ve Kafein Etkileşimi.....	10
2.2.9.4 Annexin A1'in Oksidatif Stres Yanıtı.....	10
2.2.9.5 Annexin A1'in Genetik Ekspresyonu ve Taş Oluşumuna Yatkınlık.....	10
2.2.9.6 Annexin A1'i Hedefleyen Potansiyel Tedavi Yöntemleri.....	11
2.3. Taş Oluşumunu Önleme ve Tedavi Yöntemleri.....	11
2.3.1. Farmakolojik Tedavi Yöntemleri.....	11

2.3.2. Diyet ve Yaşam Tarzı Değişiklikleri.....	12
2.3.3. Bitkisel Tedavi ve Fitoterapi	13
2.3.4. Cerrahi Tedavi Yöntemleri.....	14
2.4.Kafein.....	15
2.4.1. Kafeinin Taş Oluşumunu Artırıcı Etkileri.....	15
2.4.2. Kafeinin Taş Oluşumunu Önleyici Etkileri.....	16
2.4.3. Doza Bağlı Etki ve Günlük Kafein Tüketimi.....	17
2.4.4. Kafein ve Böbrek Taşı Türleri.....	17
2.4.5. Kafein ve Genetik Faktörler.....	18
2.4.6. Klinik Öneriler ve Kafein Tüketiminin Düzenlenmesi.....	18
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	19
3.1. Deney Hayvanları.....	19
3.2. Deney Protokolü.....	20
4. BULGULAR.....	24
4.1. Serum Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması.....	24
4.2. İdrar Parametrelerinin Karşılaştırılması.....	25
4.3. Histopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması.....	27
5. TARTIŞMA.....	30
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	34
7 KAYNAKÇA.....	35

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Ratların ortalama ağırlıkları.....	20
Tablo 2: Grupların serum parametrelerine göre karşılaştırılması	24
Tablo 3: Grupların idrar parametrelerine göre karşılaştırılması.....	25
Tablo 4: Grupların histopatolojik sonuçlara göre karşılaştırılması.....	29
Tablo 5: Grupların Annexin A1 ile boyanmalarına göre karşılaştırılması.....	29

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Wistar tipi erişkin ratlar	19
Şekil 2: Metabolik kafeslere alınan ratlar.....	21
Şekil 3: Sakrifiye edildikten sonra alınan böbrek.....	21
Şekil 4: Kontrol grubu: Normal tubul yapıları, Etilen glikol grubu: Tubullerde atrofi ve dilatasyon bulguları mevcut, tubul içerisinde büyük boyutlu kristaloid mevcut, Kafein grubu: Tubullerde hasar belirgin değil.....	26
Şekil 5: Kontrol grubu: Anneksin A boyanması, glomerülde , toplayıcı duktus ve interstisyumda, Etilen glikol grubu: Anneksin A boyanması glomerülde, toplayıcı duktus ve interstisyumda, Kafein grubu: Anneksin A boyanması glomerülde ve proksimal tubulde, toplayıcı duktus ve interstisyumda.....	26
Şekil 6: Grupların histopatolojik parametrelerinin karşılaştırılması.....	28

KISALTMALAR

NHANES	: Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi
MI	: Miyokard İnfarktı
RNA	: Ribonükleik asit
mg/dL	: miligram/desilitre
mmol/L	: milimol/litre
µmol/L	: mikromol/litre
EG	: Etilen Glikol
PS	: Potasyum Sitrat
CaOx	: Kalsiyum Oksalat
VKI	: Vücut Kitle İndeksi
MRQ-3	: Mouse Monoclonal Antibody
ESWL	: Şok Dalga Litotripsi
BSA	: Vücut Yüzey Alanı
HED	: İnsan Eşdeğer Dozu

ÖZET

Amaç: Çalışmanın amacı kafeinin taş oluşumunda koruyucu etkinliğini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen 36 adet erişkin Wistar tipi rat üç gruba ayrıldı. I. Grup kontrol grubu olarak sadece su ile, II. Grup %0,75'lik etilen glikol ile, III. Grup %0,75'lik etilen glikol ve kafein ile 28 gün boyunca laboratuvar şartlarında oral gavaj yoluyla beslendi. Ratlar 28 günün sonunda 24 saatlik idrar toplanması amacıyla metabolik kafeslere alındı. Sonrasında ratlar sakrifiye edilerek serumda Üre, Cr, Na, Ca, Mg, K, Cl ve idrarda kristal, lökosit, pH değerleri çalışıldı. Böbrek dokularının histolojik kesitlerinde kristal yapıları incelendi. İmmunohistokimyasal boyanmanın incelenmesinde tubulointerstisyum ve glomerüllerdeki boyanma dikkate alınarak değerlendirme yapıldı. Annexin A1 (MRQ-3) antikoru düzeyi sitoplazmik Annexin A1 (MRQ-3), membranöz Annexin A1 (MRQ-3) ve sitoplazmik membranözün toplamı Annexin A1 (MRQ-3) şeklinde ayrı ayrı değerlendirildi.

Bulgular: Serum bulgularında, etilen glikol verilen grupta kreatinin ve magnezyum seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yükseldi. Etilen glikol+kafein grubunda ise bu seviyeler azalmış olarak gözlenmiş olup, kafeinin etkili olduğu gözlemlendi. Histopatolojik bulgularda, etilen glikol grubunda belirgin tübüler hasar, dilatasyon ve kristal oluşumu tespit edildi. Kafein grubunda bu parametreler azalmış, kristal oluşumu minimal seviyede gözlemlendi. Annexin A1 ile boyanmaları etilen glikol grubunda artış göstermiş; kafein de eklenen grupta bu boyanmaların azaldığı görüldü. Kristal oluşumu, etilen glikol+kafein grubunda, sadece etilen glikol grubuna göre daha az olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tartışma: Çalışmamız, kafein ve Annexin A1 proteinin böbrek taşı oluşumuna karşı etkisini değerlendiren ilk in vivo çalışma olması açısından önem taşımaktadır. Annexin A1 proteininin böbrek taşı oluşumundaki rolü, kristal bağlanma mekanizmalarına olan etkisiyle

ilişkili olmakla beraber bu proteinin, hücre membranına kristal bağlanmasını kolaylaştırarak taş oluşumunda kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda, etilen glikol ve etilen glikol+kafein grupları arasında Annexin A1 ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak kristal oluşumunda belirgin bir fark gözlenmese de tübüler vakuolizasyon, konjesyon ve inflamasyon gibi böbrek hasarı parametrelerinde kafeinin koruyucu etkisi olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Nefrolitiyazis, Kristalizasyon, Böbrek Taşı, Kafein, Annexin A1, MRQ-3

ABSTRACT

Background: The aim of the study was to investigate the protective effect of caffeine on stone formation.

Material and Methods: Thirty-six Wistar-type rats were obtained from the Experimental Animals Research Center of Bolu Abant İzzet Baysal University and divided into three groups. Group I, serving as the control group, was fed only water. Group II was given 0.75% ethylene glycol, and Group III was administered 0.75% ethylene glycol and caffeine per rat for 28 days via oral gavage under laboratory conditions. At the end of the 28-day period, the rats were placed in metabolic cages for 24-hour urine collection. Subsequently, the rats were sacrificed, and serum levels of urea, creatinine (Cr), sodium (Na), calcium (Ca), magnesium (Mg), potassium (K), and chloride (Cl) were analyzed along with urinary crystals, leukocytes, and pH. Kidney tissue crystal structures were examined in histological sections. Immunohistochemical staining was evaluated based on staining patterns in the tubulointerstitial and glomerular regions. The levels of Annexin A1 (MRQ-3) antibody were assessed separately as cytoplasmic Annexin A1 (MRQ-3), membranous Annexin A1 (MRQ-3), and the total of cytoplasmic and membranous Annexin A1 (MRQ-3).

Results: In serum findings, creatinine and magnesium levels were significantly elevated in the ethylene glycol group compared to the control group. In the ethylene glycol + caffeine group, these levels decreased, indicating the effectiveness of caffeine. Histopathological findings revealed marked tubular damage, dilation, and crystal formation in the ethylene glycol group. In the caffeine group, these parameters were reduced, and crystal formation was observed at minimal levels. Staining with Annexin A1 showed an increase in the ethylene glycol group, whereas in the group with added caffeine, a decrease in staining was observed. Although crystal formation was lower in the ethylene glycol + caffeine group compared to the ethylene glycol group alone, this difference was not statistically significant.

Conclusion: Our study holds significance as the first in vivo research evaluating the effects of caffeine and Annexin A1 protein on kidney stone formation. The role of Annexin A1 in kidney stone formation is associated with its influence on crystal adhesion mechanisms. This protein facilitates the binding of crystals to the cell membrane, thereby playing a critical role in stone development. In our study, no statistically significant difference was found in Annexin A1 expression between the ethylene glycol and ethylene glycol+caffeine groups. However, while no notable difference in crystal formation was observed, caffeine demonstrated a protective effect on kidney damage parameters such as tubular vacuolization, congestion, and inflammation. These findings provide valuable insights into the potential role of Annexin A1 in the pathophysiology of kidney stones.

Keywords: Nephrolithiasis, Crystallization, Kidney Stone, Caffeine, Annexin A1, MRQ-3

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Böbrek taşları, dünya genelinde erişkinlerin yaklaşık %10'unu etkileyen yaygın bir hastalıktır ve bu hastalığın görülme sıklığı giderek artmaktadır[1]. Nefrolitiazis olarak da bilinen böbrek taşları, Kuzey Amerika'da %7 ila %13, Avrupa'da %5 ila %9, Asya'da ise %1 ila %5 oranlarında görülmekte olup, özellikle İsveç, Kanada ve ABD gibi gelişmiş ülkelerde bu oran %10'un üzerine çıkmaktadır [2]. Bu bölgelerde, son yirmi yılda böbrek taşı vakalarında %37'den fazla artış kaydedilmiştir [3]. Taş hastalığının, kronik böbrek hastalığı (KBH) gelişme riskini artırdığına dair kanıtlar da gün geçtikçe güçlenmektedir [4].

Böbrek taşı olan hastaların yaklaşık %50'sinin ilk beş ila on yıl içinde tekrar taş oluşumu nedeniyle sağlık kuruluşlarına başvuruda bulunduğu, yirmi yıl içinde ise bu oranın %75'e ulaştığı gözlemlenmiştir[5]. Ailede böbrek taşı öyküsü bulunması, genç yaşta taş hastalığı geçirilmesi, yüksek vücut kitle indeksi (VKİ), hipertansiyon gibi risk faktörleri ve beyaz ırktan olma, geçmişte şüpheli böbrek taşı atağı öyküsünün bulunması gibi durumlar nüks oranını artırmaktadır[6]. Böbrek taşları genellikle yan ağrısı, bulantı, kusma, idrarda kanama ve ilerleyen dönemlerde böbrek hasarına bağlı böbrek kaybına kadar varabilen semptomlarla kendini gösterir [7].

Böbrek taşlarının boyutu ve kimyasal yapısına bağlı olarak farklı tedavi yöntemleri bulunmaktadır[8]. Gelişen tıbbi teknoloji ile birlikte endoskopik cerrahi uygulamaları, taş tedavisinde standart hale gelmiştir[8]. Ancak, bu tedavi için kullanılan cihazlar (kamera, nefroskop, üreterorenoskop, C-kollu röntgen ve lazer gibi) sağlık sistemlerine önemli ekonomik yükler getirmektedir[8]. ABD'de üriner sistem taş hastalığının yıllık maliyetinin iki milyar dolara ulaştığı belirtilmektedir [8]. Bu nedenle, taş oluşumunu önlemeye yönelik koruyucu tedaviler giderek daha fazla önem kazanmaktadır[8].

Doğal metilksantinler, özellikle kafein ve teofilin, böbrek fonksiyonları üzerinde çeşitli etkiler göstermektedir [9]. Geleneksel olarak idrar çıkışını artırmak için kullanılan bu maddeler, hafif diüretik etkiler sergileyerek tübüler sıvı reabsorpsiyonunu engeller [9]. Kafeinin böbrek taşı oluşumunu engelleyici etkisine dair 2016 yılından itibaren yapılan in vitro çalışmalarda, CaOx (kalsiyum oksalat) taşlarının oluşumunu önleyici etkiler gözlemlenmiştir[10]. Bu etkinin, kalsiyum oksalat kristal bağlayıcı proteinlerden biri olan Annexin A1'in hücre yüzeyinden uzaklaşmasını sağladığı ve böylece kristal bağlanma riskini azalttığı düşünülmektedir[10]. Bu mekanizma, kafeinin paradoksal bir şekilde idrardaki kalsiyum seviyesini artırmasına rağmen taş oluşumunu azaltabilmesinin bir açıklaması olarak öne sürülmektedir[10].

Bu çalışma, kafeinin böbrek taşı oluşumuna karşı profilaksideki etkinliğini ve Annexin A1'in böbrek taşı patofizyolojisindeki rolünü araştırmayı amaçlamaktadır. Kafeinin böbrek taşı oluşumuna olan etkisinin anlaşılması, taş hastalığının önlenmesine yönelik yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Bu çalışmanın bulguları, kafeinin taş oluşumunu engelleme potansiyelini ve Annexin A1'in bu süreçteki rolünü ortaya koyarak, böbrek sağlığı alanında koruyucu yaklaşımlar için bilimsel bir temel oluşturmayı hedeflemektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Üriner Sistem Taşlarının Epidemiyolojisi

Üriner sistem taş hastalığı (ürolitiazis), dünya çapında yaygın bir sağlık sorunu olup, birçok ülkede görülme oranlarında artış yaşanmaktadır[2],[13]. Bu hastalığın, farklı düzenlerde ve yaş gruplarında yaygınlığı ile dikkat çekmekte ve sıklıkla 20 ila 50 yaş arası yetişkinlerde görülmektedir[5]. Erkeklerde kadınlardan daha yüksek oranlarda görülmekte olup, yıllık ortalama görülme oranında artış olduğu bildirilmektedir[2]. Coğrafi iklim ve iklim koşullarına

göre değişkenlik gösteren böbrek taşının yaygınlığı, genetik yatkınlık ve yaşam tarzı unsurlarının da dağılımı farklı toplumlarda farklı oranlarda gözlemlenmektedir [13].

ABD'de yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre, böbrek taşlarının görülme oranı yıllar içinde artış göstermiştir [14]. 1970'lerden 2000'lere kadar olan veriler, böbrek taşının giderek daha sık ortaya çıktığını göstermektedir. Bu artış, gelişmiş yaşam tarzı değişikliği, yüksek proteinli diyetler, artan tuz tüketimi ve düşük sıvı alımı gibi faktörler bağlanmaktadır[14]. Chewcharat ve Curhan'ın (2021) çalışması, 2007-2016 yılları arasında ABD'de böbrek taşı prevalansının giderek arttığını ve bu durumun sağlık sisteminin ciddi bir yük gösterdiğini göstermektedir [2].

Avrupa'da da benzer bir artış gözleniyor[15]. Almanya'da yapılan araştırmalarda, 1979 ile 2000 yılları arasında böbrek taşlarının görüldüğü ve %60 oranında görüldüğü belirlendi [15]. Almanya, İtalya ve İspanya gibi dönemlerdeki artış nedenleri arasında, nüfus yaşlanması ve artan sağlık eğitimi yer almaktadır[15]. Avrupa genelinde yapılan diğer çalışmalarda, sıcak iklim bölgelerinde yaşayan bireylerde taş hastalıklarının daha yaygın olduğu ve iklim değişikliğinin taş oluşumunda etkili olduğunu vurgulamaktadır[13].

Asya kıtasında da üriner sistem taş hastalığı yaygın olarak görülmektedir[13]. Hindistan, Pakistan ve Çin gibi düzenli böbrek taşlarının yaygınlığı oldukça yüksektir[13]. Hindistan'da yapılan araştırmalar, sıcak iklim, yetersiz su tüketimi ve yüksek oksalat içeren gıdaların yaygın tüketimi nedeniyle böbrek taşı hastalıklarının sıklaştığı görülmektedir[13]. Düşük sıvı alımı ve yüksek sıcaklıkların, taş oluşumundaki artışta önemli bir rol oynadığı görülmektedir[13].

Afrika kıtasında taş hastalıklarının görülme oranı daha düşük olmakla birlikte, iklim değişikliği ve kentleşme nedeniyle görülme oranında bir artış gözlenmemektedir [13].

Üriner sistem taş hastalığı riski, cinsiyete ve yaşa göre değişiklik göstermektedir [5]. Erkeklerde görülme oranı kadınlardan daha yüksek olmasına rağmen, menopoz sonrası risk

artmaktadır[5]. Erkeklerde üriner sistem taş hastalığının yaygınlığının yüksek olması, hormonal ve metabolik verilerle ilişkilendirilmektedir[5]. Genç yaşlarda böbrek taşı görülme oranı düşüken, 20 yaşında sonra bu oran hızla artmakta ve 30-50 yaş arasında zirveye ulaşmaktadır [2].

Obezite, metabolik sendrom, yetersiz fiziksel aktivite ve aşırı tuz tüketimi gibi yaşam tarzının böbrek taşı hastalığında büyük etkisi bulunmaktadır [14]. Modern yaşam tarzına geçiş, özellikle Batı toplumlarında yüksek proteinli ve oksalat bakımından zengin besinlerin tüketimi artırılmış ve bu durum üriner sistem taş hastalığı riskini artırmıştır[8]. Günümüzde epidemiyolojik çalışmalar, bu ülkede yalnızca yaygınlığını açıklamalarıyla aynı zamanda yüksek maliyet ve sağlık sisteminin getirdiği yükü de analiz etmektedir [16]. Üriner sistem taş hastalıklarının giderilmesi ve giderim maliyetlerinin yüksek olması, bu sistematik kapsamlı gelişimi ortaya koymaktadır[16].

Dünya çapındaki taş hastalığının görülme sıklığı artışı, bu alanda korunma ve tedavi teknolojilerinin geliştirilmesinin artırıldığını vurgulamaktadır[13],[16]. Epidemiyolojik veriler, böbrek taşı hastalığının dünyada önemli bir sağlık sorunu haline geldiğini ve bu sorunların önlenmesi için multidisipliner bir tedaviye ihtiyacın duyulduğunu göstermektedir[13], [16].

2.2. Taş Oluşum Mekanizmaları

Üriner sistem taşlarının oluşum mekanizmaları, çeşitli biyokimyasal süreçlerin karmaşık bir etkileşimine dayanır ve bu süreçler taşın oluşumuna katkıda bulunur[17],[18]. Taş oluşumunun temel süreci, idrarda belirli minerallerin doygunluk seviyesine ulaşarak kristalleşmesi ve zamanla birleşerek (agregasyon) büyümesidir[17] ,[18].Taş oluşumu süreci, kristal nükleasyonu, agregasyon, büyüme ve taşın üreterden geçemeyerek vücutta kalması gibi aşamaları içerir [17],[18].

2.2.1. Kristal Nükleasyonu

Kristal nükleasyonu, taş oluşum sürecinin ilk aşaması olup, idrar içinde çözünebilen tuzların belirli bir doygunluğa ulaştığında kristal yapılar oluşturmaya başlamasıdır[17],[18]. Bu süreçte, kalsiyum oksalat, kalsiyum fosfat ve ürik asit gibi maddeler kristal yapı oluşturarak nükleasyonu başlatır ve taş oluşumunun ilk aşamasını oluşturur[17], [18]. İdrarın pH değeri, idrardaki iyon konsantrasyonu ve kristal inhibitörlerinin yetersizliği, çekirdeklenme sürecini etkileyen önemli faktörlerdir[17],[18]. Özellikle asidik veya alkali idrar, belirli tür kristallerin oluşumuna neden olur [17];[18]. Üriner sistem taşlarının oluşumu, karmaşık biyokimyasal süreçlere dayanmakta ve çeşitli genetik ve metabolik parçacıkların iletişimi ile gerçekleşmektedir[17],[18]. Taş oluşum sürecinde, belirli minerallerin doygunluğa ulaşip kristalleşmesi ve sürekli kümelenmeler (birleşmeler) oluşturmasıyla taş haline gelmesi gözlemlenir [17],[18]. Bu süreç, kristallerin nükleasyonu, toplanması, büyümesi ve üreterden taşınması gibi aşamaları içermektedir [17],[18].

2.2.2. Kristal Agregasyonu ve Büyümesi

Kristal çekirdeklerinin oluşumundan sonra, küçük kristallerin bir araya getirilmesi daha büyük yığın oluşturmasıyla agregasyon aşaması gerçekleşir[17],[20]. Agregasyon sırasında kristallerin bir araya gelerek taş haline gelmesi, inhibitör proteinlerin eksikliği ile kolaylaşır [17],[20]. Kristal büyümesinde sitrat, magnezyum ve diğer inhibitör maddeler rol oynar; bu eksiklik, kristallerin hızlanmasına ve taş oluşumuna yol açar[17],[20].

2.2.3. Hücresel Düzeyde Taş Oluşumu

Epitel açıklıkları böbrek taşı oluşumunda önemli düzeyde bir rol oynar[17], [21]. Epitel hücrelerinin hasar görmesi, kristallerin böbrek dokusu yüzeyine yapışmasını kolaylaştıran bir ortam oluşturur [17], [21]. Özellikle böbrekteki serbest oksijen radikallerinin artışı ile oluşan oksidatif stres, hücre hasarını arttırarak taş oluşumuna katkı sağlar [21].

2.2.4. Doygunluk ve Süpersatürasyon

İdrar, belirli mineraller açısından doygunluk noktasına ulaştığında, yani süpersatürasyon gerçekleştiğinde, bu mineraller çözeltide çözünmeyip birleşerek kristallerin oluşmasına ve taş haline gelmesine neden olur [15],[18].

Süpersatürasyon, belirli minerallerin (örneğin, kalsiyum, oksalat ve fosfat) aşırı miktardaki bileşenin kristalleşme riskini arttırır [15], [18].

Düşük sıvı alımı veya aşırı dalgalanma gibi koşulların yoğunlaşmasına yol açan taş oluşumu riskini arttırır [15],[18].

2.2.5. Genetik ve Metabolik Faktörler

Taşın oluşumundaki genetik gidişatın önemi giderek daha iyi anlaşılmaktadır [3],[6]. Bazı böbreklerinde taş oluşumuna yatkınlık gösteren genetik ve metabolik bozukluklar, taş oluşumu riskini artırmaktadır [3],[6]. Hiperoksalüri (yüksek oksalat), hiperkalsiüri (yüksek kalsiyum) ve ürik asit metabolizma bozuklukları gibi genetik yatkınlıklar, taş oluşumu riskini artırmaktadır [3], [6].

2.2.6. Oksidatif Stresin Rolü

Oksidatif stresin böbrek taşı oluşumundaki rolü, son yıllarda yapılan incelemelerle daha iyi anlaşılmıştır [17], [21]. Serbest radikallerin hücre hasarını tetikleyerek, böbrek taşlarının oluşumuna neden olabilir [17], [21]. Oksidatif stres, özellikle kalsiyum oksalat taşlarının oluşumunda önemli bir faktör olarak görülmektedir [17], [21].

2.2.7. Diyet ve Yaşam Tarzı Faktörleri

Diyet ve yaşam tarzı özellikleri, üriner taş hastalığının önemli tetikleyicilerindendir [20], [22]. Yüksek proteinli, tuzlu ve oksalat açısından zengin yiyeceklerin tüketimi taş oluşumu riskini azaltabilir [20], [22]. Örneğin, kırmızı et, ıspanak, çikolata ve kabuklu yemişler gibi gıdalar taş hastalığı için risk faktörüdür [20], [22]. Düşük sıvı alımı, özellikle sıcak iklimlerde yaşayan bireylerde taş oluşumu riskini artırır [20], [22].

2.2.8. İnhibitör ve Promoter Maddeler

İdrarda bulunan çeşitli maddeler, taş oluşumunu engelleyen inhibitörler ya da taş oluşumunu teşvik eden promoterler olarak işlev görür [23], [24]. Örneğin, sitrat ve oluşum taş oluşumunu önleyici inhibitörlerdir ve bu eksikliklerin taş oluşumuna yatkınlığı ayarlanabilir [23], [24]. Buna karşılık kalsiyum, oksalat ve ürik asit gibi maddelerin taşlanmasını teşvik eder [23], [24]. Vücut pH seviyesi de taş oluşumunda önemli bir faktördür; belirli bir pH aralığında bazı minerallerin çökme riski artar [23], [24].

Üriner sistem taşlarının oluşum oranları, genetik, metabolik faktörlerinin karmaşık bir aktarımını içerir. Böbrek taşlarının oluşma sürecinin ortaya konulması, bu alanda tedavi ve önleme yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır.

2.2.9. Annexin A 1 kristal bağlayıcı protein

Annexin A1, böbrek taşı oluşumunda rol oynayan bir protein olup, kristal bileşenlerin bağlanmasında ve taş oluşumunda önemli bir işlev üstlenir [10]. Bu protein, kristallerin hücre yüzeyine bağlanmasını sağlayarak taş oluşumu sürecinde kritik bir rol oynar [10]. Kristallerin hücre yüzeyine tutunması, böbrek taşının büyüme sürecinde önemli bir aşamadır ve Annexin A1'in bu süreçte aktif bir protein olduğu görülmektedir [17] [10].

2.2.9.1 Annexin A1'in yapısı ve işlevi

Annexin A1, fosfolipitlerle etkileşime giren bir protein ailesine aittir ve hücre zarı ile güçlü bir bağlantı sağlar [10]. Bu protein, kalsiyuma bağımlı yapısıyla dikkat çeker. Stres durumlarında aktif olarak hücre zarından ayrılabilir. Bununla birlikte, kristallerin hücre parçalarına bağlanmasını kolaylaştırarak taş oluşum süreçlerinde önemli bir rol oynayabilir. Annexin A1'in bu özellikleri, özellikle böbrek taşı patofizyolojisinde dikkat çeken mekanizmalardan biri olabileceği düşünülmektedir [10]. Annexin A1, kristallerin hücre bölümlerine tutunmasını kolaylaştırarak taş oluşumunda kritik bir rol oynar. Böbrek taşı hastalarında Annexin A1'in aşırı ekspresyonu, kristallerin hücre parçalarıyla etkileşimini artırarak bu süreci destekler. Özellikle, kristallerin hücre yüzeylerine bağlanması ve taşların büyümesi, Annexin A1'in bu etkisiyle ilişkilendirilmiştir. Bu durum, böbrek taşı patogenezinde Annexin A1'in önemli bir hedef olarak incelenmesi gerektiğini düşündürmektedir[10].

2.2.9.2. Annexin A1 ve Kristal Bağlanma Mekanizması

Kristalleşme süreci, böbrek taşı oluşumunun erken aşamalarından biridir. Annexin A1, kalsiyum oksalat gibi taş türü kristallerin hücre gelişimini kolaylaştırarak kristal büyümesini ve agregasyona katkı sağlar [10]. Epitel değişiminde bulunan Annexin A1, kristallerin bağlanabileceği bir "çapa" görevine göre taş oluşumunun hızlanmasına ve daha büyük taşların büyümesine yol açar[10],[17].

2.2.9.3 Annexin A1 ve Kafein Etkileşimi

Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar, kafeinin Annexin A1 proteini üzerinde etkili olabileceğini göstermiştir. Kafeinin, Annexin A1 proteinini sitoplazmaya taşıyarak hücrenin membranından uzaklaştırdığı ve böylece kristal bağlantısını koruduğu ileri sürülmektedir. Annexin A1'in hücrenin membranından uzaklaştırılması, kristallerin hücrelere tutunmasını engelleyerek böbrek taşı oluşumunun etkilediği düşünülmektedir[10]. Kafeinin bu etkisi, taş oluşumunu önleyici potansiyel tedavilerde dikkate alınır [10].

2.2.9.4 Annexin A1'in Oksidatif Stres Yanıtı

Oksidatif stres, taş hastalığının oluşumunda önemli bir faktördür ve Annexin A1'in kristal bağlanmasında rol oynar[17], [21].Serbest radikallerin artışı ile oluşan oksidatif stres, Annexin A1'in hücrede daha aktif hale gelmesine yol açan kristal bölünmelerin arttırılmasını sağlar[21] ,[17]. Hücrelerdeki oksidatif stres düzeyi, böbrek taşı oluşumu için bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle Annexin A1'in oksidatif stres reaksiyonu, böbrek taşlarının oluşumunda önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır [17], [21] .

2.2.9.5 Annexin A1'in Genetik Ekspresyonu ve Taş Oluşumuna Yatkınlık

Annexin A1'in ekspresyonu, genetik faktörlerden etkilenebilir ve bazı bireylerde daha yüksek oranda bulunabilir [3]. Yüksek Annexin A1 seviyeleri, böbrek epitelinin kristal yapısının artması ve taş oluşumu riskinin artmasına neden olabilir [3]. Genetik yatkınlık ve Annexin A1 ekspresyonu arasındaki ilişki, bireyler arası böbrek taşı oluşum oranları değişebilir [3]. Genetik olarak yüksek Annexin A1 ekspresyonuna sahip bireyler, taş hastalığı açısından daha yüksek risk altında olabilir [3].

2.2.9.6 Annexin A1'i Hedefleyen Potansiyel Tedavi Yöntemleri

Annexin A1'in kristal bağlanma sürecindeki rolü, taş oluşumunu önleyici tedavilerde bu proteinin hedeflenmesi açısından önem taşır [10], [25]. Özellikle kafein gibi Annexin A1'i hücreden uzaklaştırılabilen maddeler veya protein bazlı terapiler, taş oluşumunun sağlanması için olası tedavi yöntemleri sunmaktadır [10], [25]. Annexin A1'i ayırma tedavi araştırmaları, böbrek taşı tedavisine yeni bakış açıları kazandırılabilir [10], [25].

Annexin A1, böbrek taşı oluşumunda önemli bir kristal bağlayıcı protein olarak işlev görmektedir. Annexin A1'in rolünün daha iyi anlaşılması, böbrek taşlarını önleme ve tedavi etme için yeni çözüm yollarının geliştirilmesine olanak sağlayabilir.

2.3. Taş Oluşumunu Önleme ve Tedavi Yöntemleri

Böbrek taşlarının tedavisi ve bakımı, taşınan kimyasal yapı ve bireysel sağlık durumu ile yaşam tarzına bağlı olarak çeşitli stratejilerle gerçekleştirilmektedir [14]. Taş hastalığının tedavisinin temel amacı, taş oluşumunun engellenmesi ve mevcut taşların güvenli bir şekilde ortadan kaldırılmasıdır [14]. Bu bölüm, taş oluşumunu önleme ve tedavi yöntemleri, farmakolojik tedaviler, diyet ve yaşam tarzı değişiklikleri, bitkisel ve cerrahi tedaviler olarak dört ana başlık altında incelenecektir.

2.3.1. Farmakolojik Tedavi Yöntemleri

Farmakolojik tedaviler, böbrek taşı oluşumunun önlenmesi veya mevcut kalıntıların eritilmesi amacıyla kullanılan bakımları içerir. Bu hizmetlerin, pH'sını düzenlemek, taş oluşumunu engellemek veya taş bileşenlerinin atılımını en aza indirmek amacıyla kullanılır [24].

- **Potasyum Sitrat** : Hipositratürik olarak kullanılan bu ilaç, idrarın alkalileşmesini sağlayarak kalsiyum oksalat ve ürik asit taşlarının oluşum riskini azaltır [23], [26].

- **Tiyazid Diüretikler** : Hiperkalsiüriisi olan hastalarda idrar kalsiyum seviyesini düşürerek etkili olabilir. Bu ilaçlar distal tübüllerde kalsiyum geri emilimini artırır ve böylece hiperkalsiüriinin neden olduğu taş oluşumu riskini azaltır. Özellikle oksalat taşlarının oluşum riskini düşürme konusunda faydalıdır [24].
- **Allopurinol** : Ürik asit üretimini azaltmak için kullanılan bir ilaçtır. Ksantin oksidaz enziminin inhibitörü olarak çalışır, bu da hipoksantin ve ksantin ürik aside dönüşümünü engeller. Özellikle ürik asit taşlarının önlenmesinde ve ürik asit metabolizması ile ilgili hastalıkların (örneğin, gut) tedavisinde etkilidir. [14].
- **Antibiyotikler ve Alkali Tedavisi** : Strüvit taşlarının tedavisinde önemli bir rol oynar. Strüvit taşları genellikle üreyi parçalayan bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar sonucu oluşur. Antibiyotikler, bu bakteriyel enfeksiyonu kontrol etmek için kullanılır. Ayrıca, idrar pH'sını alkali seviyeye çıkarmak amacıyla bikarbonat veya sitrat kullanılarak taş oluşumunun önlenmesine yardımcı olunur. Bu yaklaşım hem mevcut taşların çözünmesine hem de yeni taş oluşumunun engellenmesine katkıda bulunabilir [14].

2.3.2. Diyet ve Yaşam Tarzı Değişiklikleri

Diyet ve yaşam tarzı değişiklikleri, böbrek taşı hastalıklarının önlenmesinde en etkili stratejilerdendir. Sıvı alımı, beslenmenin çoğalması ve bazı yiyeceklerin tüketimi, taş oluşum riski potansiyeli taşımaktadır [22], [27].

- **Bol Su Tüketimi**: Yetersiz su tüketimi, taş oluşumu riskini arttırır [22]. Günde en az 2-3 litre suyun tüketilmesi, kristalleşme riskini azaltmaktadır [22].
- **Düşük Oksalat İçeren Diyet**: Kalsiyum oksalat taşı oluşumunun önlenmesi amacıyla, oksalat açısından zengin yiyeceklerin (ıspanak, pancar, çikolata, çay) tüketimi sınırlandırılmalıdır [24]

- **Tuz ve Protein Alımının Sınırlandırılması:** Tuz ve protein alımının sınırlandırılması, taş oluşumunu önlemek için önemli bir stratejidir. Yüksek miktarda tuz tüketimi, idrarda kalsiyum atılımını artırarak taş oluşumu riskini yükseltir. Yüksek proteinli diyetler ise ürik asit düzeylerini artırabilir [27]. Bu nedenle, özellikle kırmızı et gibi protein açısından zengin gıdaların aşırı tüketiminden kaçınılmalıdır [27].
- **Kalsiyum Tüketiminin Dengelenmesi:** Aşırı miktardaki kalsiyum taş riskini artırabilirken, yetersiz miktarda alım da oksalat taşlarına karşı oksalat taşlarına karşı risk oluşturabilir [23].

2.3.3. Bitkisel Tedavi ve Fitoterapi

Geleneksel bitkisel tedaviler ve fitoterapi, böbrek taşlarının önlenmesi ve tedavisinde eski çağlardan beri kullanılmaktadır.

- **Cynodon dactylon (Köpek Dişi Çimi) :** Hayvan çalışmalarında, Cynodon dactylon'un böbrek taşı oluşmasını önleyici etkiler görülmüştür. Bu bitki, diüretik ve antioksidan özellikleriyle böbrek taşlarının oluşumunu engelleyici etki göstermektedir [1], [28].
- **Nar Suyu:** Antioksidan özellikleri ile bilinen nar suyu, etilen glükol ile indüklenen hayvan modellerinde böbrek taşı oluşmasını önleyici etkiler göstermiştir. Serbest radikallerle savaşarak oksidatif stresi azaltır ve taş oluşumu riskini azaltır [29].
- **Fitoterapik Kombinasyonlar:** Bazı bitki özleri birleştirilerek taş tedavisiyle kullanılmakta ve etkili sonuçlar vermektedir. Örneğin, Hygrophila spinosa gibi bazı böbrek taşı oluşumunu engelleyici etkiler gösterdiği gösterilmiştir [30].

2.3.4. Cerrahi Tedavi Yöntemleri

Büyük veya ilaçla tedavi edilemeyen taşlar için cerrahi müdahale gereklidir. Cerrahi teknikler taşın yerleşimi, boyutu ve yapısına bağlı olarak değişmektedir.

- **Şok Dalga Litotripsi (ESWL) :** Böbrek taşlarının vücut dışından yüksek enerjili şok dalgaları ile kırılmasıdır. Taşların parçalanarak üriner yoldan atılmasını sağlar ve invaziv olmayan bir yöntemdir [14].
- **Üreteroskopi ve Lazer Litotripsi :** Üreter veya böbrek içindeki taşların endoskopik olarak lazer ile kırılmasıdır. Özellikle orta ve küçük boyutlu taşlar için tercih edilen minimal invaziv bir yöntem olarak kullanılmaktadır [31].
- **Perkütan Nefrolitotomi (PCNL) :** Büyük taşların cerrahi olarak çıkarılması amacıyla kullanılan bir tekniktir. Böbreğe cilt üzerinden küçük bir delik açılarak ulaşılması ve taşların doğrudan çıkarılması işlemidir. Büyük taşlar için tercih edilen etkili bir yöntemdir [31].
- **Açık Cerrahi:** Günümüzde nadiren kullanılan bir prosedür; ancak büyük ve karmaşık taşların çıkarılmasında tercih edilebilir [31].

2.4.Kafein

Kafein, günümüzde kahve, çay, kola ve çikolata gibi gıdalarda yaygın olarak bulunan bir alkaloiddir ve merkezi sinir sistemi üzerindeki uyarıcı etkisiyle bilinir [20]. Sinir sistemi üzerindeki bu etkisi, kafeini çoğu birey için uyanıklığı artırıcı ve yorgunluk azaltıcı bir madde haline getirmektedir [25]. Bununla birlikte, kafeinin böbrek taşı hastalığı ile ilişkisi çift yönlüdür; yani kafein hem taş oluşumunu artırıcı hem de önleyici etkiler gösterebilir [10]. Kafeinin böbrek taşı oluşumu üzerindeki etkisi, tüketim miktarı ve sıklığına bağlı olarak değişiklik gösterebilir ve idrar bileşimi ile taş oluşum mekanizmalarına etkisi açısından önem taşır [18].

2.4.1. Kafeinin Taş Oluşumunu Artırıcı Etkileri

Yüksek dozda kafein tüketimi, böbrek taşı oluşumuna katkıda bulunabilecek bazı biyokimyasal değişimlere yol açabilir. Bu etkiler arasında idrarda kalsiyum ve oksalat seviyelerinin artışı önemli yer tutmaktadır [20].

- **İdrarda Kalsiyum Artışı:** Yüksek miktarda kafein tüketimi, idrarla kalsiyum atılımını artırabilir. Çeşitli çalışmalarda, kafein alımıyla birlikte idrarla kalsiyum atılımının yaklaşık %30 oranında arttığı ve bu durumun kristalleşme sürecini hızlandırabileceği gösterilmiştir [20]. Kalsiyum oksalat taşları, kalsiyumun yüksek seviyelerde bulunması durumunda oluşma eğilimindedir ve yüksek kafein tüketimi, kalsiyum oksalat taşlarının oluşum riskini artırabilir [18].
- **İdrarda Oksalat Artışı:** Kafein, oksalat metabolizmasını da etkileyerek idrardaki oksalat seviyelerini artırabilir [18]. Kalsiyum oksalat taşları en yaygın böbrek taşları arasında yer almakta olup, kalsiyum ve oksalatın yüksek seviyelerde birleşmesi bu taşların oluşum riskini artırır [17]. Özellikle yüksek kafein alımının oksalat seviyelerini yükselttiği ve taş oluşum sürecini hızlandırdığı düşünülmektedir [18].

2.4.2. Kafeinin Taş Oluşumunu Önleyici Etkileri

Kafeinin, düşük dozlarda ve düzenli olarak tüketilmesi böbrek taşlarının oluşumunu önleyebileceği gösterilmiştir [10]. Kafeinin taş oluşumunu önleyici etkileri, özellikle Annexin A1 gibi kristal bağlayıcı proteinlerin hücre yüzeyinden uzaklaştırılması gibi mekanizmalara dayanmaktadır [10], [32].

- **Annexin A1'in Yüzeyden Uzaklaştırılması:** Yapılan çalışmalara göre, kafein Annexin A1 kristal bağlayıcı proteinini hücre yüzeyinden uzaklaştırarak böbrek taşı oluşum riskini azaltabilir [10]. Annexin A1 proteini, kristallerin hücre yüzeyine bağlanmasına etki ederek taş oluşum sürecinin ilk aşamalarında rol oynar [10], [32]. Kafein, Annexin A1'in hücre yüzeyinden sitoplazmaya çekilmesini sağlayarak kristallerin hücre yüzeyine bağlanmasını engeller ve bu şekilde taş oluşumunu engelleyebilir [25].
- **Diüretik Etki:** Kafein aynı zamanda idrar akışını artırarak böbreklerde idrarın daha hızlı geçmesini sağlar [25]. Bu diüretik etki, idrar yoğunluğunu azaltarak kristalleşme riskini düşürebilir; ancak bu etkinin taş oluşumunu engelleyici olup olmadığı tam olarak kanıtlanmamıştır[25]. Diğer yandan, düşük kafein alımının böbrek taşlarına karşı koruyucu olabileceği düşünülmektedir [32].

2.4.3. Doza Bağlı Etki ve Günlük Kafein Tüketimi

Kafeinin böbrek taşları üzerindeki etkisi, tüketim miktarına bağlı olarak değişiklik gösterir [20]. Yapılan araştırmalara göre, düşük veya orta düzeyde kafein tüketimi (günde yaklaşık 200-400 mg) böbrek sağlığı açısından zararlı kabul edilmezken, aşırı miktarda kafein tüketimi (günde 500 mg ve üzeri) idrardaki kalsiyum ve oksalat seviyelerini artırarak taş oluşum riskini yükseltebilir [33]. Kafein alımı ve böbrek taşı ilişkisini inceleyen çalışmalar, kafeinin kontrollü tüketiminin taş oluşumunu engelleyebileceğini; ancak yüksek doz tüketiminde böbrek sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir [20].

2.4.4. Kafein ve Böbrek Taşı Türleri

Kafeinin böbrek taşı türleri üzerindeki etkisi de önemli bir araştırma konusudur. Kalsiyum oksalat taşları en yaygın böbrek taşları arasında yer aldığı için kafein, öncelikle bu taşların oluşumu açısından incelenmiştir[17].

- **Kalsiyum Oksalat Taşları:** Kafein tüketimi, idrarda kalsiyum atılımını artırarak kalsiyum oksalat taşları açısından risk oluşturabilir. Bu risk, kafein tüketim düzeyine bağlı olarak değişiklik göstermektedir [17]. Düşük düzeyde kafein tüketiminin bu tür taşlar için yüksek bir risk oluşturmadığı, ancak yüksek dozda alımın risk yaratabileceği belirtilmektedir [17].
- **Ürik Asit Taşları:** Kafein, idrarın asitlik derecesini değiştirerek ürik asit taşı oluşumuna dolaylı yoldan etki edebilir [17]. Doğrudan bir etki mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış olup, kafeinin idrar pH'sı üzerindeki etkisinin bu taş türleri için önem taşıdığı düşünülmektedir [10].

2.4.5. Kafein ve Genetik Faktörler

Bireyler arası genetik farklılıklar, kafein metabolizmasını ve böbrek taşları üzerindeki etkisini değiştirebilir [6]. Bazı bireylerde kafein metabolizması daha yavaş olduğundan, bu durum idrardaki kalsiyum seviyelerinin daha uzun süre yüksek kalmasına neden olarak taş riskini artırabilir [6]. Genetik yatkınlık ve kafein metabolizması arasındaki bu ilişki, özellikle ailesinde böbrek taşı geçmişi olan bireylerde daha yüksek riskle sonuçlanabilir [6].

2.4.6. Klinik Öneriler ve Kafein Tüketiminin Düzenlenmesi

Kafein tüketimi ile böbrek taşları arasında çift yönlü bir ilişki bulunmakta olup, bu ilişkinin doza bağlı olarak değişiklik gösterdiği bilinmektedir [20]. Klinik öneriler doğrultusunda, taş hastalığı riski taşıyan veya böbrek taşı geçmişi olan bireylerin kafein tüketimini kontrollü bir şekilde yapmaları önerilmektedir [25].

- **Kafein Tüketim Miktarı:** Genelde günde 200-400 mg arasında bir kafein tüketimi sağlıklı bireyler için güvenli kabul edilirken; taş hastalığı riski bulunan bireylerde bu miktarın azaltılması tavsiye edilmektedir [20].
- **Bireysel Durum ve Doktor Kontrolü:** Kafein tüketim miktarı, bireysel duruma göre doktor kontrolünde ayarlanmalıdır. Özellikle böbrek taşı hastaları veya genetik yatkınlığı olan kişiler, kafein alımını sınırlandırmalıdır [6].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 8-10 haftalık ortalama 300 ± 25 gr ağırlığında toplam 36 adet erişkin dişi Wistar tipi ratlar kullanıldı. Etik kurul izni alındıktan sonra ratlar Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilerek deneyimiz aynı merkezde gerçekleştirildi. Ratlar laboratuvarında 35 gün boyunca 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde oda sıcaklığında (25°C) ad libitum beslendi. Beş ayrı kafese her grupta on iki rat olacak şekilde yerleştirildi. Beslenmeleri standart laboratuvar yemi ve suyu ile sağlandı.



Şekil 1: Wistar tipi erişkin ratlar

3.2. Deney Protokolü

Ratlar gruplar arası ağırlık dağılımı birbirine yaklaşık olacak şekilde 36 hayvan 3 gruba ayrıldı.

Tablo 1: Ratların ortalama ağırlıkları

Gruplar	Ortalama rat ağırlıkları
I. Grup	285±35 gr
II. Grup	300±20 gr
III. Grup	290±25 gr

- 1. Grup (Kontrol grubu):** Sadece distile su verildi.
- 2. Grup (Etilen Glikol grubu):** Distile su içinde %0,75'lik etilen glikol içeren diyet verildi.
- 3. Grup (Etilen Glikol + Kafein grubu):** Distile su içinde %0,75'lik etilen glikol ve 10 mg/kg/gün kafein içeren diyet verildi[34],[35],[36]. 250 gramlık bir fare için kafein dozu, uygulanan ratlara dozluk çevrimi yapılan vücut yüzey alanı (BSA) normalizasyon yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. FDA tarafından önerilen Km kapasitesine göre, insan için 37 ve sıçan için 6 değeri kullanılmıştır. 250 gramlık bir sıçan için toplam doz aralığı **14,61 ± 4,74 mg** olarak hesaplanmıştır[35].

$$HED(mg/kg) = Animal\ dose(mg/kg)\ multiplied\ by\ \frac{Animal\ Km}{Human\ Km}$$

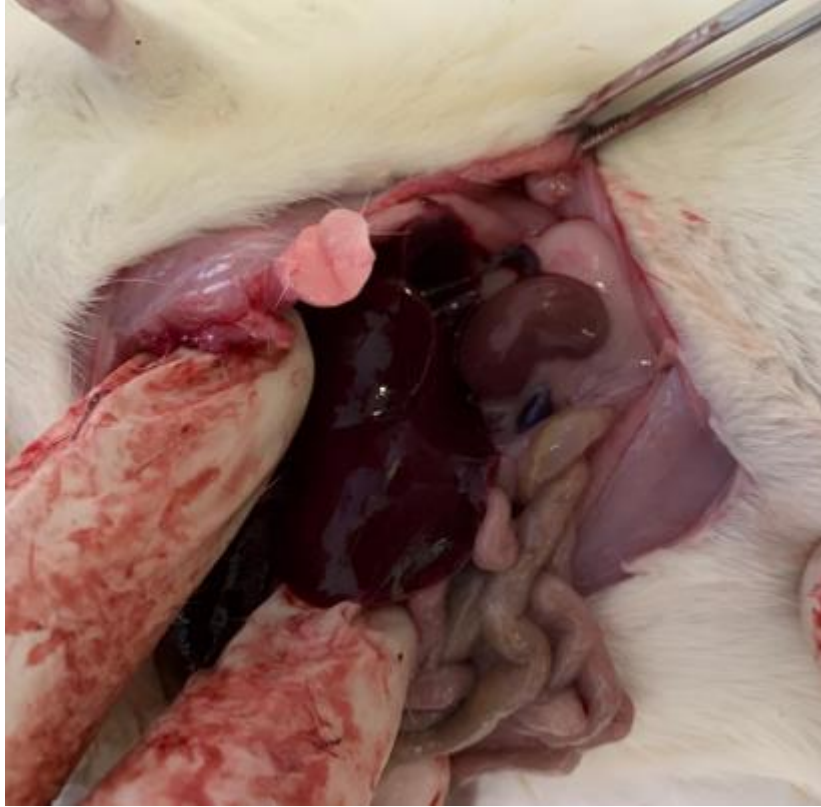
Vücut Yüzey Alanına Dayalı Doz Çevirisi Formülü[35][37].

35 günün sonunda ratlar metabolik kafeslere yerleştirilerek 24 saatlik idrarları toplandı. Daha sonra ketamin/ksilazin 80/12 mg/kg dozunda intramüsküler yoldan verilerek

sakrifiye edildi. Her bir rattan intrakardiyak 5cc kan örneği sarı kapaklı biyokimya tüpüne alındı. Doku analizi amacıyla bütün ratların her iki böbreği formaldehit dolu kaplara alındı.



Şekil 2: Metabolik kafeslere alınan ratlar



Şekil 3: Sakrifiye edildikten sonra alınan böbrek

❖ Serum elektrolit ve toplam antioksidan seviyelerinin belirlenmesi

Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri pıhtılaşması için 20 dk bekletildi. Pıhtılaşma tamamlandıktan sonra 10 dk 1500 g'de santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ayrılan serumlar ependorf tüplerine aktararak -80 C'de analiz gününe kadar saklandı. Analiz günü tüm örnekler aynı anda çözdürülerek Jaffe yöntemi ile kreatinin, glutamat dehidrogenaz metodu ile üre, izositrat dehidrogenaz yöntemi ile magnezyum, arsenozo-III yöntemi ile kalsiyum ve ISE yöntemi ile klor, potasyum, sodyum düzeyleri ticari olarak mümkün kitler kullanılarak Abbott Architect c-16000 otoanalizöründe çalışıldı.

❖ İdrar numunelerinin toplanması ve değerlendirilmesi

Toplanan idrar örneklerinin volümleri dereceli silindir ile hacimleri ölçüldü ve iki farklı ependorf tüpüne steril pipetler kullanılarak örnek alındı ve asit eklenerek -80 C'de saklandı. Kalan idrardan pH, kristal yoğunluğu ve lökosit sayımı Sysmex UF-5000, UC-3500, UD-10 (Sysmex Corporation, Kobe, Japonya) yapıldı ve sonuçlar not edildi. Kalan örneklerden izositrat dehidrogenaz yöntemi ile magnezyum, arsenozo-III yöntemi ile kalsiyum ve turbidimetrik yöntem ile idrar protein düzeyleri ticari olarak mümkün kitler kullanılarak Abbott Architect c-16000 otoanalizöründe çalışıldı.

❖ Histopatolojik inceleme

Histomorfolojik inceleme için ratlardan elde edilen böbrek dokuları %10'luk formalin içinde fikse edilmiştir. Böbrek dokuları hilustan geçecek şekilde kesilerek en geniş yüzeyleri görülecek şekilde doku takibine alınmıştır. Doku takibi sonrasında parafin bloklara gömülmüştür. Hazırlanan parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoksil-eozin boyası ile boyanmıştır. Tüm kesitler LEICA DM 2000 LED marka ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir.

Böbrek dokusunun histopatolojik incelemesinde tubul morfolojisi (tubuler atrofi, tubul dilatasyonu, tubul epitel hücresinde sitoplazmik vakuolizasyon, tübüler nekroz), vasküler

konjesyon, interstisyel inflamasyon ve tubuler kristal oluşumu açısından ışık mikroskopunda değerlendirilmiştir [38], [39], [40]. Morfolojik bulgular 0-3 (0: hasar yok, 1: hafif hasar, 2: orta derecede hasar, 3: şiddetli hasar) arasında semikantitatif olarak skorlanmıştır[40].

Annexin A1 (MRQ-3) antikor (221M-14, CELL MARQUE, Rocklin, CA- USA) ile 1:100 antikor dilüsyonu ile 100 dakika antikor inkübasyonu uygulanmıştır. Antijen Retrieval yöntemi için LEICA/ Bond Epitope Retrieval 2 RTU (EDTA) ile 40dk ER2 Standart protokolü uygulandı. Sekonder görüntüleme için LEICA Biosystems, Newcastle upon Tyne – UK firmasından tedarik edilen DS9800 LEICA/ Bond Polymer Refine Detection DAB Kit, Standart IHC Protokolü uygulanmıştır. Tüm işlemler Leica Bond III Fully Automated IHC and ISH Staining System cihazında yapılmıştır. İmmunohistokimyasal boyanmanın incelenmesinde tubulointerstisyum ve glomerüllerdeki sitoplazmik boyanma dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır [40]. İç pozitif kontrol olarak vasküler yapı, dış pozitif kontrol olarak meme kanseri kullanılmıştır. Annexin A1 boyanması 0:negatif (<%10), 1: zayıf pozitif (%10-25), 2: orta derecede pozitif (%26-75), 3: şiddetli pozitif (>%75) arasında semikantitatif olarak skorlanmıştır[41] .

Hematoksilen-eozin ve Annexin A1'e ait kesitler INFINITY 3 ANALYZE Release 6.5 görüntüleme sistemi ile fotoğraflanmıştır.

❖ İstatiksel Analiz

Çalışma sonucu elde edilen verilerin istatiksel analizi öncesi, verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. Normal dağılım gösteren değişkenlerde tanıtıcı istatistik olarak ortalama $\pm$ standart sapma, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde ortanca değer (en küçük değer – en büyük değer) kullanıldı. Grup karşılaştırmalarında normal dağılım gösteren değişkenlerde ANOVA ve post-hoc test olarak Tukey testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Kruskal Wallis testi, post-hoc test

olarak da Mann-Whitney U testi kullanıldı ve Bonferroni düzeltmesi yapıldı. Kategorik değişkenlerin analizinde Ki-kare ve Fisher's Exact Test kullanıldı.

$P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık seviyesi olarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Serum Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması

Serum analizinde, serum kreatinin ($p=0.010$) ve magnezyum ($p=0.010$) düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi. Etilen glikol grubunda kreatinin ve magnezyum değerlerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu, Etilen glikol+kafein grubunda ise bu parametrelerin düzeyinin azaldığı gözlemlendi (Tablo 2).

Tablo 2: Grupların serum parametrelerine göre karşılaştırılması

	Kontrol	Etilen Glikol	Etilen Glikol+Kafein	*p
Üre(ortalama $\pm$ SS)	40,416 $\pm$ 6,708	45 $\pm$ 7,576	42,25 $\pm$ 5,675	0.444
Kreatinin(ortalama $\pm$ SS)	0,435 $\pm$ 0,029	0,484 $\pm$ 0,042	0,43 $\pm$ 0,030	0.010
Klor(ortalama $\pm$ SS)	102,385 $\pm$ 1,477	102,902 $\pm$ 2,251	102,310 $\pm$ 2,245	0.895
Magnezyum(ortalama $\pm$ SS)	1,9925 $\pm$ 0,208	2,470 $\pm$ 0,658	2,234 $\pm$ 0,127	0.010
Potasyum(ortalama $\pm$ SS)	5,178 $\pm$ 0,463	5,887 $\pm$ 0,887	5,537 $\pm$ 0,566	0.067
Kalsiyum(ortalama $\pm$ SS)	9,883 $\pm$ 0,406	10,081 $\pm$ 0,611	9,683 $\pm$ 0,189	0.170

*:p değerleri, Kruskal-Wallis Test sonuçlarından elde edilen p değerleridir.

4.2. İdrar Parametrelerinin Karşılaştırılması

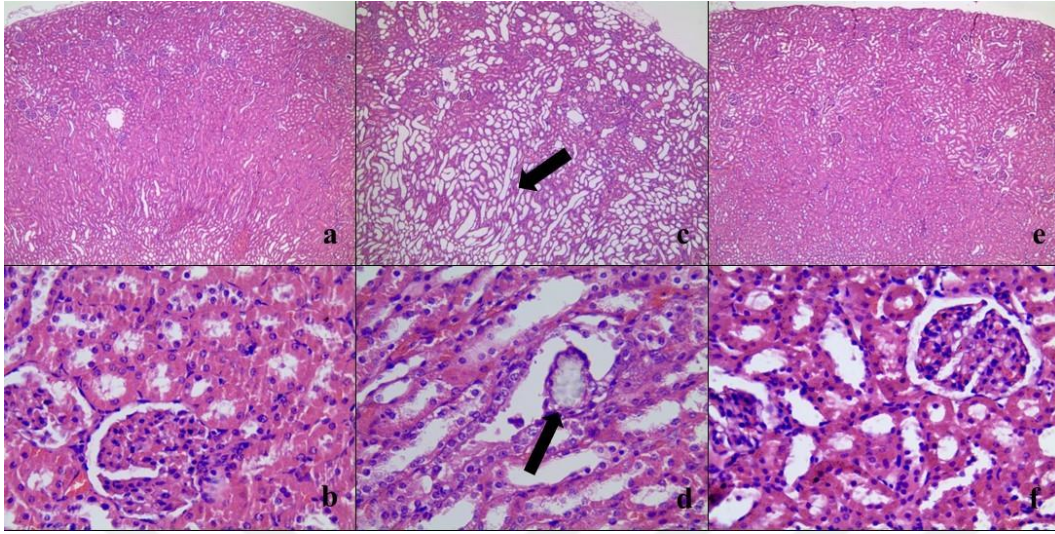
İdrar parametrelerinde gruplar arasında farklar anlamlılık göstermedi($p>0.05$, Tablo 3).

Tablo 3: Grupların idrar parametrelerine göre karşılaştırılması

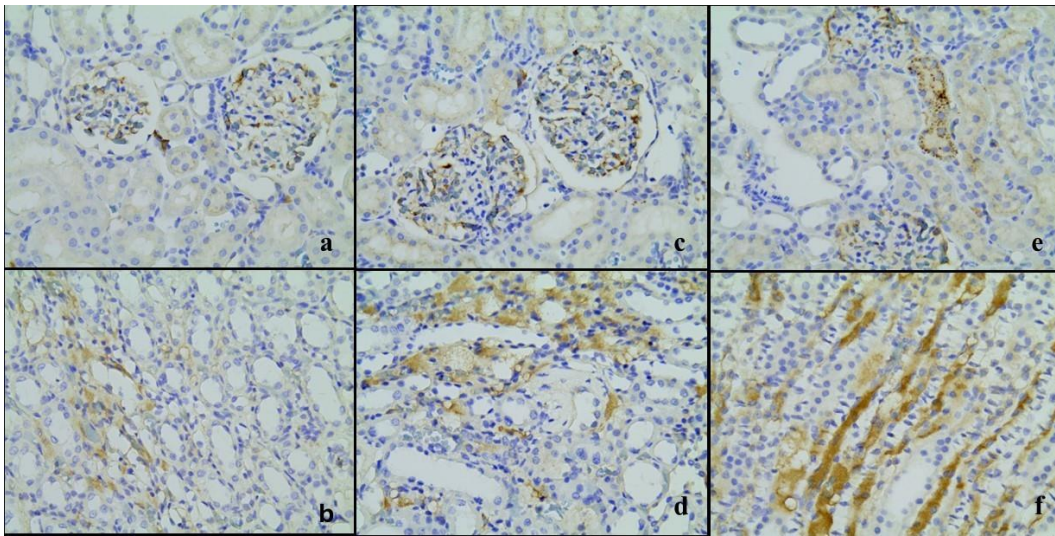
	Kontrol	Etilen Glikol	Etilen Glikol+Kafein	*p
Hacim (ortalama $\pm$ SS)	16,25 $\pm$ 9,450	25,333 $\pm$ 11,547	23,75 $\pm$ 12,864	0.071
Ph(ortalama $\pm$ SS)	8,625 $\pm$ 0,569	8,833 $\pm$ 0,577	9 $\pm$ 0	0.067
Lökosit Miktarı(ortalama $\pm$ SS)	2,658 $\pm$ 1,953	4,316 $\pm$ 4,594	3,766 $\pm$ 3,257	0.684
Kristal Miktarı(ortalama $\pm$ SS)	65,216 $\pm$ 77,668	69,983 $\pm$ 75,148	200,958 $\pm$ 515,201	0.611
Kalsiyum Miktarı(ortalama $\pm$ SS)	16,958 $\pm$ 6,337	13,3 $\pm$ 4,091	11,558 $\pm$ 4,167	0.063
Protein Miktarı(ortalama $\pm$ SS)	720,25 $\pm$ 256,012	550,833 $\pm$ 263,523	524,591 $\pm$ 166,502	0.106

*:p değerleri, Kruskal-Wallis Test sonuçlarından elde edilen p değerleridir.

Gruplara göre histopatolojik mikroskopik görüntüler



ŞEKİL 4: Kontrol grubu: Normal tubul yapıları (a: HEX40, b: HEX400), **Etilen glikol grubu:** tubullerde atrofi ve dilatasyon bulguları mevcut (c: HEX40, siyah ok), tubul içerisinde büyük boyutlu kristaloid mevcut (d: HEX400, siyah ok), **Kafein grubu:** Tubullerde hasar belirgin değil (e: HEX40, f: HEX400)



ŞEKİL 5: Kontrol grubu: Anneksin A boyanması, glomerülde (a:X400), toplayıcı duktus ve interstisyumda (b:X400), **Etilen glikol grubu:** Anneksin A boyanması glomerülde (c:X400), toplayıcı duktus ve interstisyumda (d:X400), **Kafein grubu:** Anneksin A boyanması glomerülde ve proksimal tubulde (e:X400), toplayıcı duktus ve interstisyumda (f:X400)

4.3. Histopatolojik Parametrelerin Karşılaştırılması

Histopatolojik değerlendirmede vakalarda sitoplazmik boyanmanın belirgin olduğundan sitoplazmik boyanma dikkate alındı. Belirgin komplet membranöz boyanma mevcut değildi. Bazı alanlarda luminal inkomplet membranöz boyanma sitoplazmik boyanmaya eşlik ediyordu. Ama bu boyanma da çok net değildi ve gruplar arasında farklılık oluşturmuyordu bu nedenle bu boyanma önemsenmedi.

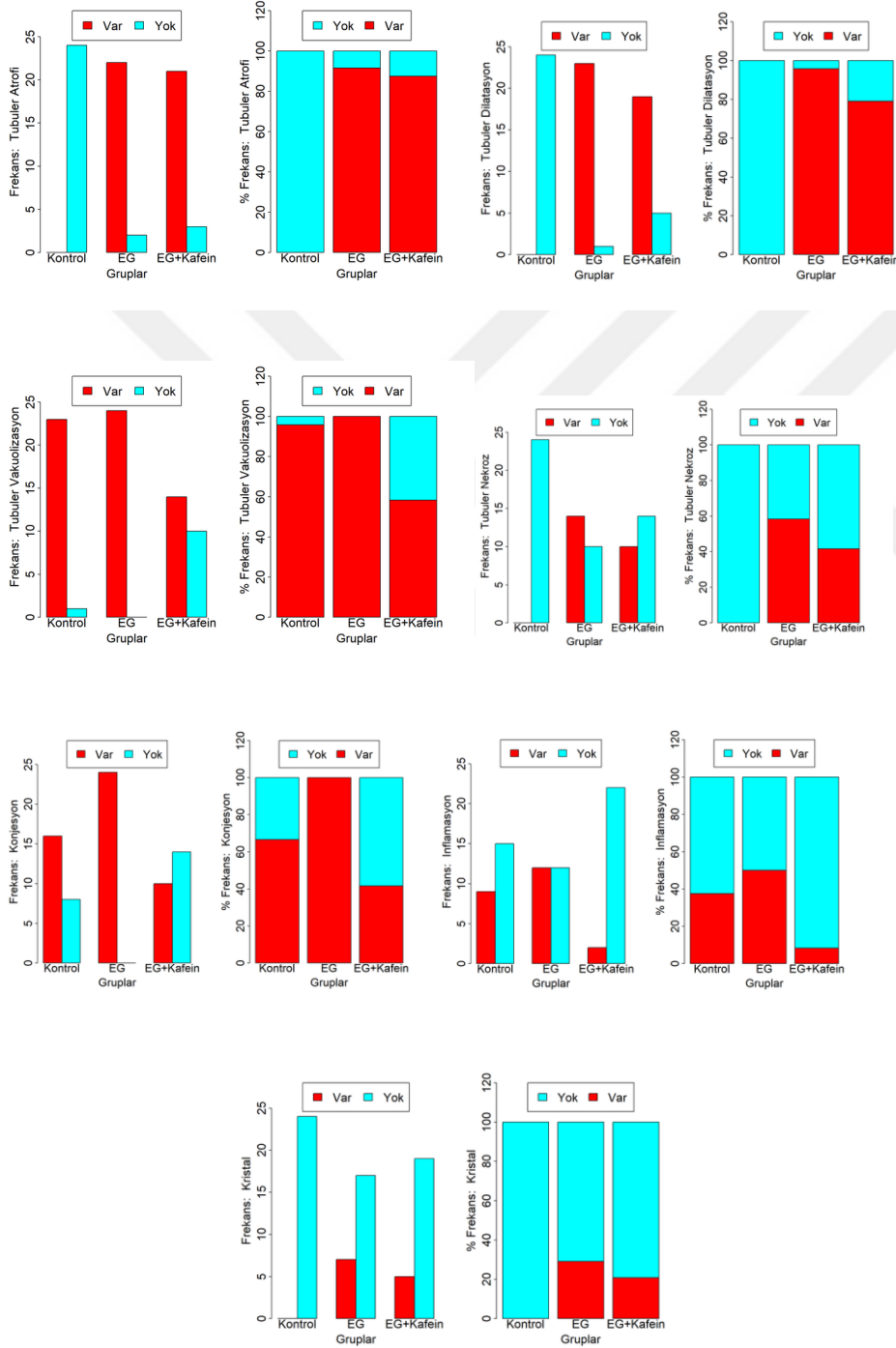
Glomerülde her üç grupta da glomerüllerin tamamını kapsamayan glomerülün bir kısmında farklı derecelerde boyanma elde edildi. Bu anlamda gruplar arasında farklılık olduğu düşünülmedi.

Tübülointersisyumdaki boyanmanın çoğu toplayıcı duktuslar ve intersisyumunda izlendi. Kontrol ve hasar grubunda proksimal tübüllerde boyanma izlenmedi. Kafein grubunda ise birkaç vakada proksimal tübülde boyanma mevcuttu.

Kristal varlığı açısından yapılan analizde kontrol, etilen glikol, etilen glikol+kafein grupları karşılaştırıldığında gruplar arasından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi. Etilen glikol+kafein grubunda taş oluşumunun etilen glikol grubuna göre daha az olduğu verilerde gözlemlense de bu iki grubu karşılaştıran devam analizleri yapıldığında bu fark istatistiksel olarak gösterilemedi.

Üç grup karşılaştırıldığında **tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, tübüler vakuolizasyon, tübüler nekroz, konjesyon, inflamasyon** gibi histopatolojik parametrelerde gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p < 0.001$, Tablo 4). Grupların ikili karşılaştırmaları sonucunda, **tübüler vakuolizasyon, konjesyon ve inflamasyon** parametrelerinde etilen glikol ve etilen glikol+kafein grupları arasında fark olduğu görüldü, ancak diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Tübulointerstisyumda Annexin A1 boyanmaları arasında gruplar arasında sayısal olarak bir fark olduğu gösterilse de örneklem sayısının düşük olması ve üçlü skorum sistemi kullanılmasına bağlı grupların medianlarının aynı olması nedeniyle istatistiksel açıdan bu fark gösterilemedi.



ŞEKİL 6: Grupların histopatolojik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 4 : Grupların histopatolojik sonuçlara göre karşılaştırılması

	Kontrol		Etilen Glikol		Etilen Glikol+Kafein		*p	**p
	Var(n)	Yok(n)	Var(n)	Yok(n)	Var(n)	Yok(n)		
Tübüler Atrofi	0	24	22	2	21	3	<0.001	1,000
Tübüler Dilatasyon	0	24	23	1	19	5	<0.001	0,188
Tübüler Vakuolizasyon	23	1	24	0	14	10	<0.001	0,001
Tübüler Nekroz	0	24	14	10	10	14	<0.001	0,387
Konjesyon	16	8	24	0	10	14	<0.001	<0.001
İnflamasyon	9	15	12	12	2	22	0.005	0,003
Kristal Varlığı	0	24	7	17	5	19	0.011	0,740

*:p değerleri, 3 grubun karşılaştırıldığı Fisher's Exact Test sonuçlarından elde edilen p değerleridir.

**p değerleri, etilen glikol ve etilen glikol+kafein gruplarının karşılaştırıldığı Fisher's Exact Test sonuçlarından elde edilen p değerleridir.

Tablo 5:Grupların Annexin A1 ile boyanmalarına göre karşılaştırılması

	Tübülointerisyum Annexin A1 Boyanma				Glomerülde Annexin A1 Boyanma			
	0(n)	1(n)	2(n)	3(n)	0(n)	1(n)	2(n)	3(n)
Kontrol	0	5	7	0	2	10	0	0
Etilen Glikol	0	2	10	0	1	7	3	1
Etilen Glikol+Kafein	1	3	5	3	2	8	2	0

5. TARTIŞMA

Böbrek taşı oluşumu (nefrolitiazis), küresel olarak sık görülen bir sağlık sorunu olup, taşların rekürrensi oldukça yüksektir. Taş oluşumu üzerinde yapılan incelemeler, profilaktik yöntemlerin önemini vurgulamaktadır. Çalışmanız, kafeinin nefrolitiazis üzerindeki profilaktik etkisini ve Annexin A1 proteininin bu süreçteki rolü seçilmiş bir model üzerinden incelenmiştir.

Çalışmamız bildiğimiz kadarıyla kafein ve Annexin A1 proteinin böbrek taşı oluşumuna karşı etkisini değerlendiren ilk in vivo çalışmadır.

Üç büyük kohort, kafein tüketiminin böbrek taşı riskini azaltma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir [32] [42][43][44] . Kafein alımı ve böbrek taşı oluşumu riskini inceleyen 9707 böbrek taşı vakası ve toplam 772.290 kohort üyesi ile yedi çalışma dahil edilen sistematik bir inceleme ve meta-analizde kafein alımının böbrek taşı insidansı ile ters orantılı olduğunu gösterilmiştir [33].

Böbrek taşı oluşumunun önlenmesi için sıvı alımının artırılması yaygın olarak önerildiğinden, son 20 yılda yapılan bazı önceki çalışmalar, kafeinli içecekler de dahil olmak üzere tüketilen içecek türlerinin böbrek taşı oluşumuyla ilişkisine odaklanmıştır. 1996 yılında, böbrek taşı öyküsü olmayan 45.298 erkek katılımcılı ilk kohort çalışmasında, tüm içecek türlerinin böbrek taşı hastalığını etkilemediğini göstermiştir [42]. Kafeinli kahve, kafeinsiz kahve ve çayın, yaklaşık %10 daha düşük böbrek taşı oluşumu riskiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [42].

1998'de, böbrek taşı geçmişi olmayan 81.083 kadın katılımcının yer aldığı bir başka kohort çalışması, içecek tüketimi ile böbrek taşı hastalığı riskinin daha düşük olması arasındaki ilişkiyi bildirmiştir [43]. Bu çalışma kafeinli kahve, kafeinsiz kahve ve çay tüketen

katılımcılarda sırasıyla %10, %9 ve %8 daha düşük böbrek taşı oluşumu riski olduğunu gösterdi [43].

Diyet oksalatın kısıtlanması , CaOx böbrek taşı oluşumu veya tekrarlama riskini azaltmak için önerilen yollardan biri olduğundan, oksalat açısından zengin içecekler olarak bilinen kahve ve çay, kaçınılması gereken içecekler olarak yaygın olarak önerilmektedir. Dahası, bazı çalışmalar, kafeinin idrar kalsiyum atılımını artırma aktivitesi nedeniyle böbrek taşı oluşumu riskinin artmasıyla ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür [20]. 2004 yılında, 14 saatlik açlıktan sonra kafein tüketen 39 vakadan elde edilen veriler, kafeinin idrarla kalsiyum, magnezyum, sodyum ve sitrat atılımını hafifçe artırdığını , ancak oksalatı artırmadığını göstermiştir [20]. Ek olarak, 39 vakadan 32'sinde Tiselius taşı risk indeksinin kafein tüketiminden sonra orta derecede arttığı bulunmuştur [20]. Tiselius ve Larsson tarafından tanımlanan Tiselius taş riski indeksi; kalsiyum, oksalat, magnezyum ve sitrat gibi idrar içindeki bazı biyokimyasal içeriklere dayanarak kalsiyum içeren taşların gelişme riskini tahmin etmek için kullanılmaktadır [45], [46]. Bununla beraber CaOx böbrek taşlarının güçlü bir inhibitörü olduğu düşünülen idrar sitratı da kafein tüketenlerde artar ve bu nedenle yüksek idrar kalsiyum atılımının etkilerini dengeleyebilir [45], [46].

2013 yılında, 194.094 kişilik bir çalışma, veriler kafeinli kahve, kafeinsiz kahve ve çay tüketenlerde böbrek taşı hastalığı riskinin sırasıyla %26, %16 ve %11 daha düşük olduğunu göstermiştir [44]. Çok daha büyük örneklem boyutu ile kafeinli ve kafeinsiz kahve arasındaki fark değerlendirildi ve kafeinli ve kafeinsiz kahvenin etkilerinin, çok daha küçük örneklem boyutlarına sahip önceki raporlardaki etkilere benzer olduğu gösterilmiştir [42], [43]. Örneklem boyutundan bağımsız olarak, kafeinsiz kahve bu 3 raporun hepsinde böbrek taşı riskinin azaltılmasıyla tutarlı bir şekilde ilişkilendirilmiştir [42], [43], [44]. Bu nedenle kahvedeki diğer biyoaktif bileşiklerin (örneğin, ikinci en bol bulunan alkaloid olan

trigonellin) böbrek taşı hastalığına karşı benzer koruyucu etkiler göstermesinin mümkün olabileceği düşünülmüştür [47], [48], [49].

Kafeinin böbrek taşı hastalığı üzerindeki etkileri 2014 yılında >200.000 katılımcılı bu 3 büyük kohortta yeniden analiz edilmiştir [36]. İçecek türünden bağımsız olarak, bu son mega veri seti kafein tüketicilerini günde tüketilen kafein miktarına göre beş adet beşte birlik kısma ayırmıştır [36]. Veriler, en yüksek beşte birlik kısımda (568 ± 185 mg kafein/gün) kafein tüketen katılımcıların HPFS, NHS I ve NHS II kohortlarında sırasıyla %26, %29 ve %31 daha düşük taş geliştirme riskine sahip olduğunu göstermiştir [36]. Yukarıda adı geçen kohortlardan elde edilen toplu veriler ışığında, kafein tüketiminin böbrek taşı riskini azaltma ile ilişkili olduğu ileri sürülebilir.

Massey ve Sutton'ın 2004 yılında sadece 39 denek içeren çalışmasında kafein tüketicilerinde idrarla kalsiyum atılımında artış bulunmasına rağmen , daha önce belirtildiği gibi >200.000 katılımcılı son 3 büyük kohorttan elde edilen veri seti, en yüksek beşte birlik kafein tüketicilerinde en düşük beşte birlik popülasyonla karşılaştırıldığında idrarla oksalat atılımında bir azalma olduğunu göstermiştir [36]. Bununla birlikte, kafein alımı idrar hacmini önemli ölçüde artırır ve bu da nihayetinde kalsiyum ve oksalat iyonlarının net aşırı doygunluğunda önemli bir azalmaya yol açar [50]. Ek olarak, birkaç çalışma arasında kafein tüketicilerinde en güçlü CaOx taşı inhibitörlerinden biri olan sitratın idrarla atılımında bir artış olduğunu gösteren bir fikir birliği varmıştır [46], [48]. Genel olarak, inhibitör faktörler kafein tarafından uyarılan destekleyici faktörlerin üstesinden gelerek böbrek taşı riskini azaltmaktadır.

Kafeinin böbrek taşı üzerindeki etki mekanizmasını açıklamaya çalışan bir hücre kültürü çalışması, kafeinin kristal sayısını azalttığını, ancak diğer yandan kristal boyutunu artırdığını, bunun da değişmeyen kristal kütlesiyle sonuçlandığını ve bunun da kafein tarafından etkilenmeyen kristal büyümesiyle ilgili olduğunu göstermiştir [10]. Bizim çalışmamızda rat

böbreklerinde kristal sayısı açısından anlamlı bir fark gözlenmedi [10]. Yine bu çalışmada kristal bağlayıcı proteinlerin Western blotting ve immüno Floresan çalışması, kafeinle tedavi edilen hücrelerin apikal yüzeyindeki Annexin A1 seviyesinin ve sitoplazmaya taşınmasının önemli ölçüde azaldığını ortaya koydu, ancak diğer COM kristal bağlayıcı proteinlerde (annexin A2, α -enolaz, HSP70 ve HSP90) önemli bir değişiklik gözlenmemiştir [10]. Kafein hücre içi $[Ca^{2+}]$ 'yi azalttı ancak $[Ca^{2+}]$ salgı indeksini artırmıştır [10]. Bulgular bir araya getirildiğinde, böbrek tübüler epitel hücrelerinin kristal bağlama kapasitesini azaltmak için Annexin A1'in apikal yüzeyden sitoplazmaya taşınması yoluyla kafeinin böbrek taşı oluşumuna karşı koruyucu mekanizmasına dair in vitro bir kanıt gösterildi [10]. Bizim çalışmamızda in vivo olarak Annexin A1 ekspresyonunda etilen glikol, etilen glikol+kafein grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

Başka bir çalışmada kafeinin oksalata bağlı oluşan böbrekteki fibrozise karşı koruyucu etkisi hücre kültüründe gösterilmiştir [51]. Bizim çalışmamızda da kristal oluşumunda fark görülme de böbrek hasarının göstergeleri olan tübüler vakuolizasyon, konjesyon ve inflamasyon parametrelerinde kafeinin koruyucu bir rolü olabileceği gösterilmiştir.

Çalışma kafeinin nefrolitiazis üzerindeki etkisiyle ilgili önemli bilgiler sunmakla birlikte bazı sınırlamalara sahiptir. İlk olarak kullanılan **etilen glikol modeli**, doğal olarak meydana gelen taş oluşum süreçlerini tam olarak yansıtmamaktadır.

Kullanılan **kafein dozu ve uygulama yönteminde** ise 10 mg/kg/gün kafein dozu kullanılmış olup, bu miktarlar günlük kafein alımıyla birebir örtüşmeyebilir. FDA'nın önerdiği doz dönüştürme yöntemine dayanarak bu doz hesaplanmış olsa da insanlar için uzun süreli klinik uygulamalara yönelik daha fazla araştırmayı gerektirir.

Çalışma süresi (35 gün), kafeinin uzun vadeli değerlendirmeleri için yeterli bir zaman dilimi olmayabilir. İnsanlarda nefrolitiazis gelişiminin yıllar boyunca olması ve kafeinin uzun süreli tüketiminin taş oluşumu üzerindeki etkileri tam olarak anlaşılamamıştır.

Rat sayısının sınırlı olması, sonuçların genellenebilirliği açısından güçlük oluşturmuş olabilir. Annexin A1 ekspresyonundaki farklar immün histokimyasal yöntemler ile değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Daha büyük gruplarda ve daha kantitatif yöntemler kullanılarak yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız daha önce yapılan kafein tüketiminin taş oluşumunu azalttığına dair çalışmaları desteklememektedir. Annexin A 1 ekspresyonundaki farklar immünohistokimyasal yöntemler ile değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Daha büyük gruplarda ve daha kantitatif yöntemler kullanılarak yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

İnsan biyolojisini daha iyi temsil eden modellerin kullanılması, kafein dozlarının insan tüketimine daha yakın olacak şekilde optimize edilmesi, Annexin A1'in kristal agregasyonu üzerindeki rolünün daha kantitatif olarak incelenmesi ve kafeinin uzun vadeli etkisini değerlendiren klinik çalışmalara odaklanılmasının, kafeinin taş oluşumu üzerindeki etkisini daha anlamlı bir şekilde ortaya koyacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKÇA

- [1] F. Atmani, C. Sadki, M. Aziz, M. Mimouni, and B. Hacht, "Cynodon dactylon extract as a preventive and curative agent in experimentally induced nephrolithiasis," *Urol Res*, vol. 37, no. 2, pp. 75–82, Apr. 2009, doi: 10.1007/S00240-009-0174-8.
- [2] A. Chewcharat and G. Curhan, "Trends in the prevalence of kidney stones in the United States from 2007 to 2016," *Urolithiasis*, vol. 49, no. 1, pp. 27–39, Feb. 2021, doi: 10.1007/S00240-020-01210-W.
- [3] A. Daga *et al.*, "Whole exome sequencing frequently detects a monogenic cause in early onset nephrolithiasis and nephrocalcinosis," *Kidney Int*, vol. 93, no. 1, pp. 204–213, Jan. 2018, doi: 10.1016/J.KINT.2017.06.025.
- [4] M. Zhe and Z. Hang, "Nephrolithiasis as a risk factor of chronic kidney disease: a meta-analysis of cohort studies with 4,770,691 participants," *Urolithiasis*, vol. 45, no. 5, pp. 441–448, Oct. 2017, doi: 10.1007/S00240-016-0938-X.
- [5] G. C. Curhan, W. C. Willett, E. B. Rimm, and M. J. Stampfer, "Family history and risk of kidney stones," *J Am Soc Nephrol*, vol. 8, no. 10, pp. 1568–1573, 1997, doi: 10.1681/ASN.V8101568.
- [6] P. Singh, P. C. Harris, D. J. Sas, and J. C. Lieske, "The genetics of kidney stone disease and nephrocalcinosis," *Nat Rev Nephrol*, vol. 18, no. 4, pp. 224–240, Apr. 2022, doi: 10.1038/S41581-021-00513-4.
- [7] C. H. Dawson and C. R. V. Tomson, "Kidney stone disease: pathophysiology, investigation and medical treatment," *Clinical Medicine*, vol. 12, no. 5, p. 467, 2012, doi: 10.7861/CLINMEDICINE.12-5-467.
- [8] Y. Lotan *et al.*, "Primary prevention of nephrolithiasis is cost-effective for a national healthcare system," *BJU Int*, vol. 110, no. 11 Pt C, Dec. 2012, doi: 10.1111/J.1464-410X.2012.11212.X.
- [9] H. Osswald and J. Schnermann, "Methylxanthines and the kidney," *Handb Exp Pharmacol*, vol. 200, no. 200, pp. 391–412, 2011, doi: 10.1007/978-3-642-13443-2_15.
- [10] P. Peerapen and V. Thongboonkerd, "Caffeine prevents kidney stone formation by translocation of apical surface annexin A1 crystal-binding protein into cytoplasm: In vitro evidence," *Sci Rep*, vol. 6, Dec. 2016, doi: 10.1038/SREP38536.
- [11] C. DIMOPOULOS, A. GIALAS, M. LIKOURINAS, G. ANDROUTSOS, and A. KOSTAKOPOULOS, "Hippocrates: founder and pioneer of urology," *Br J Urol*, vol. 52, no. 2, pp. 73–74, 1980, doi: 10.1111/J.1464-410X.1980.TB02931.X.
- [12] J. Shah and H. N. Whitfield, "Urolithiasis through the ages," *BJU Int*, vol. 89, no. 8, pp. 801–810, 2002, doi: 10.1046/J.1464-410X.2002.02769.X.
- [13] I. Sorokin, C. Mamoulakis, K. Miyazawa, A. Rodgers, J. Talati, and Y. Lotan, "Epidemiology of stone disease across the world," *World J Urol*, vol. 35, no. 9, pp. 1301–1320, Sep. 2017, doi: 10.1007/S00345-017-2008-6.

- [14] M. S. Pearle, E. A. Calhoun, and G. C. Curhan, "Urologic diseases in America project: urolithiasis," *J Urol*, vol. 173, no. 3, pp. 848–857, 2005, doi: 10.1097/01.JU.0000152082.14384.D7.
- [15] A. Hesse, E. Brändle, D. Wilbert, K. U. Köhrmann, and P. Alken, "Study on the Prevalence and Incidence of Urolithiasis in Germany Comparing the Years 1979 vs. 2000," *Eur Urol*, vol. 44, no. 6, pp. 709–713, 2003, doi: 10.1016/S0302-2838(03)00415-9.
- [16] J. B. Ziemba and B. R. Matlaga, "Epidemiology and economics of nephrolithiasis," *Investig Clin Urol*, vol. 58, no. 5, pp. 299–306, Sep. 2017, doi: 10.4111/ICU.2017.58.5.299.
- [17] S. R. Khan, "Reactive oxygen species as the molecular modulators of calcium oxalate kidney stone formation: evidence from clinical and experimental investigations," *J Urol*, vol. 189, no. 3, pp. 803–811, Mar. 2013, doi: 10.1016/J.JURO.2012.05.078.
- [18] A. P. Evan, "Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract," *Pediatr Nephrol*, vol. 25, no. 5, pp. 831–841, May 2010, doi: 10.1007/S00467-009-1116-Y.
- [19] O. W. Moe, "Kidney stones: pathophysiology and medical management," *Lancet*, vol. 367, no. 9507, pp. 333–344, Jan. 2006, doi: 10.1016/S0140-6736(06)68071-9.
- [20] L. K. Massey and R. A. L. Sutton, "Acute caffeine effects on urine composition and calcium kidney stone risk in calcium stone formers," *J Urol*, vol. 172, no. 2, pp. 555–558, 2004, doi: 10.1097/01.JU.0000129413.87024.5C.
- [21] N. Göknar, F. Oktem, E. Ari, A. D. Demir, and E. Torun, "Is oxidative stress related to childhood urolithiasis?," *Pediatr Nephrol*, vol. 29, no. 8, pp. 1381–1386, 2014, doi: 10.1007/S00467-014-2773-Z.
- [22] L. Mayans, "Nephrolithiasis," *Prim Care*, vol. 46, no. 2, pp. 203–212, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.POP.2019.02.001.
- [23] K. Tungsanga, P. Sriboonlue, P. Futrakul, C. Yachantha, and P. Tosukhowong, "Renal tubular cell damage and oxidative stress in renal stone patients and the effect of potassium citrate treatment," *Urol Res*, vol. 33, no. 1, pp. 65–69, Feb. 2005, doi: 10.1007/S00240-004-0444-4.
- [24] D. Prezioso *et al.*, "Dietary treatment of urinary risk factors for renal stone formation. A review of CLU Working Group," *Arch Ital Urol Androl*, vol. 87, no. 2, pp. 105–120, 2015, doi: 10.4081/AIUA.2015.2.105.
- [25] S. Yuan and S. C. Larsson, "Coffee and Caffeine Consumption and Risk of Kidney Stones: A Mendelian Randomization Study," *Am J Kidney Dis*, vol. 79, no. 1, pp. 9–14.e1, Jan. 2022, doi: 10.1053/J.AJKD.2021.04.018.
- [26] Y. Song, N. Hernandez, J. Shoag, D. S. Goldfarb, and B. H. Eisner, "Potassium citrate decreases urine calcium excretion in patients with hypocitraturic calcium oxalate nephrolithiasis," *Urolithiasis*, vol. 44, no. 2, pp. 145–148, Apr. 2016, doi: 10.1007/S00240-015-0819-8.

- [27] L. F. Fontenelle and T. D. Sarti, "Kidney Stones: Treatment and Prevention," *Am Fam Physician*, vol. 99, no. 8, pp. 491–496, Apr. 2019, Accessed: Oct. 11, 2024. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30990297/>
- [28] A. K. Rad, M. A. R. Hadjzadeh, Z. Rajaei, N. Mohammadian, S. Valiollahi, and M. Sonei, "The beneficial effect of cynodon dactylon fractions on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats," *Urol J*, vol. 8, no. 3, pp. 179–184, Jun. 2011, Accessed: Oct. 11, 2024. [Online]. Available: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21910095/>
- [29] V. Tugcu *et al.*, "Protective effect of a potent antioxidant, pomegranate juice, in the kidney of rats with nephrolithiasis induced by ethylene glycol," *J Endourol*, vol. 22, no. 12, pp. 2723–2731, Dec. 2008, doi: 10.1089/END.2008.0357.
- [30] K. Ingale, P. Thakurdesai, and N. Vyawahare, "Effect of Hygrophila spinosa in ethylene glycol induced nephrolithiasis in rats," *Indian J Pharmacol*, vol. 44, no. 5, pp. 639–642, Oct. 2012, doi: 10.4103/0253-7613.100402.
- [31] C. D. Scales, A. C. Smith, J. M. Hanley, and C. S. Saigal, "Prevalence of kidney stones in the United States," *Eur Urol*, vol. 62, no. 1, pp. 160–165, Jul. 2012, doi: 10.1016/J.EURURO.2012.03.052.
- [32] P. Peerapen and V. Thongboonkerd, "Caffeine in Kidney Stone Disease: Risk or Benefit?," *Adv Nutr*, vol. 9, no. 4, pp. 419–424, Jul. 2018, doi: 10.1093/ADVANCES/NMY016.
- [33] J. Zhao, Y. Huang, and X. Yu, "Caffeine intake and the risk of incident kidney stones: a systematic review and meta-analysis," *Int Urol Nephrol*, vol. 54, no. 10, pp. 2457–2466, Oct. 2022, doi: 10.1007/S11255-022-03295-1.
- [34] M. KLEIBER, "Body size and metabolic rate," *Physiol Rev*, vol. 27, no. 4, pp. 511–541, Oct. 1947, doi: 10.1152/PHYSREV.1947.27.4.511.
- [35] S. Reagan-Shaw, M. Nihal, and N. Ahmad, "Dose translation from animal to human studies revisited," *FASEB J*, vol. 22, no. 3, pp. 659–661, Mar. 2008, doi: 10.1096/FJ.07-9574LSF.
- [36] P. M. Ferraro, E. N. Taylor, G. Gambaro, and G. C. Curhan, "Caffeine intake and the risk of kidney stones1," *Am J Clin Nutr*, vol. 100, no. 6, p. 1596, Dec. 2014, doi: 10.3945/AJCN.114.089987.
- [37] P. Peerapen and V. Thongboonkerd, "Caffeine in Kidney Stone Disease: Risk or Benefit?," *Adv Nutr*, vol. 9, no. 4, pp. 419–424, Jul. 2018, doi: 10.1093/ADVANCES/NMY016.
- [38] L. de Araújo, J. M. Costa-Pessoa, M. C. de Ponte, and M. Oliveira-Souza, "Sodium Oxalate-Induced Acute Kidney Injury Associated With Glomerular and Tubulointerstitial Damage in Rats," *Front Physiol*, vol. 11, Aug. 2020, doi: 10.3389/FPHYS.2020.01076.
- [39] Y. Li and K. E. McMartin, "Strain differences in urinary factors that promote calcium oxalate crystal formation in the kidneys of ethylene glycol-treated rats," *Am J Physiol Renal Physiol*, vol. 296, no. 5, 2009, doi: 10.1152/AJPRENAL.90727.2008.

- [40] R. X. Wang, L. Wu, S. F. Chen, Z. Y. Li, M. H. Zhao, and M. Chen, "Renal Expression of Annexin A1 Is Associated With the Severity of Renal Injury in Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody-Associated Vasculitis," *Front Med (Lausanne)*, vol. 9, Jun. 2022, doi: 10.3389/FMED.2022.769813.
- [41] N. Hongsrirachan *et al.*, "Annexin A1: A new immunohistological marker of cholangiocarcinoma," *World Journal of Gastroenterology : WJG*, vol. 19, no. 16, p. 2456, 2013, doi: 10.3748/WJG.V19.I16.2456.
- [42] G. C. Curhan, W. C. Willett, E. B. Rimm, D. Spiegelman, and M. J. Stampfer, "Prospective study of beverage use and the risk of kidney stones," *Am J Epidemiol*, vol. 143, no. 3, pp. 240–247, Feb. 1996, doi: 10.1093/OXFORDJOURNALS.AJE.A008734.
- [43] G. C. Curhan, W. C. Willett, F. E. Speizer, and M. J. Stampfer, "Beverage use and risk for kidney stones in women," *Ann Intern Med*, vol. 128, no. 7, pp. 534–540, Apr. 1998, doi: 10.7326/0003-4819-128-7-199804010-00003.
- [44] P. M. Ferraro, E. N. Taylor, G. Gambaro, and G. C. Curhan, "Soda and other beverages and the risk of kidney stones," *Clin J Am Soc Nephrol*, vol. 8, no. 8, pp. 1389–1395, Jul. 2013, doi: 10.2215/CJN.11661112.
- [45] C. R. Tracy and M. S. Pearle, "Update on the medical management of stone disease," *Curr Opin Urol*, vol. 19, no. 2, pp. 200–204, Mar. 2009, doi: 10.1097/MOU.0B013E328323A81D.
- [46] J. Escribano, A. Balaguer, F. Pagone, A. Feliu, and M. R. I. Figuls, "Pharmacological interventions for preventing complications in idiopathic hypercalciuria," *Cochrane Database Syst Rev*, vol. 2009, no. 1, 2009, doi: 10.1002/14651858.CD004754.PUB2.
- [47] G. Caprioli *et al.*, "Quantification of caffeine, trigonelline and nicotinic acid in espresso coffee: the influence of espresso machines and coffee cultivars," *Int J Food Sci Nutr*, vol. 65, no. 4, pp. 465–469, 2014, doi: 10.3109/09637486.2013.873890.
- [48] C. R. Tracy and M. S. Pearle, "Update on the medical management of stone disease," *Curr Opin Urol*, vol. 19, no. 2, pp. 200–204, Mar. 2009, doi: 10.1097/MOU.0B013E328323A81D.
- [49] S. Casal, M. B. P. P. Oliveira, M. R. Alves, and M. A. Ferreira, "Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content," *J Agric Food Chem*, vol. 48, no. 8, pp. 3420–3424, 2000, doi: 10.1021/JF990702B.
- [50] P. Peerapen, N. Ausakunpipat, S. Sutthimethakorn, S. Aluksanasuwan, A. Vinaiphat, and V. Thongboonkerd, "Physiologic changes of urinary proteome by caffeine and excessive water intake," *Clin Chem Lab Med*, vol. 55, no. 7, pp. 993–1002, Jun. 2017, doi: 10.1515/CCLM-2016-0464.
- [51] R. Kanlaya, C. Subkod, S. Nanthawuttiphon, and V. Thongboonkerd, "The protective effect of caffeine against oxalate-induced epithelial-mesenchymal transition in renal tubular cells via mitochondrial preservation," *Biomed Pharmacother*, vol. 171, Feb. 2024, doi: 10.1016/J.BIOPHA.2024.116144.