

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

NONSTEROİDAL ANTİ-İNFLAMATUVAR İLAÇ
DİKLOFENAK'IN SIÇAN BÖBREĞİNDEKİ ETKİLERİ
VE FUROSEMİDLE DEĞİŞMESİ

Dr. A. Ayberk BEŞEN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Saime PAYDAŞ

ADANA-2006

TEŞEKKÜR

Hekimlik kimliği ve örnek kişiliği daima önümde parlayan bir ışık olan ve tez çalışmamın her aşamasında destek ve yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Saime PAYDAŞ'a, deneysel çalışmamda emeği yadsınamayacak kadar çok olan hocam Prof. Dr. Ayşe DOĞAN'a, patolojik incelemelerimizde değerli zamanını ayırarak yardımcı olan Prof. Dr. Gülfiliz GÖNLÜŞEN'e, Biyokimya Anabilim Dalından Doç. Dr. Tamer İNAL'a ve Nükleer Tıp Anabilim Dalından Prof. Dr. Mustafa KİBAR'a

Teşekkür ederim.

Dr. A. Ayberk BEŞEN

TFT2002LTFP68 no'lu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ.....	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
KISALTMALAR LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. NSAİİ ile İlişkili Nefrotoksik Sendromlar.....	2
2.1.1. Sıvı ve Elektrolit Bozuklukları	2
2.1.2. Renal Fonksiyonda Akut Bozulma	2
2.1.3. Nefrotik Sendrom ve İnterstisyel Nefrit	4
2.1.4. Renal Papiller Nekroz	5
2.1.4.1. Akut Renal Papiller Nekroz.....	6
2.1.4.2. Kronik Renal Papiller Nekroz.....	6
2.2. COX İzofomları.....	7
2.3. Renal COX Ekspresyonu	8
2.4. Böbrekte COX İnhibisyonunun Sonuçları	9
2.4.1. Sodyum Atılımı.....	9
2.4.2. Bazal Renal Kan Akımı	10
2.5. Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi	11
2.5.1. Anjiyotensinler ve Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)	12
2.5.2. Ang II'nin Sistemik Etkileri ve Aldosteron	12
2.6. COX-2 ve Renin Anjiyotensin Sistemi.....	14
3. MATERYAL ve METOD	16
3.1. Deney Protokolü	16
3.1.1. Biyokimyasal Metod.....	17
3.1.2. İmmünohistokimyasal Metod	17

3.2. İstatistiksel Analiz.....	19
4. BULGULAR.....	20
5. TARTIŞMA.....	34
6. SONUÇLAR.....	40
7. KAYNAKLAR.....	41
8. ÖZGEÇMİŞ.....	47

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Türler arasında COX-1 ve COX-2 lokalizasyon farklılıkları	8
Tablo 2. Siklooksijenaz enzim lokalizasyonları ve muhtemel fonksiyonları	10
Tablo 3. Tüm gruplardaki ortalama vücut ağırlıkları	20
Tablo 4. Gruplardaki BUN, Kreatinin, serum Na, K, ALT, GGT ve PRA ortalama Değerleri	25
Tablo 5. Gruplardaki 24 saatlik idrar miktarı, idrar Na, K, osmolalite ve kreatinin kleriensi.....	30

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Risk altındaki hastalarda NSAİİ'lerin kompansetuvar mekanizmalar üzerine etkileri	4
Şekil 2. RAAS ve maküla densadaki COX-2 arasındaki potansiyel etkileşimler	15
Şekil 3. Gruplardaki deney başlangıcı ile sonu arasındaki ağırlık değişimleri.....	21
Şekil 4. Tüm gruplardaki serum kreatinin ortalama değerleri	21
Şekil 5. Gruplardaki ortalama BUN değerleri	22
Şekil 6. Grupların ortalama serum sodyum değerlerinin karşılaştırılması	23
Şekil 7. Grupların ortalama serum potasyum değerlerinin karşılaştırılması	24
Şekil 8. Grupların ortalama plazma renin aktivite değerlerinin karşılaştırılması	25
Şekil 9. Grupların 24 saatlik idrar miktarı ortalamalarının karşılaştırılması	26
Şekil 10. Gruplarda 24 saatlik idrar Na düzeyleri karşılaştırılması.....	27
Şekil 11. Grupların idrar K düzeylerinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 12. Grupların idrar osmolaliteleri	28
Şekil 13. Grupların ortalama kreatinin klerenslerinin karşılaştırılması	29
Şekil 14. COX-2 immünoreaktivitesinin ortalama değerlerinin karşılaştırılması	31
Şekil 15. COX-1 immünoreaktivitesinin gruplara göre dağılımı	31
Şekil 16: COX–2 immunoreaktivitesinin maküla densada gösterilmesi	32
Şekil 17: COX–1 immunoreaktivitesinin toplayıcı kanallarda gösterilmesi	33

KISALTMALAR LİSTESİ

ALT	: Alanin aminotransferaz
ADE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
Ang I	: Anjiotensin I
Ang II	: Anjiotensin II
ADH	: Antidiüretik hormon
AA	: Araşidonik asit
BUN	: Kan üre azotu
COX	: Siklooksijenaz
COX-1	: Siklooksijenaz I
COX-2	: Siklooksijenaz II
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
GGT	: Gama glutamil transpeptidaz
GFR	: Glomerül filtrasyon hızı
NSAİİ	: Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar
PRA	: Plazma renin aktivitesi
PG	: Prostaglandin
PGE2	: Prostaglandin E2
PGI2	: Prostatiklin
R	: Aralık
RAAS	: Renin anjiotensin aldosteron sistemi
TXA2	: Tromboksan A2

ÖZET

Nonsteroidal Anti-inflamatuvar İlaç Diklofenak'ın Sıçan Böbreğindeki Etkileri ve Furosemidle Değişmesi

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

Deneyisel çalışmamızda selektif olmayan bir nonsteroidal anti-inflamatuvar olan diklofenak soyumun tek başına ve kıvrım diüretiği olan furosemid ile birlikte renal fonksiyonlar, plazma renin aktivitesi (PRA) ve böbrek korteksinde COX-1 ve COX-2 düzeylerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

Çalışmada toplam 42 adet Wistar-Albino türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Grup 1'e (G1) plasebo, grup 2'ye (G2) furosemid (20mg/kg), grup 3'e (G3) furosemid (20mg/kg) ve diklofenak sodyum (2,5 mg/kg), grup 4'e (G4) diklofenak sodyum (2,5mg/kg) verildi. Çalışma sonunda gruplar arasında kan üre azotu ve serum kreatinin düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu ancak G4'te kreatinin klerensi diğer 3 gruptan düşük bulundu ($p<0,05$). G2 ve G4'te idrar osmolalitesi G1 ve G3'ten düşük idi ($p<0,05$). PRA açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Böbrek korteksinde COX-1 immünoreaktivitesi; furosemid ile plasebo grubunda benzer iken diklofenak sodyumla azalmış bulundu ($p<0,05$). COX-2 immünoreaktivitesi ise hem diüretik hem de diklofenak sodyum etkisi ile artmış olarak bulundu ($p<0,05$).

Sonuç olarak diklofenak sodyum 2,5 mg/kg/gün dozunda sıçanlarda akut böbrek yetersizliği geliştiği halde diklofenak sodyum furosemidle birlikte verildiğinde akut böbrek yetersizliği gelişmesi furosemidle önlendi. Furosemidin diüretik, natriüretik ve kaliüretik etkisi diklofenak sodyum ile nötralize edildi. COX-1 immünoreaktivitesi furosemidle değişmediği halde diklofenak sodyumla azaldı. COX-2 immünoreaktivitesi hem furosemidle hem de diklofenak sodyumla artış gösterdi. Böbrek fonksiyon bozukluğu gelişmesi ile COX-1 ve COX-2 ekspresyonu arasında ilişki saptanmadı.

Anahtar kelimeler: COX-1 immünoreaktivitesi, COX-2 immünoreaktivitesi, Diklofenak sodyum

ABSTRACT

The Effects of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug, Diclofenac, upon the Rat Kidney and the Alterations with Furosemid

Renal physiology is partially cyclooxygenase (COX) dependent. Prostaglandins are active in regulating vascular tone and salt and water homeostasis by modulating glomerular hemodynamics and regulating distal nephron function. Unlike the gastrointestinal tract and platelets in which physiological function depends on cyclooxygenase-1 (COX-1) kidneys express COX-1 and cyclooxygenase -2 (COX-2).

In this experimental study our aim was to investigate the effects of nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium alone and with a loop diuretic furosemide on renal functions, plasma renin activity (PRA) and COX-1 and COX-2 expression at renal cortex.

Forty two Wistar-Albino rats were used in the study. Rats were divided to 4 groups. Group 1 (G1), group 2 (G2), group 3 (G3) and group 4 (G4) were given placebo, furosemide (20 mg/kg), furosemide (20 mg/kg) plus diclofenac sodium (2,5 mg/kg) and diclofenac sodium (2,5 mg/kg) respectively. At the end of the study, blood urea nitrogen and serum creatinin levels were not different between groups but in G4 creatinin clearance was significantly lower than other 3 groups ($p < 0.05$). PRA was not different between groups. COX-1 immunoreactivity in G1 and G2 was similar. Diclofenac sodium decreased COX-1 immunoreactivity at renal cortex ($p < 0.05$). COX-2 immunoreactivity increased both with diuretic and diclofenac sodium ($p < 0.05$).

Finally, acute renal failure developed with diclofenac sodium at 2,5 mg/kg/day dosage, and furosemide prevented renal failure development in rats treated with combination of diclofenac sodium and furosemid. Diuretic, natriuretic and kaliuretic effects of furosemide was neutralised by diclofenac sodium. Renal COX-1 immunoreactivity did not change with furosemide but decreased with diclofenac sodium. Renal COX-2 immunoreactivity increased with both furosemide and diclofenac sodium. There was no relationship between development of renal failure and COX-1 and COX-2 expression.

Key Words: COX-1 immunoreactivity, COX-2 immunoreactivity, Diclofenac sodium.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaç (NSAİİ) kullanan hastalarda nefrotoksisite prevalansı göreceli olarak düşük olsa da, bu ajanların yaygın kullanımı göz önüne alındığında pek çok kişinin risk altında olduğu anlaşılmaktadır.

Normal koşullarda böbreğin hemodinamik fonksiyonlarının devamında renal prostaglandinlerin rolü sınırlıdır. Böbreğin perfüzyonunun azaldığı bazı kardiyorenal hastalıklarda, dehidratasyonda ve yaşla birlikte renal prostaglandin yapımının yeterliliği önem kazanır. Bu gibi durumlarda NSAİİ kullanımı ile renal prostaglandin oluşumunun inhibisyonu çeşitli renal fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır. Sıvı ve elektrolit bozuklukları, akut renal disfonksiyon, nefrotik sendrom, intersitisyel nefrit ve renal papiller nekroz bunlar arasındadır. Renal homeostazın NSAİİ kullanımı ile bozulması, kan basıncı kontrolünü de özellikle anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, diüretik ve beta bloker kullanan hastalarda zorlaştırmaktadır.

NSAİİ'ler prostanoid oluşumunda anahtar enzimler olan siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2'yi (COX-2) inhibe ederek etki gösterirler. Bu enzimler böbrekte kortikal ve medüller bölgede farklı düzeylerde bulundukları gibi aynı etkilere farklı yanıtlar 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.

Biz deneysel çalışmamızda selektif olmayan bir nonsteroidal anti-inflamatuvar olan diklofenak sodyumun tek başına ve bir kıvrım diüretiği olan furosemid ile birlikte renal fonksiyonlar, renin düzeyi ve böbrek korteksinde COX-1 ve COX-2 düzeyleri üzerine olan etkilerini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİ

2.1. NSAİİ ile İlişkili Nefrotoksik Sendromlar

2.1.1. Sıvı ve Elektrolit Bozuklukları

Ödem ve sodyum birikimi NSAİİ'lerin sık yan etkilerinden olup genellikle bulguları belirgin değildir. NSAİİ başlandıktan kısa süre sonra gelişebilir. Semptomatik ödem prevalansı %3-%5'tir ¹. NSAİİ'lerin prostaglandin sentezini bloke etmesi sonucu:

- Distal tübülden sodyum ve su reabsorbsiyonunun düzenlenmesi
- Antidiüretik hormon etkisinin antagonize edilmesi
- Kortikal alandan jukstamedüller alana olan kan akımının yeniden düzenlenmesi

gibi prostaglandin bağımlı işlevler yerine getirilemez. Sonuçta sodyum birikimi ve ödem ortaya çıkar ^{2,3}.

NSAİİ ilişkili diğer bir elektrolit bozukluğu da hiperkalemidir. Hiperkalemi fizyopatolojik olarak iki temele dayanır. İlk olarak NSAİİ'ler, prostaglandin ilişkili renin salınımını baskılayarak aldosteron oluşumunu ve dolayısıyla potasyum atılımını azaltırlar ⁴. İkinci olarak glomerüler filtrasyonun (GFR) azaldığı durumlarda NSAİİ'ler renal tübülde sodyum ve klor reabsorbsiyonunu artırarak intraluminal sodyum miktarını azaltırlar bu da distal nefronda sodyum-potasyum değişimini engeller ⁴.

Potasyum desteği alan ⁵, potasyum tutan diüretik ⁶ ya da anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörü kullanan hastalar hiperkalemi için özellikle risk altındadır. Renal fonksiyon bozukluğu ⁷, kalp yetersizliği ⁸, diabetes mellitus ⁹ ve multiple myelom ¹⁰ NSAİİ ile hiperkalemi gelişimini kolaylaştırırlar. NSAİİ kullanımı sonucu renal fonksiyon bozukluğu gelişen hastalarda, renal fonksiyon bozukluğunun derecesi ile uyumsuz olacak şiddette hiperkalemi gelişebilir.

2.1.2. Renal Fonksiyonda Akut Bozulma

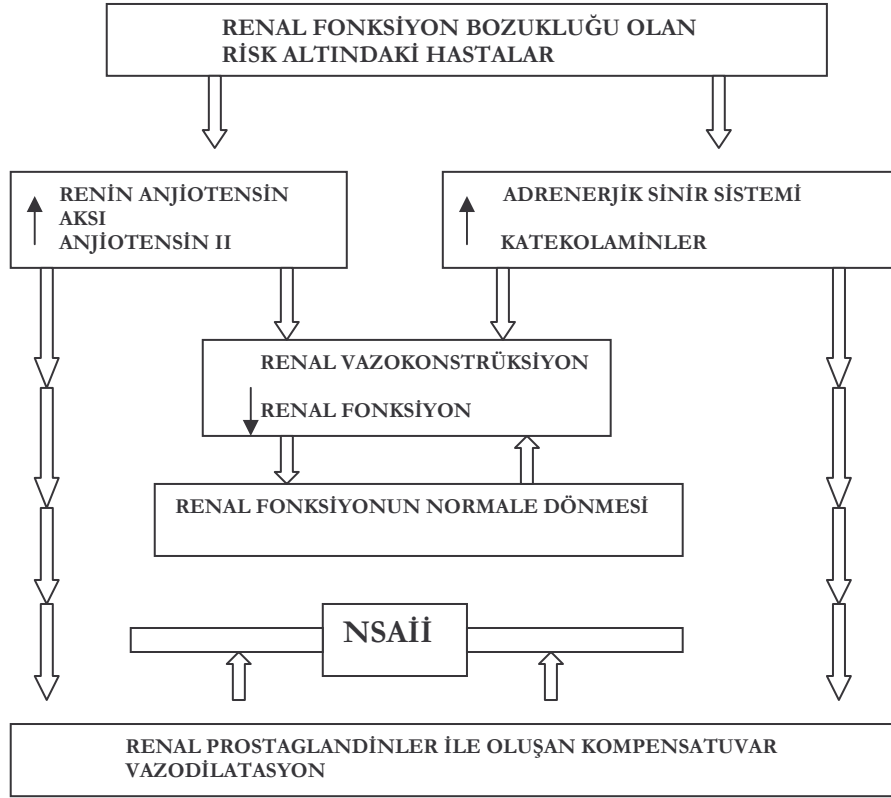
NSAİİ'ler temel olarak prostaglandinlerin vazodilatatör etkilerine engel olarak renal fonksiyonda bozulmaya yol açarlar. İndometazin kullanımında bu komplikasyon riski en yüksek iken aspirinin genel olarak kullanılan teröpatik dozlarında çok daha

azdır. Naproksen, diklofenak, piroksikam ve ibuprofen ise orta derecede (aspirin ile indometazin arasında) renal fonksiyon bozukluğuna neden olabilir.

Ciddi kalp hastalığı (örn. konjestif kalp yetersizliği ¹¹), siroz gibi ilerlemiş karaciğer hastalığı, nefrotik sendrom ^{12,13}, diüretik tedavi ya da araya giren hastalık ^{14,15} nedeniyle uzayan dehidratasyon durumları ve ilerlemiş yaşı (özellikle 80 yaşı sonrası ¹) gibi durumlarda hastalar akut renal fonksiyon bozukluğuna daha yatkın hale gelirler.

NSAİİ ilişkili akut böbrek yetersizliğinin hızla tanınması ve neden olan ajanın kesilmesi ile renal fonksiyon kaybı bir hafta içinde (tipik olarak 72–96 saatte) düzelmeye başlar. Bu tip NSAİİ ilişkili nefrotoksisitenin temel bulguları: kan üre azotu, serum kreatinin ve potasyum düzeylerinde artış, kilo artışı ve idrar miktarında azalmadır. Renal fonksiyonlarda bozulma NSAİİ kullanım süresi ve dozuyla ilişkilidir. Renal fonksiyon bozukluğunun ortaya çıkışı süresi ise NSAİİ farmakokinetiği ile ilişkili olup, bu süre ibuprofen gibi yarı ömrü kısa olan ajanlarda piroksikam ve sulindak gibi yarı ömrü daha uzun olan ajanlardan daha çabuk olmaktadır. İbuprofen ilişkili renal fonksiyon bozukluğu birkaç gün içinde gelişebilirken, sulindak ve piroksikamın kullanıldığı 11 günlük tedavi intervallerinde toksisitenin daha az olduğu saptanmıştır ¹⁶.

Sulindak ilacın metabolizması nedeniyle kısmen daha az nefrotoksik bir ajan olarak değerlendirilmektedir. Ana molekül olan sulindak sulfoksid inaktif bir ön ilaç olup karaciğerde aktif metabolit olan sulindak sülfide dönüşmektedir. Böbrekte sulindak sülfid tekrar ana moleküle okside olup renal prostaglandin atılımını etkilememektedir ¹⁷. Ancak kronik renal yetersizlik, siroz (asitin eşlik ettiği) gibi durumlarda sulindakin renal prostaglandin sentezini aslında inhibe ettiği ve renal fonksiyon bozukluğuna neden olabileceği saptanmıştır. Bu nedenle ilacın ihtiyatlı kullanımı ve uygun klinik monitörizasyonu gerekmektedir.



Şekil 1: Risk altındaki hastalarda NSAİİ’lerin kompensatuvar mekanizmalar üzerine etkileri

2.1.3. Nefrotik Sendrom ve İnterstisyel Nefrit

NSAİİ ilişkili nefrotik sendrom ve interstisyel nefrit sık görülmeyen bir sendromdur. İlacın kullanımından günler ya da aylar sonra ortaya çıkabilir (ortalama 5,4 ay); 2 hafta ile 18 ay arasında değişir. Klinik özellikleri, pato-fizyolojisi ve risk faktörlerinin olması NSAİİ ilişkili nefrotik sendrom/interstisyel nefrit; diğer ilaçlara bağlı interstisyel nefritlerden ayırmaktadır.

Ateş, döküntü, eozinofili, eozinofilüri gibi allerjik intersitisyel nefrit bulguları genellikle yoktur. İdrar sedimentinde mikroskopik hematüri, tübüler epitel hücre silendirleri görülebilir. Proteinüri tipik olarak nefrotik düzeydedir ^{18,19}. Böbrek histolojisi sıklıkla minimal değişiklik glomerülonefriti ile birlikte interstisyel nefrit histolojisi gösterir. Bu histopatolojik kombinasyon diğer klinik durumlarda nadiren birlikte görülür ¹⁸⁻²⁰. Radford ve arkadaşları ²¹ NSAİİ ilişkili nefrotik sendromda

histolojik olarak membranöz glomerülonefrit bulguları da olabileceğini bildirmişlerdir. Bu raporda 13 hastanın nefrotik sendromu ilacın kesilmesiyle hızla gerilemiş ve takiplerde stabil oldukları gözlenmiştir.

NSAİİ'lerin renal tübüler inflamasyona yol açması arasıdonik asit metabolizmasının ikili yolu ile açıklanabilir. Siklooksijenaz (COX) yolunun kesilmesi arasıdonik asit metabolitlerinin alternatif lipoksijenaz yoluna, kemotaktik-vazoaktif lökotriyenleri oluşturmak üzere, yönelmesine neden olur. Glomerüler ve peritübüler kapillerlerde lökotriyenlere bağlı permeabilite artışının nefrotik düzeyde proteinüri ve interstisyel nefrit oluşturduğu öne sürülebilir.

NSAİİ ilişkili interstisyel nefrit veya nefrotik sendrom gelişmesi için risk faktörleri henüz tam olarak belirlenememiştir. Önceden mevcut olan renal fonksiyon bozukluğu risk faktörü olarak görünmemektedir. Ancak sistemik lupus eritematozus gibi bir otoimmün hastalık NSAİİ kullanımı sonrası ortaya çıkan nefrotik sendromu belirgin hale gelebilir. İleri yaş NSAİİ ile daha yoğun temasla ilişkili olarak risk faktörü olarak değerlendirilmektedir.

Tüm NSAİİ'lerin nefrotik sendroma neden olduğu bildirilmekle beraber fenoprofen en sık neden olan ajan olarak görünmektedir. NSAİİ'nin moleküler yapısı bu klinik tablonun patogeneğinde önemli rol oynamaktadır.

Sorumlu NSAİİ'nin kesilmesiyle proteinüri genellikle bir ay içerisinde düzelmekle beraber süre bir yıla kadar uzayabilir. Kortikosteroidler tedavide amprik olarak kullanılmakla beraber klinik yararı ile ilgili sonuçlar belirgin değildir^{3,14,19}. Ancak NSAİİ kesilmesinden sonra iki hafta içinde proteinüride belirgin azalmanın görülmemesi durumunda kortikosteroid tedavi başlanması uygun tedavi yaklaşımı olarak görünmektedir.

2.1.4. Renal Papiller Nekroz

Renal papiller nekroz NSAİİ'lere bağlı akut ya da kronik olarak gelişebilir²²⁻²⁴. Sık görülmeyen bir klinik antite olmasına karşın renal parankimal hasarın kalıcı olması nedeniyle NSAİİ ilişkili diğer nefropatilerden daha fazla klinik öneme sahiptir. Hem akut hem de kronik renal papiller nekroz daha önce normal renal fonksiyona sahip dehidrate kişilerde aşırı doz NSAİİ kullanımı ile ortaya çıkmaktadır. Fenasetin bu tip

nefropati yapmakla en çok suçlanan ajan olup analjezik ilaç kötüye kullanımına bağlı nefropati yaptığı kanıtlandıktan sonra piyasadan kaldırılmıştır.

2.1.4.1. Akut Renal Papiller Nekroz

Akut renal papiller nekroz olduğundan daha az klinik tanı alan bir tablo olup genellikle makroskopik hematüri ile birlikte renal kolik ile karıştırılır. Hemen her zaman uzun bir dehidratasyon döneminde yüksek doz NSAİİ kullanım öyküsünün olması klinik tanı için gereklidir. Akut renal papiller nekrozun patofizyolojisinde gelişen iskemik nekroz yer almaktadır²⁴. Renal papiller lezyon keskin bir demarkasyon hattı ile ayrılır ve histolojik olarak infarkt ile birlikte koagülasyon nekrozu içerir. Doku nekrozu olaya dahil olan renal piramidin distal segmenti ile sınırlanır. İdrarın maksimal konsantrasyonu renal papillanın vasküler ve anatomik bütünlüğüne bağlıdır. Renal papillanın kanlanması ise lokal prostaglandin (PG) üretimi büyük öneme sahiptir.

Ciddi dehidratasyonun çok miktarda NSAİİ tüketimi ile birleştiği klinik durumda papillada lokal olarak NSAİİ ve/veya metaboliti birikir. Bu artan ilaç konsantrasyonu ek olarak kompensatuvar vazodilatatör renal papiller PG üretimini de inhibe eder.

Akut renal papiller nekrozun uzun dönem klinik sonuçları iyileşen kişinin idrarı konsantre etme kapasitesine bağlıdır. Bunun nedeni; nefronların küçük bir kısmının (yaklaşık 1/7'sinin) Henle kolları papillaya kadar uzanırlar ve bunlar geri dönüşümsüz olarak hasarlanırlar, ancak kalan nefronların fonksiyonu devam eder. Nekroze papiller kenarın içerdiği toplayıcı kanalların terminal kısımları ise piramidin medüller bölgesinde sonlanarak piyelokaliksiyel sisteme idrar akışını sağlarlar. Hayvan modellerinde hemen tüm NSAİİ'lerin renal papiller nekroza neden olduğu saptanmıştır. Klinik kullanımda fenoprofen, ibuprofen, fenilbutazonun diğerlerine göre bu tür nefropatiye daha sık neden olduğu rapor edilmiştir^{21, 22, 25}.

2.1.4.2. Kronik Renal Papiller Nekroz

1950 başlarında tekrarlayan uzun dönem antipiretik analjezik kullanımı ile kronik renal yetersizlik gelişimi arasında ilişki saptanmıştır. Bu dönemde fenasetin ve

aspirin içeren analjezik karışımlarının kronik kullanımları sonucu ortaya çıkan tubulointerstisyel nefritin kadınlarda erkeklerden daha sık görüldüğü saptanmıştır. Fenasetin'in piyasadan çekilmesine rağmen analjezik aşırı kullanımına bağlı nefropatinin halen tanı alıyor olması diğer analjeziklerin de bu tip toksisiteye neden olduğunu düşündürmektedir. Diyaliz hastalarının %2'den azı bu tanı ile takip edilmektedir.

Analjezik aşırı kullanım nefropatisinin patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Hayvan modellerinde renal papiller nekroz oluşturmak için yüksek dozda NSAİİ kullanımı gerekmektedir. Birçok raporda NSAİİ ilaç kombinasyonları, özellikle aspirin içeren kombinasyonlar, tekli ilaç rejimlerinden daha çok nefrotoksik bulunmuşlardır. Fenasetin'in ana metaboliti olan asetaminofen fenasetin gibi nefrotoksik değildir ve üriner epitelyum kaynaklı tümörlerle de ilişkisiz bulunmuştur²⁶.²⁷. Önerilen dozlarda tek başına kullanıldığında asetaminofenin renal toksisitesinin olmadığı kanıtlanmıştır.

2.2. COX İzofomları

İlk defa Vane 1970'lerin başlarında NSAİİ'lerin teröpatik etki ve toksisitelerinin prostaglandin (PG) sentezinin ilk basamağı olan COX enziminin inhibisyonu yolu ile olduğunu öne sürmüştür²⁸. Bundan yaklaşık 20 yıl sonra da iki COX izoformu olduğu saptanmıştır. 1991 yılında çeşitli laboratuvarlar tarafından iki gen tarafından kodlanan iki ayrı COX (COX-1 ve COX-2) izoformu olduğu doğrulanmıştır²⁹.

COX-1 birçok organ ve hücrede yapısal olarak bulunur ve gastrik mukozal savunma, trombosit agregasyonu gibi fizyolojik fonksiyonları düzenleyen PG'leri sentezler. COX-2 ise bazı dokularda yapısal olarak bulunmasına karşın COX-1'den farklı olarak bakteriyel endotoksinler, sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından indüklenerek pro-inflamatuvar PG'lerin sentezini katalize eder.

COX-1 ve COX-2 knock-out farelerde ve bu enzimlerin spesifik inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda her iki enzimin fizyolojik fonksiyonlardaki rollerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bazı fonksiyonlarda her bir izoform ayrı ayrı yer alır. Trombosit agregasyonunda yer alan tromboksan A₂'nin sentezi sadece COX-1 aracılığı ile olabilmektedir. COX-1 knock-out farelerde araşidonik asit (AA) ile agregasyon

oluşmaması ³⁰, COX-2'nin bu olayda COX-1'in eksikliğini kompanse edemediğini gösterir. Ovulasyon için ise COX-2 enzimi gerekli olup, COX-2 eksik olan farelerin infertil oldukları gözlenmiştir ³¹. Karsinogenez ve inflamasyonda her iki enzim koordine şekilde fonksiyon görürken, doğum ve duktus arteriyozusun remodelingi sırasında eksikliklerini kompanse edebilirler.

2.3. Renal COX Ekspresyonu

Sıçan ve köpek gibi laboratuvar hayvanlarında ve primatlarda (maymun ve insan) böbrek dokusunda COX-1 ve COX-2'nin yapısal olarak birlikte eksprese oldukları gösterilmiştir ³²⁻³⁴. COX-1 immünoaktivitesi türler arasında fazla farklılık göstermemekte ve daha çok toplayıcı kanallarda, renal vasküler yatakta, glomerüllerde ve papiller interstisyel hücrelerde yoğunlaşmaktadır. Bazal COX-2 immünoaktivitesi ise daha az yoğun olup türler arasında bazı farklılıklar göstermektedir. Sıçan ve köpeklerde COX-2'nin renal dağılımı maküla densa, Henle'nin çıkan kalın kolu ve papiller interstisyel hücreleri kapsamaktadır. Farelerde kortikal toplayıcı kanallarda da COX-2 immünoaktivitesi saptanmıştır. İnsanlarda ve diğer primatlarda COX-1 ve COX-2 glomerüllerde ve renal vasküler bölgede birlikte bulunurken maküla densada COX-2 saptanamamıştır ^{34,35}. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda COX-2'nin 60 yaşın üzerindeki insanların maküla densasında saptanabilir olduğu gösterilmiştir ³⁶.

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

Doku	Türler							
	sıçan		köpek		maymun		insan	
	COX-1	COX-2	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	
İnteristisyum	Y	Y		Y	Y		Y	Y
Y: Yapısal, U: Uyarılabilir								

İmmünreaktivite bilgilerine dayanılarak COX–1 inhibisyonunun farklı türler arasında renal fonksiyonlar açısından benzer sonuçlar verebileceği, COX–2 inhibisyonunun ise insanlarda daha alt türler ile kıyaslandığında farklı sonuçlar verebileceği düşünülebilir.

2.4. Böbrekte COX İnhibisyonunun Sonuçları

2.4.1. Sodyum Atılımı

Sodyum atılımı, natriürezis, renal interstisyel volüm artışı ile uyarılır ve PG bağımlıdır³⁷. Sodyum birikimi bazı hastalarda NSAİİ kullanımı sonrası ortaya çıkabilir. COX–1 hem laboratuvar hayvanlarında hem de insanlarda nefronun sodyum atılımının düzenlenmesinde aktif olan toplayıcı kanallarda yüksek miktarda eksprese olmaktadır³⁸. Ayrıca COX–2 sıçan nefronunda bu türlerde sodyum düzenlenmesinde rolü olduğunu düşündürecek şekilde Henle'nin çıkan kalın kolunda Na⁺-K⁺ ATPaz ile birlikte yer almaktadır³⁹. Selektif COX–2 inhibitörleri ile yapılan çalışmalar renal dokuda PGE₂ konsantrasyonunun bu ajanların kullanımı ile azaldığını ve antinatriüretik etkinin kısmen COX–2 bağımlı PG'ler aracılığı ile olduğunu düşündürmektedir.

Tuz ve volüm yükü ile COX–2 düzenlenmesini araştıran çok sayıda deneysel çalışma yapılmıştır. Yang ve arkadaşları⁴⁰ yedi gün boyunca düşük ve yüksek tuz içeren diyet uyguladıkları sıçanlarda böbrekte COX–2 ekspresyonunu incelediklerinde; COX–2 mRNA düzeyinin iç medullada yüksek tuzlu diyet uygulanan örneklerde 4.5 kat arttığını ancak düşük tuzlu diyet uygulananlarda COX–2 mRNA düzeyinin değişmediğini göstermişlerdir. Kortikal bölgedeki COX–2 mRNA düzeyi ise hem düşük hem de yüksek tuz rejimleriyle değişiklik göstermişlerdir. Yüksek tuz rejiminde 2,9 kat azalma olurken, düşük tuz rejiminde ise 3,3 kat artış gözlenmiştir. COX–1 mRNA düzeyi ise her iki diyet ile böbreğin farklı bölgelerinde değişiklik göstermemiştir. COX–2 ekspresyonunun temel olarak maküla densa, kortikal çıkan kalın kol ve medüller interstisyel hücrelerde olduğu saptanmıştır. Medüller interstisyumda artmış olan basınç ve volüm yüküne yanıt olarak artan COX–2 düzeyinin medüller interstisyumda sodyum atılımına katkıda bulunduğunu düşünmüşlerdir. Düşük tuz alımında kortekste gözlenen

COX-2 artışının ise volüm azalması durumlarında kortikal kan akımının korunmasına yönelik olduğunu belirtmişlerdir.

2.4.2. Bazal Renal Kan Akımı

Normal hayvanlarda COX izoformlarının renal kan akımı üzerine etkilerini inceleyen az sayıda çalışma vardır. Brooks ve arkadaşları ⁴¹ indometazin, 6-MNA (nabumeton'un aktif metaboliti) ve selekoksib'in intravenöz uygulama sonrası köpeklerde renal kan akımı üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda sadece selekoksibin renal kan akımını azalttığı saptanmış ve bu etki COX-2 selektif etkisine bağlanmıştır. Ancak selekoksibi intravenöz yoldan vermek için kullanılan organik solventin etkisinin ayrı bir grupla değerlendirilmeyişi ve pozitif kontrol olan indometazin ile etkinin ortaya çıkmayışi bu çalışma ile ortaya çıkan sonuçları sınırlamıştır. Nimesulid'in COX-2 selektif dozlarıyla köpeklerde yapılan çalışmada ise, COX-2 selektivite trombosit agregasyonuna etkisinin olmaması ile konfirme edilmiş, ilacın ortalama kan basıncı, glomerüler filtrasyon hızı ve renal kan akımı üzerine etkisi olmadığı bulunmuştur ⁴². Bu çalışmada sodyum ve idrar volümündeki azalma ilacın tübüler etkisi olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre COX-2 bazal kan akımının kontrolünde majör öneme sahip değildir.

Tablo 2: Siklooksijenaz Enzim Lokalizasyonları ve Muhtemel Fonksiyonları.

Lokalizasyon	COX-1	COX-2	Prostaglandin	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
Makula Densa	—	+ ₁	PGE ₂	Renin salınımının regülasyonu; tubüloglomerüler feedback düzenlenmesi
Toplayıcı kanallar	+	+ ₂	PGE ₂	Sodyum, klorid ve su ekskresyonunun artırılması
Papiller interstisyel hücreler	+	+	PGE ₂ , TXA ₂	Vazodilatasyon ve natriürezis
Renal vaskülatür	+	+	PGE ₂ , PGI ₂ , TXA ₂	Bölgesel kan akımının düzenlenmesi, anjiotensin II ile indüklenen vazokonstriksiyona antagonizma

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

2.5. Renin Anjiotensin Aldosteron Sistemi

Renin-anjiotensin-aldosteron sistemi (RAAS) vücutta birçok sistemi ilgilendiren kompleks bir endokrin sistemdir. Temel olarak su, elektrolit dengesi ile birlikte kan volümü ve kan basıncının regülasyonunda görev alır. Daha önce dolaşımdaki komponentleri nedeniyle sadece sistemik etkileri olduğu düşünülen RAAS'ın daha sonra otokrin ve parakrin etkilerinin olduğu anlaşılmıştır. Daha da önemlisi lokal etkili RAAS'ın bazı patolojik süreçlerde sistemik RAAS'dan etkili olduğu ve bu sistemin blokajı ile patolojik durumların gerilediği saptanmıştır.

RAAS fizyolojisinde rol oynayan moleküllerden ilki olan renin böbrek glomerüllerinin afferent arteriyollerindeki jukstaglomerüler apparatusun granüler hücrelerinde sentezlenir. Bu hücreler önce biyolojik olarak inaktif olan prorenini sentez eder. Prorenin daha sonra tripsin benzeri aktive edici enzim aracılığı ile N terminalinden 46 aminoasit kaybederek aktif renine dönüşür ve sekretuar granüllerde depolanır⁴³. Sekretuar granüllerde depolanan reninin sistemik dolaşıma salınımından üç farklı mekanizma sorumludur. Temel mekanizma volüm depleksyonu ve hipotansiyon sonucu oluşan renal hipoperfüzyonun afferent arteriyoldeki baroreseptörler tarafından hissedilip, jukstaglomerüler hücrelerden renin salınımına neden olmasıdır⁴⁴. Sistemik katekolamin deşarjı doğrudan jukstaglomerüler hücrelerdeki beta-1 reseptörlerinin uyarılmasına neden olarak renin salgılanmasına yol açmaktadır⁴⁵. Sistemik hipotansiyon veya volüm azlığı yukarıdaki iki mekanizma ile de renin salınımını artırabilmektedir. Bu mekanizmalara ek olarak, distal tübüldeki makula densaya ulaşan sodyum miktarının azalması da direkt olarak renin sekresyonunu uyartabilmektedir⁴⁶.

Dolaşıma salınan renin bir alfa globulin olan anjiyotensinojenden anjiyotensin I dönüşümünü sağlar. Bu reaksiyonun RAAS için hız kısıtlayıcı basamak olması reninin ve renin salgılatıcı faktörlerin önemini artırmaktadır. Renin böbrek dışında beyin, adrenal, testis, uterus, karaciğer ve vasküler endotelde de üretilmektedir. Hem lokal olarak üretilen hem de dolaşıma salınan renin ve prorenin kendi spesifik reseptörüne bağlanabilir⁴⁷. Bu reseptörün aktivasyonu ile otokrin ve parakrin etki ile anjiotensin I

(Ang I) lokal olarak da üretilebilir. Bu reseptöre proreninin bağlanmasıyla bir etki oluşmadığı gösterilse de proreninin gebelikte uterus fonksiyonları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir⁴⁸.

2.5.1. Anjiotensinler ve Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ADE)

Bütün anjiotensinlerin kaynağı olan peptid anjiyotensinojendir. Bu tetradekapeptidin sentez edildiği yer esas olarak karaciğerdir. Bununla beraber böbrek, vasküler endotel ve diğer organlarda da sentez edilebilmektedir⁴⁹. Anjiotensinojen renin etkisiyle bir decapeptid olan Ang I haline dönüşür. Ang I hem lokal olarak orta derecede vazokonstriktör özelliklere sahip olmasından hem de dolaşımda kalma süresi saniyelerle sınırlı olmasından dolayı tek başına dolaşım fonksiyonlarında anlamlı değişikliklere neden olmamaktadır. Yapımından birkaç saniye sonra ADE yardımı ile bir oktapeptid olan anjiotensin II (Ang II)'ye dönüşür. Ang II ise dolaşımda 1-2 dakika kaldıktan sonra anjiyotensinazlar ile inaktive edilir.

ADE yapısında iki çinko grubu bulunduran bir metalloproteinazdır⁵⁰. Bir diğer ismi de dipeptidil karboksipeptidazdır. Ayrıca kininlerin yıkımını da katalize ettiği için bu enzime kininaz II de denmektedir. ADE'nin %10'u dolaşımda serbest halde geri kalanı dokularda hücre membranına bağlı olarak bulunur⁵¹. RAAS'ın akut etkilerinin oluşumunda dolaşımdaki ADE önemli yer tutarken, kronik etkilerinin oluşumunda ise dokudaki ADE ön plana çıkar. ADE'nin büyük bir kısmı akciğer kapillerinde bulunduğundan dolaşımdaki Ang II'nin başlıca üretildiği yer akciğer dokusudur. Bunun yanında ADE vasküler endotel luminal membranlarında, santral sinir sisteminde, üreme organlarında, adrenallerde, böbreğin jukstaglomerüler apparatus ve efferent arteriyollerinde de bulunmaktadır⁵². ADE RAAS'ın ikinci basamağı olan Ang I'den Ang II'ye dönüşümünü sağlaması yanında, bradikininin inaktif peptidlere yıkımını sağlayarak bradikininin aracılı vazodilatasyonun engellenmesine sebep olur.

2.5.2. Ang II'nin Sistemik Etkileri ve Aldosteron

Anjiyotensinler arasında RAAS'ın en önemli hormonu Ang II'dir. RAAS'ın fizyolojik etkilerinin çoğundan Ang II sorumludur. Ang II'nin esas olarak iki majör

sistemik etkisi vardır: 1- Sodyum ve su retansiyonu 2- Sistemik vazokonstriksiyon. Bu etkiler sayesinde hipotansiyon veya volüm azlığı kompanse edilebilmekte veya düzeltilebilmektedir. Ang II proksimal tübül başlangıcındaki hücrelere etki ederek sodyum geri Emilimini artırır⁵³. Proksimal tübüldeki sodyum ve su Emiliminin %40-50'sinden Ang II'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir⁵⁴. Bunun yanında adrenal bezlerden aldosteron salgısını artırarak toplayıcı tübüllerden sodyum geri Emilimini indirekt olarak da artırabilir. Ang II vücuttaki tüm arteriyollerde vazokonstriksiyon yaparak sistemik kan basıncını artırır. Bu etki Ang II reseptörlerine direkt etkisi ile oluşabilmekle beraber, hücre içi kalsiyum girişini artırmasıyla, terminal nöronlardan norepinefrin ve endotelden endotelin salınımını uyarmasıyla da meydana gelebilir⁵⁵. Ang II'nin sistemik kan basıncını artırışı vazokonstriksiyon cevabı ile saniyeler içinde olurken, sodyum ve su geri Emilimini artırarak yaptığı etki ile günler içinde olur. Ang II'nin glomerül afferent ve efferent arteriyollerindeki vazokonstriktif etkisi farklı durumlarda değişik etkilerin ortaya çıkmasına neden olur. Renal arter stenozunda olduğu gibi renal perfüzyonun azaldığı durumlarda Ang II glomerüler hidrostatik basınç artışına yol açarak glomerüler filtrasyon hızını artırırken, hipertansiyon veya konjestif kalp yetmezliği durumlarında renal kan akımını azaltarak glomerüler filtrasyon hızını düşürür⁵⁶.

RAAS'ın diğer bir üyesi olan aldosteron, dolaşım yarı ömrü 30 dakika olan 21 karbonlu bir mineralokortikoiddir. Adrenal bezlerin zona glomerüloza kısmında üretilir ve dolaşımda büyük çoğunlukla albumine bağlı olarak taşınır⁵⁷. Aldosteron idrar ve vücut sıvılarında atılacak olan bazı elektrolitlerin dengesini sağlamakla birlikte esas etkisini böbreklerde gösterir. Diğer steroid hormonlar gibi etkisini sitozolik reseptörlere bağlanarak gösterir. Daha sonra bu reseptör-hormon kompleksi nukleusa geçip etkileri tam olarak bilinmeyen aldosteron ile indüklenen proteinleri üretirler⁵⁸.

Aldosteron distal tübülünün konnektör segmentinin ve kortikal toplayıcı kanalların principal hücrelerini etkileyerek sodyum ve klor absorpsiyonunu sağlarken potasyum sekresyonunu uyarır⁵⁹. Fakat medüller toplayıcı kanallarda sodyum reabsorpsiyonu yaparken potasyum sekresyonu yapmaz⁶⁰. Luminal membran sodyum kanallarından giren sodyum, sistemik dolaşıma $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPaz pompası ile katılır. Aldosteron korteksteki toplayıcı kanal interkalat hücrelerine ve medulladaki toplayıcı kanal tübüler hücrelere etki ederek hidrojen sekresyonunu uyarır. Ayrıca principal

hücrelerden absorbe edilen sodyumun oluşturduğu negatif lümen içinin sayesinde indirekt olarak kortekste hidrojen sekresyonunu uyarır ⁶¹. Tüm bunlara ek olarak aldosteron terde, tükürük ve kolon salgılarında sodyum konsantrasyonunu azaltırken potasyum konsantrasyonunu artırır.

Aldosteron sekresyonunun kontrolü esas olarak RAAS ve serum potasyum seviyeleri ile düzenlenmesine rağmen adrenokortikotrop hormon, atriyal natriüretik peptid ve serum sodyum seviyeleri de bu kontrolün bir parçasıdır. Hipovolemi veya hipotansiyon nedeniyle olarak salınan renin, Ang II ile proksimal tubül sodyum reabsorbsiyonunu artırırken Ang II'nin stimüle ettiği aldosteron toplayıcı kanallardan sodyum ve klor absorbsiyonu, potasyum ve hidrojen sekresyonu yapar ⁶². Aldosteron sekresyonu ayrıca plazma potasyum konsantrasyonu ile lineer ilişkili olup plazma potasyum konsantrasyonunun 3.5 mEq/L üzerine çıkmasıyla zona glomerülosa üzerine direkt etki ile aldosteron sekresyonu uyarılır.

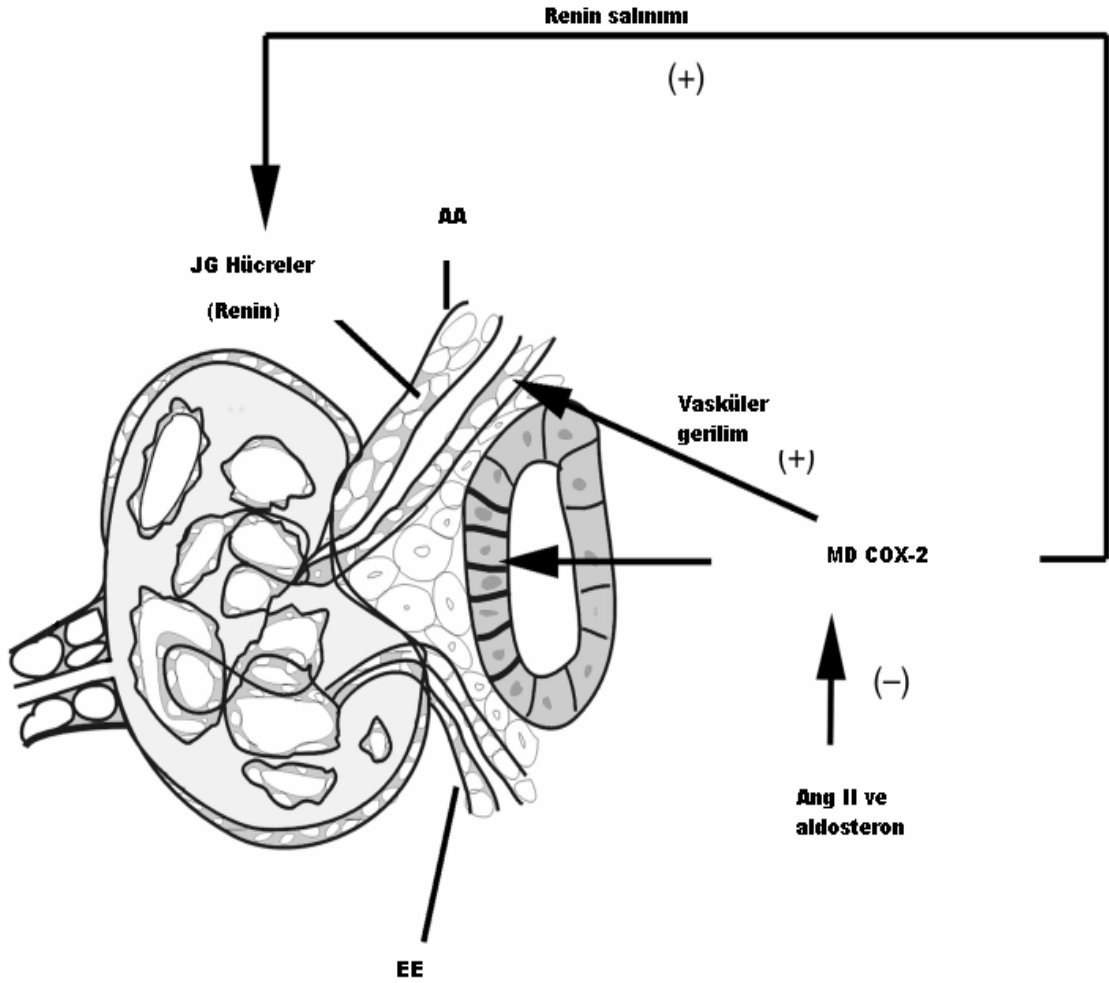
2.6. COX-2 ve Renin-Anjiyotensin Sistemi

Prostaglandinler volüm homeostazında iki mekanizma ile etkili olmaktadır. İlk olarak RAAS'ın bir parçası olarak PG'ler intravasküler volüm kaybına yanıt olarak böbreklerden renin salınımına katkıda bulunurlar. İkincisi ise PG'lerin hiperreninemik durumlarda renal perfüzyonun devamını sağlamak üzere Ang II'nin vazokonstrüktör etkisine karşı koymasındadır.

Volüm azalması olduğunda COX izoformlarının selektif inhibisyonun sonuçları pek çok çalışmada araştırılmıştır. Alt hayvan türlerinde volüm homeostazında COX-2 bağımlı PG'lerin etkili olduğu kanıtlanmıştır. Haris ve arkadaşları ⁶³ kronik olarak tuz kısıtlı diyet uyguladıkları sıçanlarda renin sekresyonunu uyarmışlar ve COX-2'nin yapısal olarak bulunduğu maküla densa ve Henle'nin çıkan kalın kolunda immünoreaktivitesinin arttığını ve mRNA düzeyinin tuz kısıtlanmayanlara oranla üç kat fazla olduğunu saptamışlardır. Diğer çalışmalarda da COX-2'nin maküla densada indüksiyonunun fonksiyonel olarak artan renin sekresyonu ile koordine edildiği gösterilmiştir ^{40, 64}. RAAS aynı zamanda maküla densada COX-2 ekspresyonu üzerinde negatif feed back etki göstermektedir. Volüm kontraksiyonu olan sıçanlarda Ang II

oluşumu ADE ile bloke edildiğinde ise COX-2 ekspresyonu üzerine olan negatif feed back ortadan kalkmakta bu da artmış renin sekresyonu ile sonuçlanmaktadır^{65, 66}.

Cheng⁶⁷ ve arkadaşları genetik olarak COX-2 delesyonu yapılan farelerde ADE inhibitörlerinin etkilerini incelemiş ve bu farelerin ADE inhibitörlerine yanıt olarak renin üretiminde artış göstermediklerini saptamışlardır.



Şekil 2: RAAS ve makula densadaki COX-2 arasındaki potansiyel etkileşimler

JG: Juksta glomerüler EE: Efferent arteriyol AA:Afferent arteriyol MD: Makula Densa

Anjiotensin ve aldosteron direkt veya indirekt olarak renin üretimi ve salınımını regüle ederek intravasküler volüm homeostazının devamını sağlarlar.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde (TIBDAM) yapıldı. Deney boyunca toplam 42 Wistar-Albino türü erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar uygun nem ve oda sıcaklığında 12 saat gündüz, 12 saat gece olacak şekilde tutuldu. Her kafese 4 denek yerleştirildi. Sıçanlara standart sıçan yemi ve şehir içme suyu ad libitum verildi. Çalışma öncesinde Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi bünyesinde bulunan hayvan etik kurulundan çalışma için resmi yazılı onay alındı.

3.1. Deney Protokolü

Çalışmaya toplam 42 sıçan alındı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı:

- 1. Grup (G1).....(n=10)** 20 mg/kg Serum fizyolojik (sf) intraperitoneal (ip)
2.5 mg/kg sf intramüsküler (im)
- 2.Grup (G2).....(n=10)** 20 mg/kg Furosemid ip, 2.5 mg/kg sf im
- 3.Grup (G3).....(n=12)** 20 mg/kg Furosemid ip, 2.5 mg/kg diklofenak im
- 4.Grup (G4).....(n=10)** 20 mg/kg sf ip, 2.5 mg/kg diklofenak im

Plasebo grubu olarak oluşturulan G1'e yedi gün intraperitoneal olarak serum fizyolojik 20 mg/kg verildi. Üçüncü günden itibaren beş gün boyunca 2.5 mg/kg sf intramüsküler enjeksiyon yapıldı. G2'ye yedi gün boyunca furosemid (Lasix ampul 20 mg/ 2 ml) ampul 20mg/kg dozda ip enjekte edildi, üçüncü günden itibaren beş gün boyunca 2.5 mg/kg dozda sf im yolla enjekte edildi. G3'e yedi gün 20mg/kg dozda furosemid ip verildi, üçüncü günden itibaren beş gün boyunca diklofenak sodyum (Voltaren-İM Ampul 75mg/3 ml) 2.5 mg/kg dozda im enjekte edildi. Son grup olan G4'e ise yedi gün boyunca 20mg/kg sf ip ve beş gün boyunca diklofenak sodyum im olarak uygulandı.

Deneysel çalışma her bir sıçan için yedi gün sürdü. Deneklere günlük olarak kilo takibi yapılarak kaydedildi. İlaç dozları ise bu kilo takiplerine göre günlük olarak hesaplanarak verildi. Deneyin sonunda sıçanlar 24 saat metabolik kafeslere (Nalgene) kondu. Aldığı sıvı ve çıkardığı idrar miktarı belirlendi. Toplanan idrarlar steril,

antikoagülan içermeyen tüplere konuldu. İdrar osmolarite, kreatinin ve elektrolit çalışılacak örnekler – 20°C de saklandı.

Final deneyi TIBDAM’da yapıldı. Sıçanların ağırlıkları ölçüldükten sonra 50 mg/kg dozda intraperitoneal yolla ketamin verilerek anestezi sağlandı. Sıçanlardan öncelikle 8-10 cc intrakardiyak olarak kan örneği alındı. Daha sonra sıçanların batını açılarak böbrekler çıkarıldı. Böbrek korteksi bistüri yardımı ile kesilerek formol içeren tüplere koyularak saklandı.

3.1.1. Biyokimyasal Metod

Kan örneklerinin, 3-4 cc’si EDTA’lı (etilendiamintetraasetik asit) tüplere koyularak +4°C’de 3000 rpm’de 5 dakika boyunca santrifüj edilerek ayrılan plazma renin ölçümü yapılmak üzere -20°C’de saklandı.

Diğer kan örnekleri ise oda ısısında santrifüj edilerek ayrılan serum örnekleri steril plastik tüplere koyularak saklandı. Serum kreatinin, elektrolitler, ALT (Alanin aminotransferaz), GGT (Gama glutamil transpeptidaz), idrar kreatinin, osmolarite, elektrolit ölçümleri Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarı Biyokimya ve İmmünoloji bölümünde yapıldı. Plazma Renin düzeyi ölçümü ise Çukurova Üniversitesi Nükleer Tıp Laboratuvarında radioimmunoassay yöntemi ile yapıldı.

Kreatinin klerensi standart kreatinin klerensi formülü ile hesaplandı ve değerler ml/dk/100 g olarak ifade edildi.

3.1.2. İmmünohistokimyasal Metod

Alınan böbrek dokuları standart takip işlemlerinden geçirildikten sonra immünohistokimyasal boyama için hazırlanan parafin doku bloklarından 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. COX-2’nin immünohistokimyasal yöntemle gösterilmesi için Santa-Cruz firmasında temin edilen Goat Primer Polyclonal IgG Antikorlar (kat no:SC-1746 Lot: F2205) kullanıldı.

1: Parafin bloklar 5 mikron kalınlığında kesildikten sonra 60 derece etüvde 30 dk bekletildi.

- 2: Daha sonra 60 derece etüv içindeki ksilolde 5 dk bekletildi.
 - 3: Ardından oda ısısında 3 ayrı ksilol şalelerinde 5'er dakika bekletildi.
 - 4: %95'lik etil alkol şalelerinde 3 defa 5 dakika bekletildi daha sonra distile suda yıkandı.
 - 5: %3'lük hidrojen peroksitte 5 dk inkübe edildi
 - 6: Distile suda bekletilerek pH 7.4 olan PBS (Fosfatlı tampon solüsyonu) salinde 3-5 dakika yıkandı
 - 7: pH 8 olan EDTA tampon solusyonda, beko 1550 model mikrodalga medium konumunda 10 dk inkübe edildi.
 - 8: Serum blokdan Donkey serumda 30 dakika, oda ısısında 20-30 dakika bekletildi.
 - 9: PBS'de 3-5 dk yıkandı. Primer antikor COX-2 1/50 dilüsyonda dilüe edildi.
 - 10: Oda ısısında inkübasyon süresi 120 dk idi. Bu süreden sonra yine pH'sı 7.4 olan PBS'de 3-5 dk yıkandı.
 - 11: Biyotinlenmiş Antikor 30 dk bekletildi. Tekrar PBS'de 3-5 dk yıkandı. HRP-streptavidinde 30 dk inkübe edildi ve PBS'de 3-5 dk yıkandı.
 - 12: AEC kromojen damlatıldı ve 5-20 dakika süren inkübasyon süresi boyunca mikroskop altında kontrol edildi.
 - 13: Boyama olduktan sonra çeşme suyuna alındı. Mayer-Hemotoksilen ile 5 dakika boyandıktan sonra tekrar çeşme suyuna alındı.
 - 14: Çeşme suyunda 5 dk bekletildikten sonra su bazlı kapatma maddesi ile (Dako) kapatılarak mikroskop altında incelendi.
- PBS ile her yıkama sonrası dokunun kurumasını engellemek amacıyla nemli ortamda dokunun etrafı kuru spançla silindi.
- Morfolojik değerlendirme örneklerin hangi gruptan alındığını bilmeyen bir patolog tarafından semi kantitatif skorlama yöntemi ile yapıldı. Her örnekte 250 adet glomerül sayılarak pozitif boyananların sayısı değerlendirilerek skorlama yapılmıştır.
- COX-1 immünoaktivitesini değerlendirmek için örnekler aynı işlemlerden geçirildikten sonra Santa Cruz firmasından temin edilen Goat Polyclonal IgG Antikorlar (kat no:SC-1754) kullanıldı. Örnekler toplayıcı kanallardaki boyanma yoğunluğuna göre grade 1, grade 2 ve grade 3 olarak gruplandırılmıştır.

3.2. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmede Windows için SPSS 13.0 istatistiksel analiz programı kullanıldı. Varyans analizi ile grup içi değişim incelendi. Gruplar arası değişim için ise Post Hoc testlerine başvuruldu. Burada da grup varyanslarındaki homojenliğe göre çoklu karşılaştırma testlerinden Bonferroni veya Sidak testlerinden biri kullanıldı. Ölçüm değerleri (ortalama $\pm$ standart sapma) olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık sınırı ($p < 0,05$) kabul edildi.

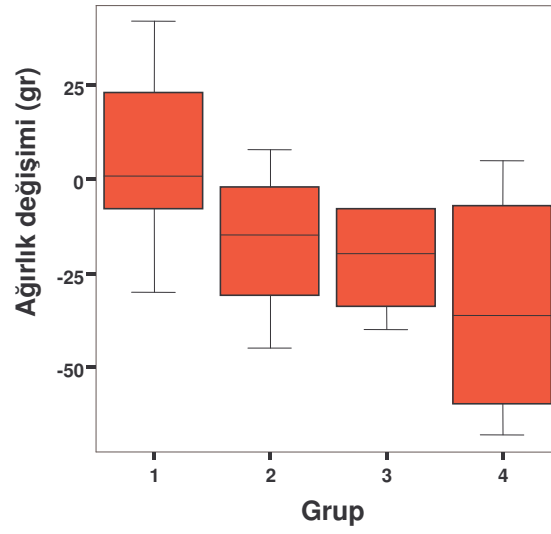
4. BULGULAR

Deneyin başlangıcında sıçanların ortalama vücut ağırlığı gruplara göre sırasıyla, G1’de $265 \pm 32,17$ g (R 200–300), G2’de $234,8 \pm 24,17$ g (R 201–267), G3’de $290 \pm 62,37$ g (R 207–418), G4’de $275,4 \pm 36,78$ g (R 212–333) olarak tartıldı. Deney sonundaki ortalama ağırlıkları ise G1’de $271 \pm 29,52$ g (R 205–310), G2’de $218,6 \pm 16,31$ g (R 190–245), G3’de $269,41 \pm 58,77$ g (R 185–385), G4’de $240,2 \pm 33,56$ g (R 205–315) idi. (Tablo 3).

Deney sonunda G1’de $6,1 \pm 23,3$ g ağırlık artışı olurken, G2’de $16,2 \pm 16,71$ g, G3’de $21,33 \pm 12,43$ g, G4’de $35,2 \pm 25,48$ g ağırlık kaybı oldu. Kilo değişimi bakımında G1-G3 ve G1-G4 arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) iken diğer gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. (Şekil 3)

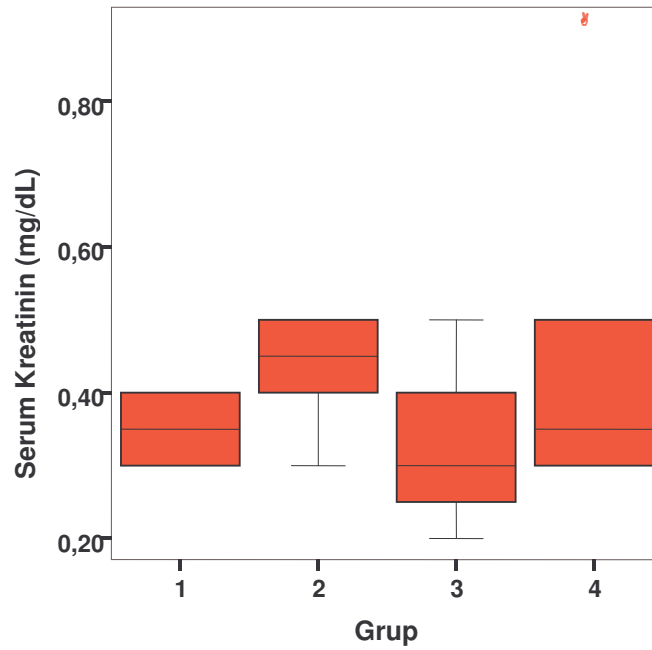
Tablo 3: Tüm gruplardaki ortalama vücut ağırlıkları

GRUP	İLK AĞIRLIK g.	SON AĞIRLIK g.	AĞIRLIK DEĞİŞİMİ g.
G1 (n=10)	$265 \pm 32,17$	$271 \pm 29,52$	$+6,1 \pm 23,3$
G2 (n=10)	$234,8 \pm 24,17$	$218,6 \pm 16,31$	$-16,2 \pm 16,71$
G3 (n=12)	$290 \pm 62,37$	$269,41 \pm 58,77$	$-21,33 \pm 12,43$
G4 (n=10)	$275,4 \pm 36,78$	$240,2 \pm 33,56$	$-35,2 \pm 25,48$



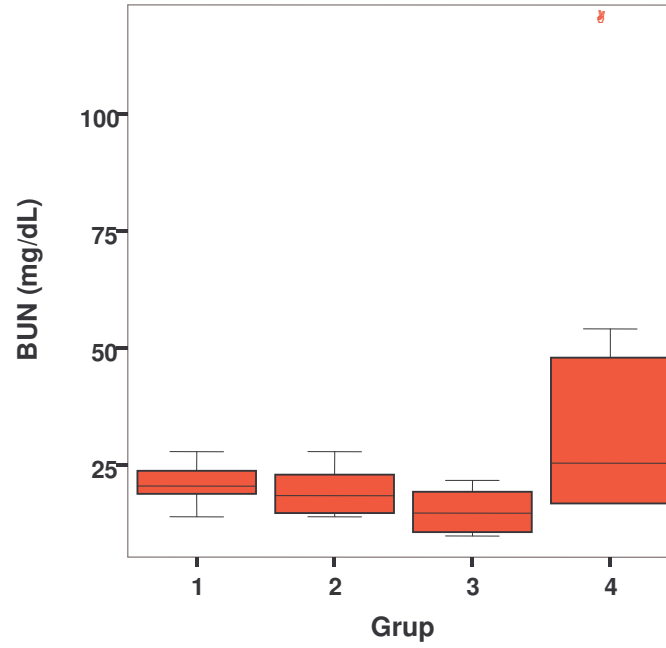
Şekil 3: Gruplardaki deney başlangıcı ile sonu arasındaki ağırlık değişimleri (G1-G3 ve G1-G4 için $p<0,05$).

Deney sonundaki serum kreatinin düzeyleri ise G1’de $0,35\pm0,05$ mg/dL (R 0,30–0,40), G2’de $0,43\pm0,08$ mg/dL (R 0,30–0,50), G3’de $0,32\pm0,09$ mg/dL (R 0,20–0,50) G4’de $0,42\pm0,18$ mg/dL (R 0,30–0,90) olarak bulundu. Gruplar arasında serum kreatinin değerleri açısından anlamlı fark bulunmadı. (Şekil 4)



Şekil 4: Tüm gruplardaki serum kreatinin ortalama değerleri ($p>0,05$).

Kan üre azotu (BUN) değerleri; G1'de $21 \pm 4,3$ mg/dL (R 14–28), G2'de $19,5 \pm 4,79$ mg/dL (R 14–28), G3'de $15,41 \pm 4,6$ mg/dL (R 10–22), G4'de $30,11 \pm 9,44$ mg/dL (R 17–119) olarak bulundu. Kan üre azotu değerleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (Şekil 5).



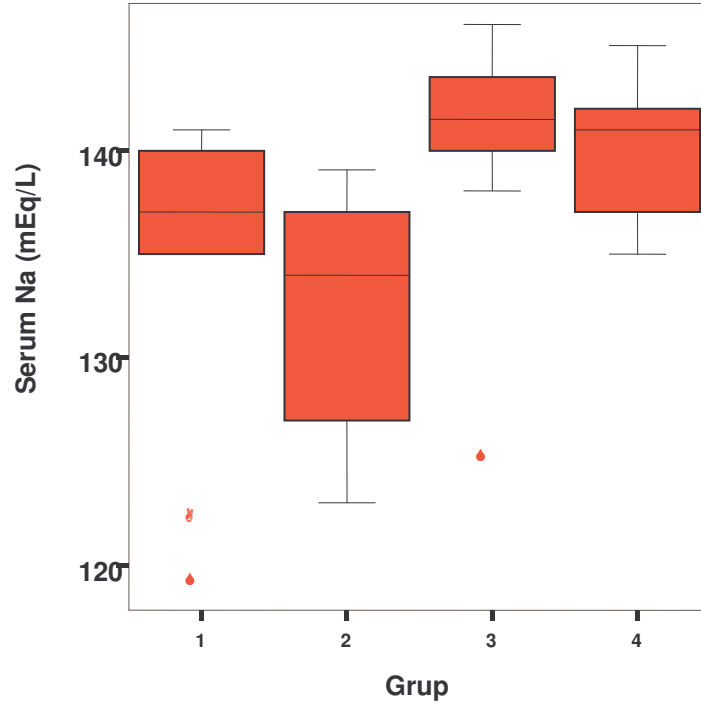
Şekil 5: Graplardaki ortalama BUN değerleri ($p > 0,05$).

Serum ALT değerleri ortalaması sırasıyla G1'de $31,9 \pm 11,59$ IU/L (R 17–49), G2'de $27,5 \pm 6,15$ IU/L (R 17–39), G3'de $24,25 \pm 8,77$ IU/L (R 17–43), G4'de $41,5 \pm 33,16$ IU/L (R 20–127) idi. Serum ALT düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($P > 0,05$).

Serum GGT değerleri sırasıyla G1'de $1,4 \pm 0,69$ IU/L (R 1–3), G2'de $1,6 \pm 0,51$ IU/L (R 1–2), G3'de $5,0 \pm 4,08$ IU/L (R 1–12), G4'de $5,5 \pm 4,19$ IU/L (R 1–19) idi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($P > 0,05$).

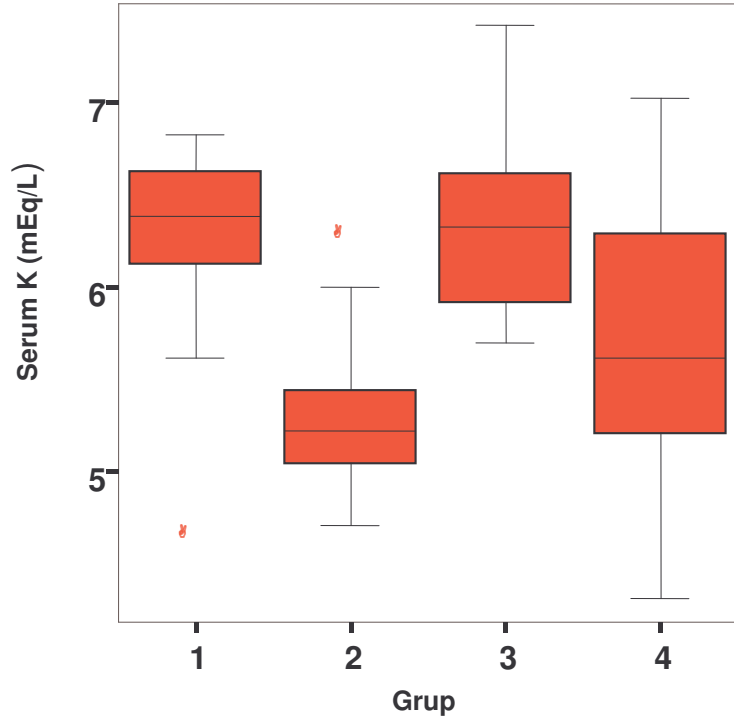
Serum sodyum (Na) değerleri sırasıyla G1'de $134,7 \pm 7,78$ mEq/L (R 119–141), G2'de $132,5 \pm 5,42$ mEq/L (R 123–139), G3'de $140,5 \pm 5,33$ mEq/L (R 125–146), G4'de $140,3 \pm 3,35$ mEq/L (R 135–145) olarak bulundu. Serum Na düzeyleri G3 ve G4'de

G2'den yüksek olup G2-G3 ve G2-G4 arasında serum sodyum düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,05$) (Şekil 6).



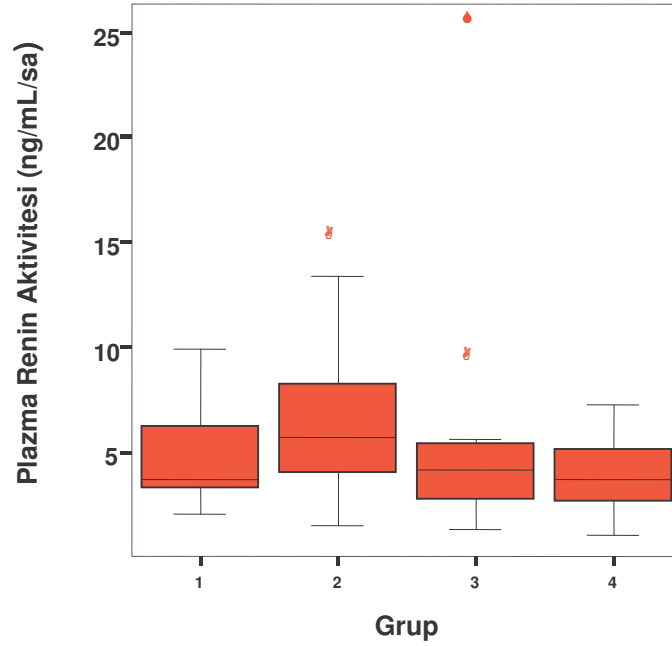
Şekil 6: Grupların ortalama serum sodyum değerlerinin karşılaştırılması. (G2-G3 ve G2-G4 için $p<0,05$)

Serum potasyum (K) düzeyi ortalamaları sırasıyla G1'de $6,21\pm0,65$ mEq/L (R 4,63-6,83), G2'de $5,34\pm0,46$ mEq/L (R 4,71-6,26), G3'de $6,38\pm0,55$ mEq/L (R 5,7-7,42), G4'de $5,67\pm0,76$ mEq/L (R 4,32-7,03) idi. G2'de serum K düzeyi G1'den ve G3'den düşük olarak saptandı. G2-G1 ve G2-G3 arasında serum K düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p<0,05$) (Şekil 7).



Şekil 7: Grupların ortalama serum potasyum değerlerinin karşılaştırılması (G2-G1 ve G2-G3 için $p<0,05$).

Plazma renin aktivitesi (PRA) ortalama değerleri gruplara göre dağılımı sırasıyla G1’de $4,63\pm2,55$ ng/mL/sa (R 2,1–9,9), G2’de $7,0\pm4,3$ ng/mL/sa (R 1,5–15), G3’de $6,0\pm6,46$ ng/mL/sa (R 1,4–25), G4’de $3,98\pm1,87$ ng/mL/sa (R 1,1–7,3) idi. G2’nin PRA ortalama değeri diğer gruplara göre daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasında PRA ortalama değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi (Şekil 8).



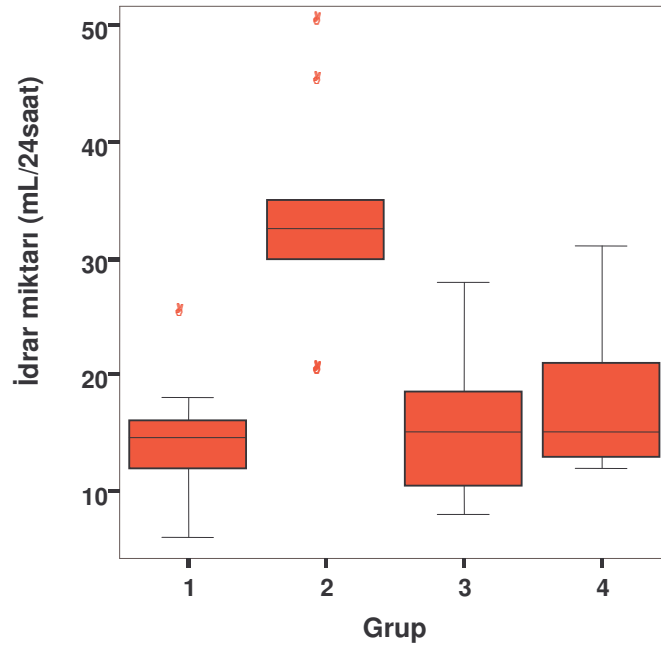
Şekil 8: Grupların ortalama Plazma renin aktivite değerlerinin karşılaştırılması ($p>0,05$)

Tablo 4: Gruplardaki BUN, Kreatinin, serum Na, K, ALT, GGT ve PRA ortalama değerleri;

Parametreler	Grup 1 (n=10)	Grup 2 (n=10)	Grup 3 (n=12)	Grup 4 (n=10)
BUN (mg/dL)	21±4,3	19,5±4,79	15,41±4,6	30,11±9,44
S. Kr. (mg/dL)	0,35±0,05	0,43±0,08	0,32±0,09	0,42±0,18
S. ALT (IU/L)	31,9±11,59	27,5±6,15	24,25±8,77	41,5±33,16
S. GGT (IU/L)	1,4±0,69	1,6±0,51	5,0±4,08	5,5±4,19
S. Na (mEq/L)	134,7±7,78	132,5±5,42	140,5±5,33	140,3±3,35
S. K (mEq/L)	6,21±0,65	5,34±0,46	6,38±0,55	5,67±0,76
PRA (ng/mL/sa)	4,63±2,55	7,0±4,3	6,0±6,46	3,98±1,87

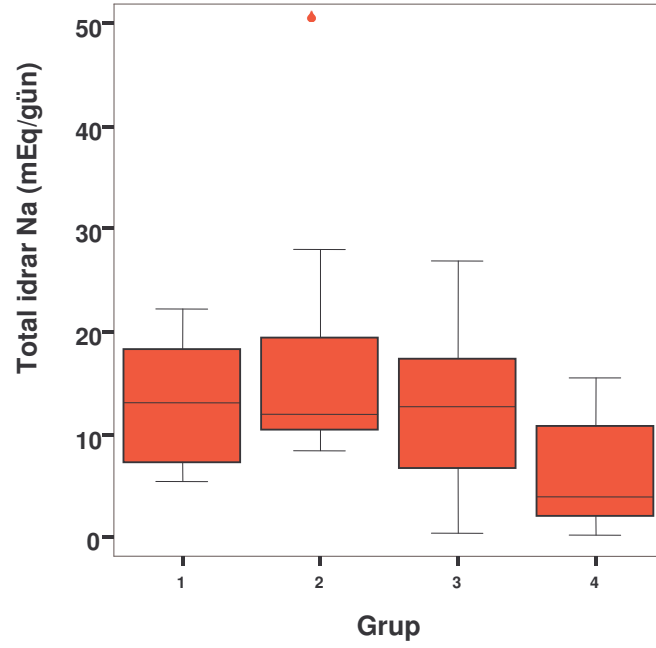
Sıçanların 24 saatte aldıkları sıvı miktarlarının ortalama değerleri ise sırasıyla G1’de 24,8±9,18 mL (R 10–40), G2’de 26,9±6,74 mL (R 18–35), G3’de 33,25±15,19 mL (R 10–55), G4’de 29,3±11,5 mL (R 10–45) idi. Alınan sıvı miktarı G3’de en fazla olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sıçanların 24 saatlik idrar miktarları G1’de $14,7 \pm 4,92$ mL (R 6-25), G2’de $33 \pm 9,41$ mL (R 20-50), G3’de $15,33 \pm 6,24$ mL (R 8-28), G4’de $17,7 \pm 6,42$ mL (R 12-31) idi (Tablo 5). G2’de 24 saatlik idrar miktarı diğer gruplardan daha fazla olup, G2-G1 ($p < 0,05$), G2-G3 ($p < 0,05$), G2-G4 ($p < 0,05$) arasında 24 saatlik idrar miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (Şekil 9).



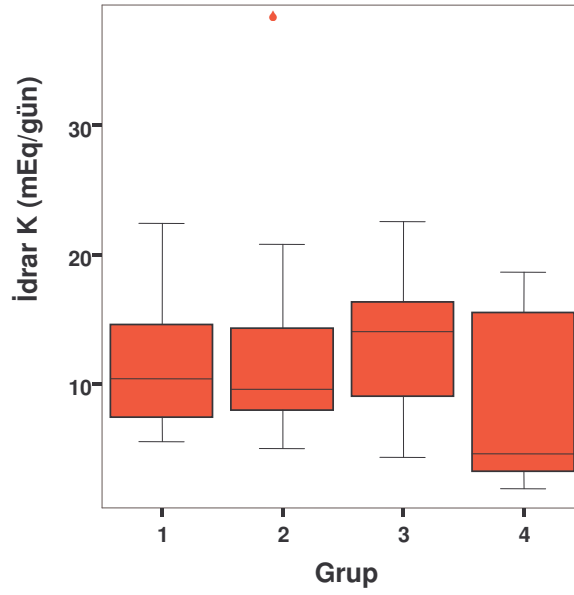
Şekil 9: Sıçanların 24 saatlik idrar miktarı ortalamalarının karşılaştırılması (G2-G1, G2-G3, G2-G4 $p < 0,05$ hepsi için)

Sıçanların 24 saat boyunca toplanan idrar örneklerinden bakılan idrar Na düzeyi 24 saatlik idrar miktarı ile çarpılarak elde edilen total idrar Na düzeyi ortalaması gruplara göre sırasıyla; G1’de $13,11 \pm 6,11$ mEq (R 5,4–22,2), G2’de $17,41 \pm 12,86$ mEq (R 8,4–50), G3’de $12,22 \pm 8,05$ mEq (R 0,45–26,88), G4’de $6,15 \pm 5,67$ mEq (R 0,26–15,5) idi (Tablo 5). 24 saatlik total idrar Na miktarı düzeyleri karşılaştırıldığında G2’de en yüksek düzeyde, G4’de ise en düşük düzeyde bulunmuştur. G2-G4 arasında total idrar Na düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu ($p < 0,05$) (Şekil 10).



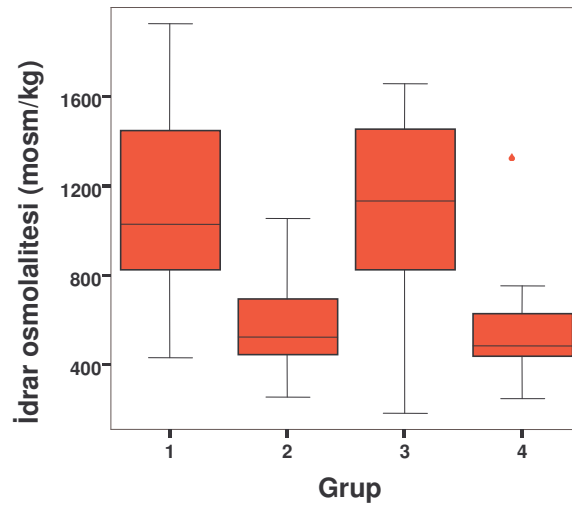
Şekil 10: Gruplarda 24 saatlik idrar Na düzeylerinin karşılaştırılması (G2-G4 için $p < 0,05$)

Sıçanların 24 saatlik idrar K ortalamaları ise sırasıyla G1’de $11,79 \pm 5,87$ mEq (R 5,58–22,35), G2’de $13,18 \pm 9,79$ mEq (R 5,0–37,89), G3’de $13,13 \pm 5,66$ mEq (R 4,3–22,55), G4’de $7,93 \pm 6,61$ mEq (R 1,92–18,67) olarak bulundu (Tablo 5). G4’de idrar K düzeyi en düşük düzeyde saptanmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi. ($p > 0,05$) (Şekil 11)



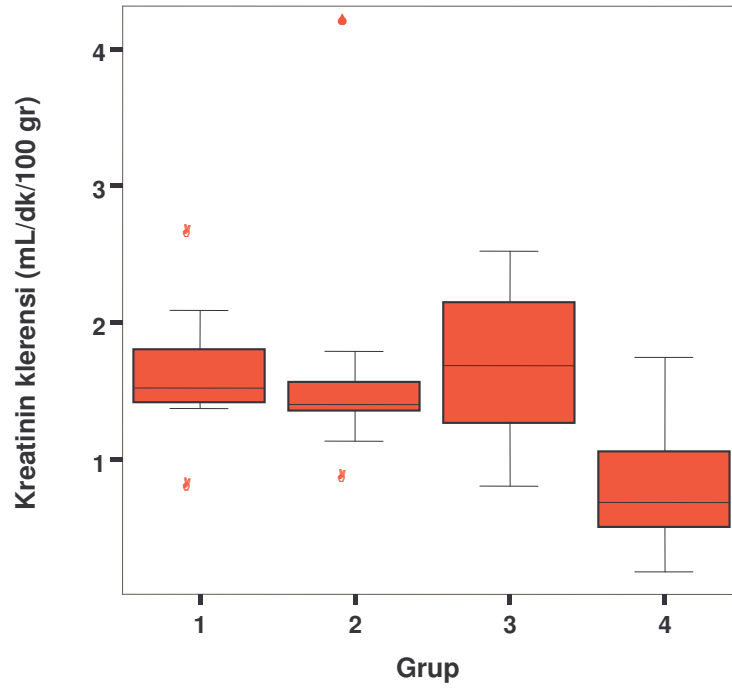
Şekil 11: Grupların idrar K düzeylerinin karşılaştırılması ($p>0,05$).

Sıçanların idrar osmolaliteleri karşılaştırıldığında ortalama idrar osmolaliteleri sırasıyla G1’de 1131 ± 448 mosm/kg (R 428–1928), G2’de 580.8 ± 223 mosm/kg (R 251–1055). G3’de $1095,66 \pm 434,46$ mosm/kg (R 180–1656), G4’de $576,2 \pm 292,43$ mosm/kg (R 250–1301) idi (Tablo 5). İdrar osmolalitesi G1’de G2 ve G4’den yüksek olup, G1-G2 ($p<0,05$) ve G1-G4 ($p<0,05$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu. G3’de ise idrar osmolalitesi G2 ve G4’den yüksek bulundu ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p<0,05$ her ikisi için) (Şekil 12).



Şekil 12: Grupların idrar osmolaliteleri (G1-G2, G1-G4, G2-G3, G3-G4 için $p<0,05$)

Kreatinin klerensi ortalamaları gruplara göre sırasıyla G1’de $1,63 \pm 0,48$ mL/dk/100g (R 0,77-2,61), G2’de $1,65 \pm 0,91$ mL/dk/100g (R 0,82-4,16), G3’de $1,66 \pm 0,56$ mL/dk/100g (R 0,8-2,52), G4’de $0,8 \pm 0,46$ mL/dk/100g (R 0,18-1,74) idi (Tablo 5). Kreatinin klerensi G4’de en düşük olup G4-G1 ($p < 0,05$), G4-G2 ($p < 0,05$), G4-G3 ($p < 0,05$) arasında kreatinin klerensi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (Şekil.13).

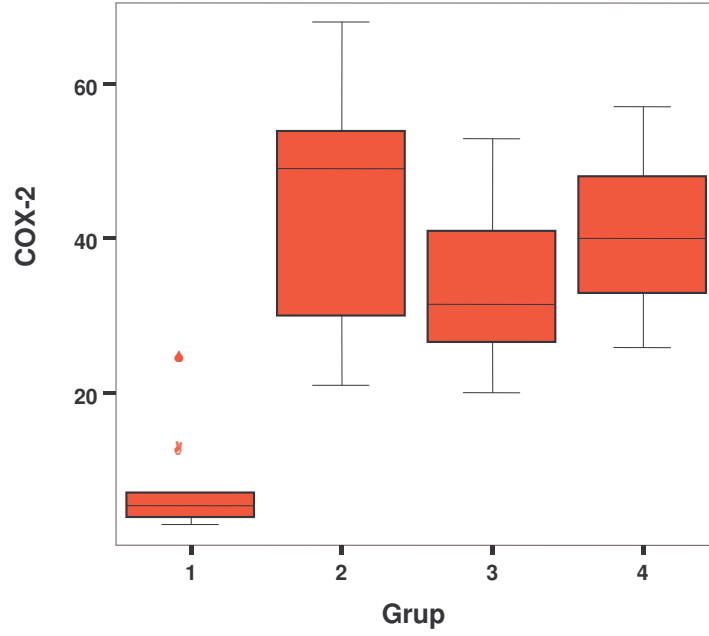


Şekil 13: Grupların ortalama kreatinin klerenslerinin karşılaştırılması (G4-G1, G4-G2, G4-G3 $p < 0,05$ hepsi için).

Tablo 5: Gruplardaki 24 saatlik idrar miktarı, idrar Na, K, osmolalite ve kreatinin klerensi ortalama değerleri

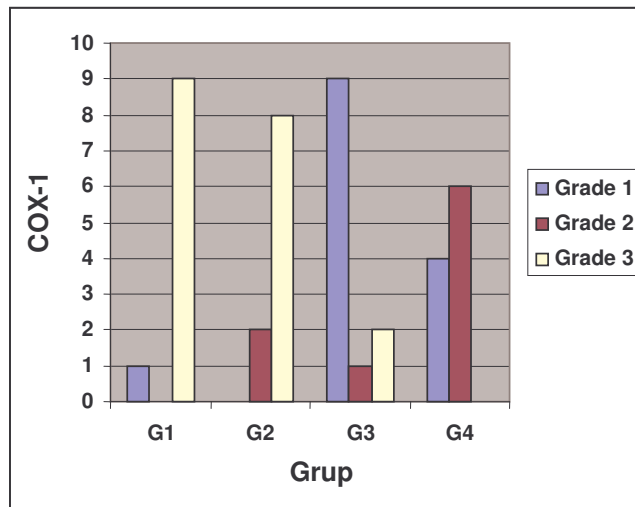
Parametreler	Grup 1 (n=10)	Grup 2 (n=10)	Grup 3 (n=12)	Grup 4 (n=10)
İdrar miktarı (mL/gün)	14,7±4,92	33±9,41	15,33±6,24	17,7±6,42
İdrar Na (mEq/gün)	13,11±6,11	17,41±12,86	12,22±8,05	6,15±5,67
İdrar K (mEq/gün)	11,79±5,87	13,18±9,79	13,13±5,66	7,93±6,61
İ. Osmolalitesi (mosm/kg)	1131±448	580.8±223	1095,66±434,46	576,2±292,43
Kr. Klerensi (mL/dk/100g)	1,63±0,48	1,65±0,91	1,66±0,56	0,8±0,46

Renal kortekste COX–2 immünoreaktivitesini değerlendirmek amacıyla her örnekte 250 adet glomerül sayılmıştır. Pozitif boyanma gösterenlerin sayısı göz önüne alınarak semî kantitatif skorlama yapılmıştır. Buna göre G1’de pozitif glomerül sayısı 7,5±6,34 (R 3–24), G2’de 44,6±15,72 (R 21-68), G3’de 31,6±8,4 (20-53), G4’de 41,3±9,4 (R 26-57) olarak saptandı. COX–2 immünoreaktivitesi açısından G1-G2 (p<0,05), G1-G3 (p<0,05), G1-G4 (p<0,05) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (Şekil 14).

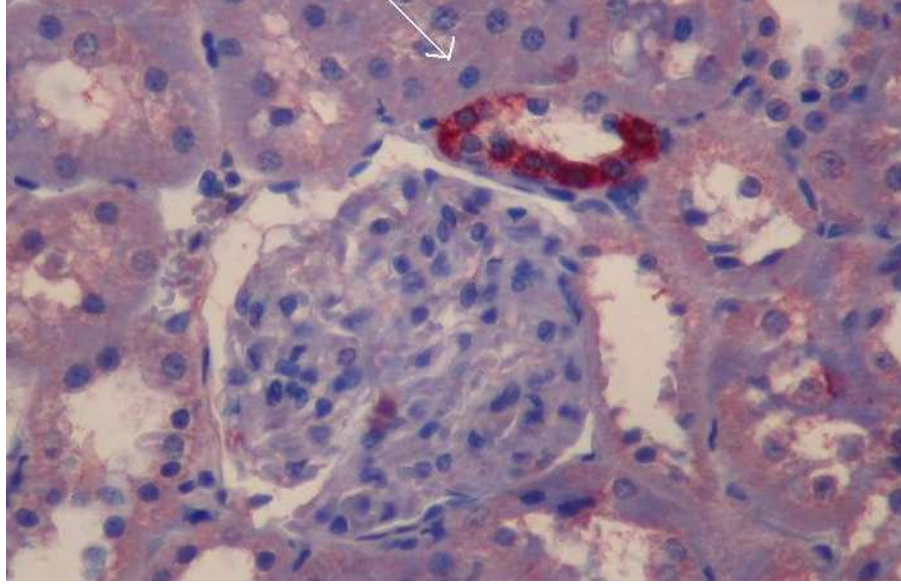


Şekil 14: COX-2 immünoaktivitesi ortalama değerlerinin karşılaştırılması (G1-G2, G1-G3, G1-G4 $p<0,05$ hepsi için)

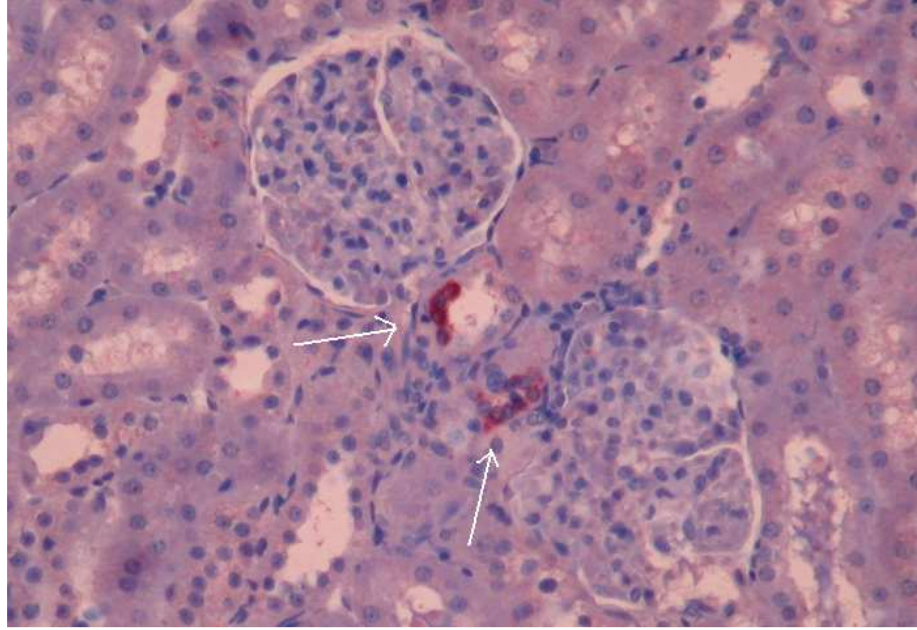
COX-1 immünoaktivitesi değerlendirildiğinde G1’de bir sıçanın grade 1, dokuz sıçanın grade 3, G2’de iki sıçanın grade 2, sekiz sıçanın grade 3, G3’te dokuz sıçanın grade 1, bir sıçanın grade 2, iki sıçanın grade 3, G4’te dört sıçanın grade 1, altı sıçanın grade 2 boyanma özelliği gösterdiği saptanmıştır. G3 ve G4’te COX-1 immünoaktivitesi G1 ve G2’ye göre anlamlı olarak azalmış olarak bulunmuştur($p<0,05$) (Şekil 15).



Şekil 15: COX-1 immünoaktivitesinin gruplara göre dağılımı

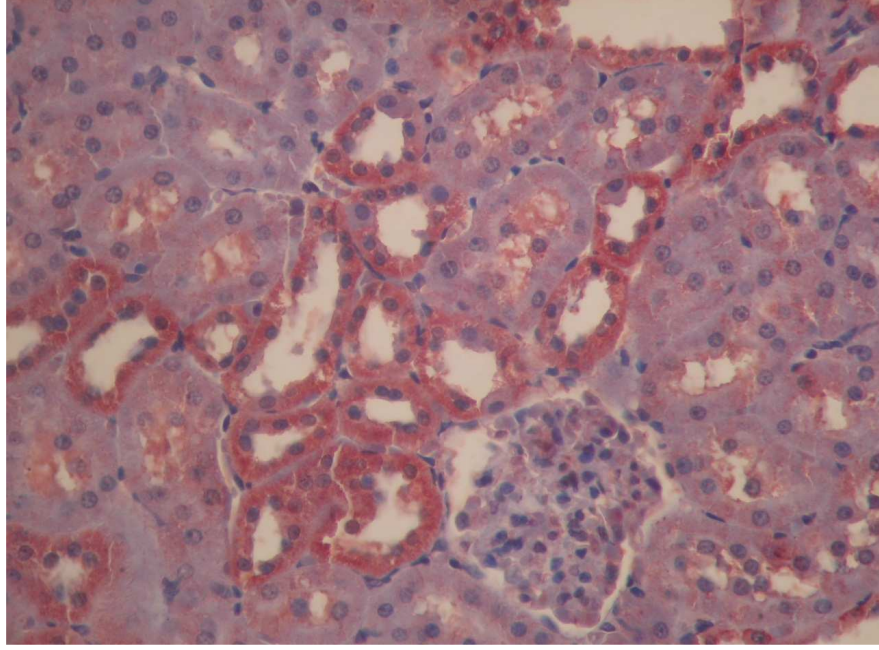


X 400

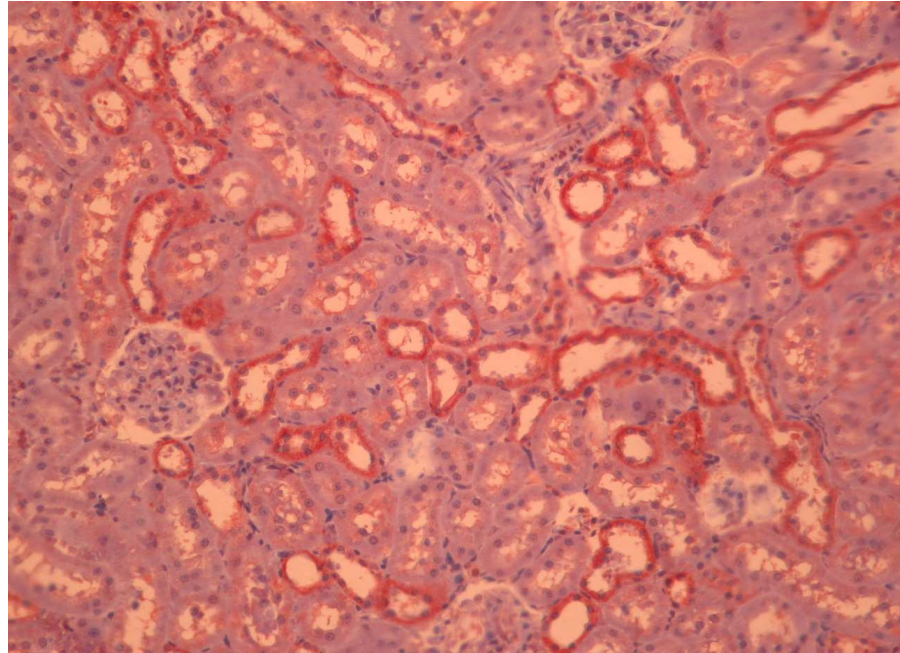


X 400

Şekil 16: COX-2 immunoreaktivitesinin maküla densada gösterilmesi



X 400



X 100

Şekil 17: COX-1 immunoreaktivitesinin toplayıcı kanallarda gösterilmesi

5. TARTIŞMA

Selektif olmayan nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçlar dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu grup ilaçların anti-inflamatuvar, analjezik, antipiretik ve anti-trombosit etkileri vardır. En sık yan etkiler gastrointestinal sistemi ilgilendirir ve temel olarak COX-1 inhibisyonu ile ilişkilidir.

NSAİİ ilişkili renal sendromlardan ise, NSAİİ ilişkili hipertansiyon, su ve tuz tutulumu, ödem, hiperkalemi önemli olup hipertansiyon, konjestif kalp yetersizliği, siroz ve GFR’de yaşa bağlı azalma olan yaşlılarda daha önemli risk oluşturmaktadır.

NSAİİ’ler prostanooid oluşumunda anahtar enzimler olan siklooksijenaz-1 ve -2’yi inhibe ederek etki gösterirler. Bu enzimler böbrekte kortikal ve medüller bölgede farklı düzeylerde bulundukları gibi aynı etkilere farklı yanıtlar verebilirler. Bu enzimlerin inhibisyonu sadece prostanooid 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 ve bir kıvrım diüretiği olan furosemidin erişkin Wistar-Albino türü sıçanlarda renal fonksiyonlara, PRA ve COX-1 ekspresyonuna etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Çalışmamızda kontrollerde ağırlık artışı olurken, diüretik ve/veya diklofenak sodyum verilen sıçanlarda ağırlık kaybı oldu. Diklofenak sodyum verilen gruplardaki ağırlık kaybı ilaca bağlı gelişen iştah kaybına bağlandı. Çalışmamıza benzer şekilde sıçan ve tavşanlarda diklofenak sodyumun 2.5, 5, 10 mg/kg/gün dozlarında verilen deneylerde gıda alımlarında belirgin azalma ve anlamlı kilo kayıpları gözlenmiştir⁶⁸. Diklofenak COX-1’i de etkili şekilde inhibe ettiğinden gastrointestinal mukozanın korunmasında rol alan prostaglandinleri de azaltmaktadır. Gastrointestinal toksisitenin de sıçanların kilo kaybına katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda gruplar arasında kan üre azotu ve serum kreatinin düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmamasına rağmen G4’te kan üre azotu diğer gruplardan daha yüksek bulunmuştur. Bu gruptaki sıçanların dördünde BUN değerleri 119, 54, 48, 46 mg/dL olup plasebo grubuna göre (G1’de BUN ortalama değeri 21 mg/dL) oldukça yüksek idi. Grupların kreatinin klerensleri de değerlendirildiğinde G4’te kreatinin klerensinin her üç gruba göre de anlamlı olarak düşük olduğu saptanmıştır. Kan üre

azotu değerleri yukarıda verilen sıçanların kreatinin klerensleri ise sırasıyla 0,18, 0,51, 0,64, 0,45 ml/dk/100g olup plasebo grubundaki sıçanların ortalama değerlerine göre (G1’de 1,65 ml/dk/100g) belirgin olarak düşük bulundu. Böbrek fonksiyonlarında azalma olurken idrar miktarında azalma olmaması nedeniyle G4’te non-oligürik akut böbrek yetmezliği geliştiği söylenebilir.

Selektif olmayan siklooksijenaz inhibitörleri hem sistemik hem de böbrekte vazodilatör etkili prostaglandin yapımını inhibe ederler. Ayrıca siklooksijenaz sisteminin substratı olan araşıdonik asitin lipoksijenaz yoluna yönelmesine neden olarak sistemik ve renal vazokonstktr etkileri olan lkotriyenlerin sentezinin artmasına neden olurlar ⁶⁹. Vazodilatör ve vazokonstktr moleküller arasındaki dengesizliğe lkotriyenlerin peritübüler kapiller permeabiliteyi artırarak yaptıkları tübüler hasarlanma eklenince NSAİİ ile akut böbrek yetersizliği gelişebilmektedir.

Planas ve arkadaşları ⁷⁰ sirozlu hastalarda furosemid ve asetilsalisilik asidin böbrekte hemodinamik etkilerini incelemişler ve furosemidin bu hasta grubunda non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların akut uygulamalarına bağlı böbrek yetersizliği gelişiminden koruduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda da furosemid ve diklofenak birlikte verildiğinde tek başına diklofenak alan gruba göre daha az renal yetersizlik geliştiği görüldü.

Böbrek medullası normal şartlar altında dahi sınırda kanlanmasına bağlı olarak hipoksi sınırında olup, PGE2’nin lokal üretimi medllaya yeterli kan akımının sağlanması için gereklidir ⁷¹. Deneysel çalışmalarda selektif olmayan siklooksijenaz inhibitörlerinin süperfisyal kortikal kan akımını bir miktar artırırken medüller kan akımını anlamlı düzeyde azalttıkları ve bunun akut ve kronik renal hasara neden olabileceği gösterilmiştir ⁷². Kıvrım diüretikleri ise gerek tübüllerdeki tıkayıcı debrisini temizleyerek gerekse de tübüler oksijen tüketimini azaltarak renal fonksiyon bozukluğu gelişmesini önlemeye yardımcı olur. Furosemid sıçanlarda bölgesel kan akımında belirgin azalma yapmasına rağmen dış medlladaki fizyolojik hipoksiyi azaltmaktadır. Örneğin sıçanlarda deneysel olarak radyokontrast ajan verilerek oluşturulan akut böbrek yetersizliği, medüller parsiyel oksijen basıncındaki azalma furosemidle normale döndürülerek önlenmektedir ⁷³. Furosemidin solüt reabsorbsiyonunu engelleyerek medüller oksijenasyonu düzeltmesi ve belirtilen tübüler etkileri nedeniyle G3 ile G4 arasındaki renal fonksiyonlardaki değişiklikler açıklanabilir.

Çalışmamızda yedinci gündeki 24 saatlik idrar miktarı G2’de diğer gruplara göre anlamlı olarak artmış olarak bulundu. G2’de idrar miktarı diğer gruplara oranla iki kat fazla idi. Yine 24 saatlik idrar Na^+ düzeyi değerlendirildiğinde en yüksek düzey G2’de olup G4 ile aralarında anlamlı fark mevcuttu. Kıvrım diüretikleri medüller ve kortikal çıkan kolda etki gösterirler. Bu bölgelerde Na^+ girişi temel olarak lüminal membranda yerleşik olan Na-K-2Cl taşıyıcısı ile düzenlenmekte olup kıvrım diüretikleri bu taşıyıcıdaki Cl bölgesi için yarışarak net reabsorbsiyonu engellemek suretiyle diüretik ve natriüretik etki gösterirler. Selektif olmayan nonsteroidal anti-inflamatuvarlar ise düşük dozlarda diüretik öncesi uygulandıklarında furosemidin natriüretik etkisini artırabilirken daha yüksek dozlarda ise diüretiklerin natriüretik etkilerini ve idrarla prostanooid atılımını azaltırlar ⁷⁴. Çalışmamızda G3’te hem idrar miktarı hem de idrarla sodyum atılımının G2’ye oranla azalmış olması (idrar miktarı için $p<0,05$) diklofenak sodyumun 2,5 mg/kg dozda furosemidin diüretik ve natriüretik etkilerini azalttığını göstermektedir. Diklofenak sodyumun bu etkiyi medüller çıkan kol ve toplayıcı kanallarda NaCl reabsorbsiyonunu direkt olarak inhibe eden PGE_2 ’yi azaltarak gerçekleştirdiği düşünülürse ilacın etkili dozda verildiği öngörülebilir. G3’de diüretiğin etkilerini azaltmakla birlikte diklofenak sodyumun tek başına verildiği G4’te G1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmasa da idrar sodyumunun düşük olduğu (13,11’e karşı 6,15 mEq/gün) görülmektedir.

Sıçanlara kronik furosemid infüzyonu yapıldığında idrar osmolalitesinin birinci günden itibaren azaldığı ve osmolalitedeki azalmanın yedinci günde de devam ettiği gösterilmiştir. İdrar ile K^+ atılımı ise bu deneylerin birinde %15 artarken diğerinde iki kat artmış olarak bulunmuştur ^{75, 76}. Çalışmamızda G2 ve G4’te idrar osmolaliteleri G1 ve G3’e göre anlamlı olarak düşük idi. G2’deki düşük osmolalite önceki deneylerle uyumlu olarak diüretik etkisine bağlandı. G4’deki hipo-osmolar idrar, sıçanlarda gelişen böbrek yetersizliğine bağlanabilir. 24 saatlik idrar K^+ düzeyi arada anlamlı fark olmasa da G2’de en yüksek iken G4’te ise en düşük düzeyde saptandı. Kıvrım diüretikleri çıkan kalın kolda Na^+ reabsorbsiyonunu azaltarak distal nefrona gelen Na^+ yoğunluğunu artırır, böylece H^+ ve K^+ ile Na^+ değişimi uyarılarak daha asidifiye ve K^+ konsantrasyonu yüksek idrar oluşumuna neden olur. Çalışmamızda benzer etki gözlenmiş olmakla beraber diğer deneylerdeki gibi sıçanlara standart yem dışında K^+ replasmanı yapılmamış olması beklenenden daha düşük düzeyler saptamamıza neden

olmuş olabilir. G4'teki idrarla K^+ atılımındaki azalma ise NSAİİ'nin plazma renin düzeyine inhibitör etki ile RAAS baskılanması sonucu aldosteron'un distal nefronda K^+ atılımını uyarıcı etkisinin kaybolmasına bağlandı. PGE2'nin etkisinin azalmasının indirekt göstergesi olan idrar sodyumundaki azalma gözönüne alındığında, COX-2 kaynaklı olan ve temel olarak Henle'nin çıkan kolunda bulunan PGE2'nin inhibisyonu da distalde intralüminal Na^+ konsantrasyonunu azaltmak suretiyle K^+ değişimini azaltarak G4'teki idrarla K^+ atılımındaki azalmayı açıklayabilir.

Çalışmamızda serum Na^+ düzeyi G2'de G3 ve G4'ten anlamlı olarak düşük bulundu. G1 ve G2 arasında serum sodyum düzeyleri arasında anlamlı fark olmamasının nedeni kıvrım diüretiklerinin iso-osmotik idrar oluşumuna neden olarak ADH aracılı hiponatremi oluşturmamalarıdır. Ancak G4'te hipotonik idrar çıkımına bağlı olarak hipernatremi gelişmiş olabilir. G3'te diklofenakın diüretik etkisini inhibe etmesi ve ADH etkisini uyarması nedeniyle normal ya da düşük Na^+ düzeyleri beklense de bu grupta saptanan yüksek Na^+ düzeyi ADH'nın prostaglandin dışındaki sistemlerden etkilenmesi nedeniyle olabilir. Çalışmamızda sadece G2'deki serum K^+ düzeyini anlamlı olarak düşük saptandı. G3'te yine diklofenak etkisi ile furosemid etkisiyle ortaya çıkan hipokaleminin nötralize edildiği görüldü.

Çalışmamızda plazma renin aktivitesi ortalama değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamakla beraber, PRA G2'de en yüksek G4'de en düşük ve G1'e en yakın değerde, G3'de ise G2 ile G4 arasında bir değerde saptandı. Mann ve ark⁷⁷. yaptıkları deneysel çalışmada sıçanlara tuz ve su kısıtlaması olmadan altı gün boyunca furosemid infüzyonu uygulamışlar ve PRA ve renokortikal mRNA düzeylerini incelemişlerdir. Bu çalışmada ekstrasellüler volüm değişikliği olmamasına rağmen furosemid ile PRA'da beş kat renin mRNA düzeyinde ise üç kat artış saptanmıştır. Bu sonuç furosemidin saptanabilir hipovolemi oluşturmada da PRA'yı artırabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda da furosemid enjeksiyonu ile PRA'da artış olmakla birlikte beş kat kadar bir artış olmamasını yukarıdaki deneysel çalışmada furosemidin ozmotik pompa ile 24 saatlik infüzyon şeklinde verilmesine bağlanmıştır. Nitekim bu çalışmada sıçanların günlük idrar çıkışı sekiz kat artmış iken çalışmamızda bu artış yaklaşık iki kat idi. Daha önce yapılan çalışmalarda NSAİİ'lerin bazal PRA düzeyini etkilemedikleri ve gerek selektif olmayan siklooksijenaz inhibitörlerinin gerekse de selektif COX-2 inhibitörlerinin furosemid ile indüklenen

renin artışını inhibe ettikleri gösterilmiştir ^{76, 78}. Çalışmamızda da benzer şekilde G4'te G1'e benzer PRA düzeyi mevcutken G2'deki PRA artışı G3'te diklofenak etkisiyle engellenmiştir.

Deneysel çalışmaların birçoğu prostaglandinlerin böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini ortaya koymakla beraber, farklı koşullarda her iki COX enziminin toplam prostaglandin havuzuna katkıları tam olarak ortaya konulamamıştır. Nasrallah ve arkadaşları ⁷⁹ streptozotosin ile diyabet oluşturdukları çalışmada iç ve dış medullada her iki COX izoformunda artış olduğunu göstermişler, Western blot yöntemiyle bu artışın yaklaşık dört kat olduğunu saptamışlardır. Deneysel kalp yetmezliği oluşturulan ve COX izoformlarının dağılımlarının incelendiği başka bir çalışmada ise COX-1 ve COX-2 mRNA'sının böbrek medullasında kortekse göre daha yoğun olarak bulunduğu ve ileri derecede kalp yetersizliği gelişen sıçanlarda medüller bölgede COX-2 nin arttığı ancak COX-1'in değişiklik göstermediği saptanmıştır ⁸⁰. Karbontetraklorür ile dekompanse siroz oluşturulan sıçanlarda, COX-2 protein ekspresyonu fokal olarak kortikomedüller bölgede artmış, COX-1 protein düzeyleri ise değişmemiş olarak bulunmasına rağmen selektif COX-1 inhibitörü olan SC-560 ve selektif COX-2 inhibitörü olan selekoksibin böbrek fonksiyonları üzerine olan etkileri incelendiğinde sirotik sıçanlarda renal fonksiyonların esas olarak COX-1 kaynaklı prostaglandinlere bağımlı olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızda COX-1 immünoaktivitesi kortikal bölgede toplayıcı kanallarda boyanma yoğunluğuna göre değerlendirildiğinde G2 ile plasebo grubu benzer olarak bulundu. Furosemid ile COX-1 düzeyinin değişmediği başka bir çalışmada da gösterilmiştir ⁷⁷. G3 ve G4'de ise COX-1 immünoaktivitesinin G1 ve G2'ye oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. Bu etki her iki grupta da olan diklofenak etkisine bağlanmıştır. Selektif olmayan COX inhibitörü olan indometazin ile sıçanlarda yapılan bir çalışmada da renal papillada COX-1 immünoaktivitesinde azalma gösterilmiştir ⁸¹. COX-2 immünoaktivitesi ise plasebo grubu olan G1'de en düşük düzeyde saptanmasına rağmen renal kortekste diğer dokulardan farklı olarak sadece inflamasyon durumunda değil COX-1 gibi yapısal olarak bulunduğu gösterilmiştir. G2, G3 ve G4'te ise G1'e göre anlamlı olarak artmış COX-2 immünoaktivitesi saptanmıştır ($p<0,05$). G2'de istatistiksel olarak anlamlı olmasa da plazma renin aktivitesindeki artış ile birlikte değerlendirildiğinde maküla densada COX-2 aktivasyonu jukstaglomerüler

aparattan renin salınımı ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. G3 ve G4'te diğer deneylerle benzer şekilde diklofenak tek başına ve diüretik ile birlikte COX-2 immünoreaktivitesini arttırmıştır⁷⁶.

Sonuç olarak diklofenak sodyum 2,5mg/kg/gün dozunda uygulanan sıçanlarda akut böbrek yetersizliği gelişti ve bu akut böbrek yetersizliği furosemidle engellendi. Yine furosemidin diüretik, natriüretik, kaliüretik etkisi ve PRA'de artış diklofenak sodyum ile nötralize edildi. Renal COX-1 immünoreaktivitesi furosemidle değişmediği halde diklofenak sodyum ile azalma göstermiştir. Renal COX-2 immünoreaktivitesi ise plaseboya göre furosemid ve diklofenak sodyum ile artış göstermiştir. Böbrek fonksiyon bozukluğu ile COX-1 ve COX-2 ekspresyonu arasında ilişki saptanmamıştır.

6. SONUÇLAR

1) Çalışmamızda gruplar arasında kan üre azotu ve serum kreatinin düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ancak grupların kreatinin klerensleri değerlendirildiğinde G4'te kreatinin klerensinin her üç gruba göre de anlamlı olarak düşük olduğu saptandı.

2) Furosemid ve diklofenak sodyum birlikte verildiğinde tek başına diklofenak alan gruba göre daha az renal yetersizlik geliştiği görüldü.

3) G3'te hem idrar miktarı hem de idrarla sodyum atılımının G2'ye oranla azalmış olması (idrar miktarı için $p<0,05$) diklofenak sodyumun 2,5 mg/kg dozda furosemidin diüretik ve natriüretik etkilerini azalttığını göstermektedir.

4) G2 ve G4'te idrar osmolaliteleri G1 ve G3'e göre anlamlı olarak düşük idi. G2'deki düşük osmolalite diüretik etkisine bağlandı. G4 ise renal yetersizlik gelişen sıçanların hipotonik idrar çıkarmalarına bağlı olarak bu grupta düşük osmolalite saptandı.

5) Plazma renin aktivitesi ortalama değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

6) Diklofenak sodyumun kortikal bölgedeki toplayıcı kanallarda COX-1 immünoreaktivitesini azalttığı saptandı.

7) Furosemid ile COX-1 immünoreaktivitesi plaseboya benzerdi.

8) COX-2 immünoreaktivitesi ise hem diüretik hem de diklofenak sodyum etkisiyle artmış olarak bulundu.

9) Renal fonksiyon bozukluğu ile COX-1 ve COX-2 immünoreaktiviteleri arasında bir ilişki saptanmadı.

7. KAYNAKLAR

- 1 **Whelton A, Hamilton CW.** Nonsteroidal antiinflammatory drugs: Effects on kidney function. *J Clin Pharmacol.* **1991**; 31: 588–598.
- 2 **Oates JA, FitzGerald GA, Branch RA, et al.** Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A₂ formation. *N Engl J Med.* **1988**; 319: 689–698.
- 3 **Clive DM, Stroff JS.** Renal syndromes associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *N Engl J Med* **1984**; 310: 563–572.
- 4 **Tan SY, Shapiro R, Franco R, et al.** Indomethacin-induced prostaglandin inhibition with hyperkalemia. *Ann Intern Med* **1979**; 90: 783–785.
- 5 **Akbarpour F, Afrasiabi A, Vazirin ND.** Severe hyperkalemia caused by indomethacin and potassium supplementation. *South Med J* **1985**; 78: 756–757.
- 6 **Mor R, Pitlik S, Rosenfeld JB.** Indomethacin and moduretic-induced hyperkalemia. *Isr J Med Sci* **1983**; 19: 535–537.
- 7 **Galler M, Folkert VW, Schlondorff D.** Reversible acute renal insufficiency and hyperkalemia following indomethacin therapy. *JAMA* **1981**; 246: 154–155.
- 8 **Nicholls MG, Espiner EA.** Indomethacin-induced azotemia and hyperkalemia: a case study. *N Z Med J* **1981**; 94: 377–379.
- 9 **Findling JW, Beckstrom D, Rawsthorne L.** Indomethacin-induced hyperkalemia in 3 patients with gouty arthritis. *JAMA* **1980**; 244: 1127–1128.
- 10 **Paladini G, Tonazzi C.** Indomethacin-induced hyperkalemia and renal failure in multiple myeloma. *Acta Haematol (Basel)* **1982**; 68: 256–260.
- 11 **Walshe JJ, Venuto RC.** Acute oliguric renal failure induced by indomethacin: possible mechanisms. *Ann Intern Med* **1979**; 91: 47–49.
- 12 **Arisz L, Donker AJM, Brentjens JR, et al.** The effect of indomethacin on proteinuria and kidney function in the nephrotic syndrome. *Acta Med Scand* **1976**; 199: 121–125.
- 13 **Kleinknecht C, Broyer M, Gubler MC, Palcoux JH.** Irreversible renal failure after indomethacin in steroid-resistant nephrosis. *N Engl J Med* **1980**; 302: 691.

- 14 **Blackshear H, Napier JS, Davidman M, et al.** Renal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Identification and monitoring of those at risk. *Semin Arthritis Rheum* **1985**; 14: 163–175.
- 15 **McCarthy JT, Torres VE, Romero JC et al.** Acute intrinsic renal failure induced by indomethacin: Role of prostaglandin synthesis inhibition. *Mayo Clin Proc* **1982**; 57: 289–296.
- 16 **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.
- 17 **Bunning RD, Barth WF.** Sulindac: A potentially renal sparing nonsteroidal anti-inflammatory drug. *JAMA* **1982**; 248: 2864–2867.
- 18 **Levin ML.** Patterns of tubulo-interstitial damage associated with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Semin Nephrol* **1988**; 8: 55–61.
- 19 **Bender WL, Whelton A, Beschoner WE et al.** 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.
- 20 **Stachura L, Jayakumar S, Bourke E. T and B lymphocyte subsets in fenoprofen nephropathy.** *Am J Med* **1983**; 75: 9–16.
- 21 **Radford MG, Holley KE, Grande JP, et al.** Reversible membranous nephropathy associated with the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *JAMA* **1996**; 276: 466–469.
- 22 **Shah GM, Muhalwas SS, Winer RL.** Renal papillary necrosis due to ibuprofen. *Arthritis Rheum* **1981**; 24: 1208–1210
- 23 **Gregg NJ, Elseviers MM, DeBroe ME, et al.** Epidemiology and mechanistic basis of analgesic-associated nephropathy. *Toxicol Lett* **1989**; 46: 141–151.
- 24 **Atta MG, Whelton A.** Acute renal papillary necrosis induced by ibuprofen. *Am J Therapeut* **1997**; 4: 55–60.
- 25 **Husserl FE, Lange RK, Kantrow JM.** Renal papillary necrosis and pyelonephritis accompanying fenoprofen therapy. *JAMA* **1979**; 242: 1896–1898.
- 26 **Bengtsson U, Johansen S, Angervall L.** Malignancies of the urinary tract and their relation to analgesic abuse. *Kidney Int* **1978**; 13: 107–111.
- 27 **McCredie M, Ford JM, Stuart TJ, Stewart JH.** Analgesics and cancer of the pelvis in New South Wales. *Cancer* **1982**; 49: 2617–2625.

- 28 **Vane JR:** Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* **1971**; 231: 232–234.
- 29 **Kujubu DA, Fletcher BS, Varnum BC, et al.** 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.
- 30 **Langenbach R.** Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration. *Cell* **1995**; 83: 483–492.
- 31 **Dinchuk J.E.** Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. *Nature* **1995**; 378: 406–409.
- 32 **Stanfield KS, Khan KN, Gralinski MR:** Localization of cyclooxygenase isozymes in cardiovascular tissues of dogs treated with naproxen. *Vet Immuno* **2001**; 80: 309–314
- 33 **Smith WL, Bell TG.** Immunohistochemical localization of the prostaglandin-forming cyclooxygenase in renal cortex. *Am J Physiol* **1978**; 235: 451–457.
- 34 **Khan KN, Venturini CM, Bunch RT, et al:** Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: Implications in nonsteroidal antiinflammatory drug-related nephrotoxicity. *Toxicol Pathol* **1998**; 26: 612–620.
- 35 **Komhoff M, Grone HJ, Klein T, et al.** Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: Implication for renal function. *Am J Physiol* **1997**; 272: 460–468.
- 36 **Nantel F, Meadows E, Denis D, et al.** Immunolocalization of cyclooxygenase-2 in the macula densa of human elderly. *FEBS Lett* **1999**; 457: 475–477.
- 37 **Haas JA, Knox FG.** Effect of meclofenamate or ketoconazole on the natriuretic response to increased pressure. *J Lab Clin Med* **1996**; 128: 202–207.
- 38 **Currie MG, Needleman P.** Renal arachidonic acid metabolism. *Annu Rev Physiol* **1984**; 46: 327–341.
- 39 **Vio CP, Cespedes C, Gallardo P, et al.** Renal identification of cyclooxygenase–2 in a subset of thick ascending limb cells. *Hypertens* **1997**; 30: 687–692.
- 40 **Yang T, Singh I, Pham H, et al.** Regulation of cyclooxygenase expression in the kidney by dietary salt intake. *Am J Physiol* **1998**; 274: 481–489.
- 41 **Brooks DP, DePalma PD, Pullen M, et al.** SB 234551, a novel endothelin—A receptor antagonist, unmasks endothelin-induced renal vasodilatation in the dog. *J Cardiovasc Pharmacol* **1998**; 31: 339–341.

- 42 **Rodriguez F, Llinas MT, Gonzalez JD, et al.** Renal changes induced by a cyclooxygenase-2 inhibitor during normal and low sodium intake. *Hypertens* **2000**; 36: 276–281.
- 43 **Skott O, Jensen BL.** Cellular intrarenal control of renin secretion. *Clin Sci* **1993**; 84(1): 1-10.
- 44 **Bock HA, Hermle M, Brunner FP, et al.** Pressure dependent modulation of renin release in isolated perfused glomeruli. *Kidney Int* **1992**; 41(2): 275-280.
- 45 **Kopp U, DiBona GF.** Interaction of renal beta 1-adrenoreceptors and prostaglandins in reflex renin release. *Am J Physiol* **1983**; 244(4): 418–424.
- 46 **Lorenz JN, Weihprecht H, Schnermann J.** Renin released from isolated glomerular apparatus depends on macula densa chloride transport. *Am J Physiol* **1991**; 260(4 pt 2): 486–493.
- 47 **Nguyen G, Burckle C, Sraer JD.** The renin receptor: The facts, the promise and the hope. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **2003**; 12(1): 51–55.
- 48 **Shaw HJ, Do YS, Kjos S.** Human decidua is a major source of renin. *J Clin Invest* **1989**; 83(6): 2085–2092.
- 49 **Naftilan AJ, Zuro WM, Ingelfinger J.** Localization and differential regulation of angiotensinogen mRNA expression in the vessel wall. *J Clin Invest* **1991**; 87(4): 1300–1311.
- 50 **Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C.** Two putative active centers in human angiotensin-1 converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci* **1988**; 85: 9386–9390.
- 51 **Dzau VJ.** Tissue renin angiotensin system in myocardial hypertrophy and failure. *Arch Intern Med* **1993**; 153: 937–942.
- 52 **Donoughue M, Hsieh F, Baronas E, et al.** A novel angiotensin converting enzyme related carboxypeptidase (ACE 2) converts angiotensin 1 to angiotensin 1-9. *Circ Res* **2000**; 87(5): 1-9.
- 53 **Quan A, Baum M.** Regulation of proximal tubul transport by angiotensin II. *Semin Nephrol* **1997**; 17(5): 423–430.
- 54 **Quan A, Baum M.** Effects of luminal angiotensin II receptor antagonists on proximal tubul transport. *Am J Hypertens* **1999**; 12(5): 499–505.
- 55 **Lionel H.** Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors: Scientific Basis for Clinical Use. 3rd ed. New York: APH, Wiley-Liss, **1994**: 8.
- 56 **Ischikawa I, Pfeffer JM, Pfeffer MA.** Role of angiotensin II in the altered renal function of congestive heath failure. *Circ Res* **1984**; 55(5): 669–675.

- 57 **White PC.** Disorders of aldosterone biosynthesis and action. *N Engl J Med* **1994**; 331(4): 250–258.
- 58 **Verrey F.** Early aldosterone action: Toward filling the gap between transcription and transport. *Am J Physiol* **1999**; 277(3 pt 2): 319–327.
- 59 **Rabinowitz L.** Aldosterone and potassium homeostasis. *Kidney Int* **1996**; 49(6): 1738–1742.
- 60 **Husted RF, Laplace JR, Stokes JB.** Enhancement of electrogenic sodium transport across rat innermedullar collecting duct by mineralocorticoid hormones. *J Clin Invest* **1990**; 86(2): 498–506.
- 61 **Battle DC.** Segmental characterization of defects in collecting tubul acidification. *Kidney Int* **1986**; 30(4): 546–554.
- 62 **Re RN.** The clinical implications of tissue renin angiotensin systems. *Curr Opin Cardiol* **2001**; 16(6): 317–327.
- 63 **Harris RC, McKanna JA, Akai Y, et al.** Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *J Clin Invest* **1994**; 94: 2504–2510.
- 64 **Wolf K, Castrop H, Hartner A, et al.** Inhibition of the renin-angiotensin system upregulates cyclooxygenase-2 expression in the macula densa. *Hypertens* **1999**; 34: 503–507.
- 65 **Cheng HF, Wang JL, Zhang MZ, et al.** Angiotensin II attenuates renal cortical cyclooxygenase-2 expression. *J Clin Invest* **1999**; 103: 953–961.
- 66 **Harris RC, Cheng H, Wang J, et al.** Interactions of the renin-angiotensin system and neuronal nitric oxide synthase in regulation of cyclooxygenase-2 in the macula densa. *Acta Physiol Scand* **2000**; 168: 47–51.
- 67 **Cheng HF, Wang JL, Zhang MZ, et al.** Genetic deletion of COX-2 prevents increased renin expression in response to ACE inhibition. *Am J Physiol* **2001**; 280: 449–456.
- 68 The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Committee for veterinary medicinal products, Diclofenac summary report. EMEA/MRL/885/03.
- 69 **Gulbins E, Parekh N, Rauterberg EW, et al.** Cysteinyl leukotriene actions on the microcirculation of the normal and split hydronephrotic rat kidney. *Eur J Clin Invest* **1991**; 21: 184–196.
- 70 **Planas R, Arroyo V, Rimola A, et al.** Acetylsalicylic acid suppresses the renal hemodynamic effect and reduces the diuretic action of furosemide in cirrhosis with ascites. *Gastroenterology* **1983**; 84: 247–252.
- 71 **Brezis, M, Rosen S.** Hypoxia of the renal medulla-its implications for disease. *N Engl J Med* **1995**; 332: 647–655.

- 72 **Agmon, Y, Brezis M.** Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs upon intrarenal blood flow: selective medullary hypoperfusion. *Exp Nephrol* **1993**; 1: 357–363.
- 73 **Heyman SN, Brezis M, Greenfield Z, et al.** Protective role of furosemide and saline in radiocontrast- induced renal failure in the rat. *Am J Kidney Dis* **1989**; 14: 377–385
- 74 **Katayama S, Attallah AA, Stahl RA, et al.** Mechanism of furosemide-induced natriuresis by direct stimulation of renal prostaglandin E2 *Am J Physiol* **1984**; 247(4): 555–561.
- 75 **Abdallah JG, Schrier RW, Edelstein C et al.** Loop diuretic infusion increases thiazide-sensitive Na⁺/Cl⁻ cotransporter abundance: Role of aldosterone. *J Am Soc Nephrol* **2001**; 12: 1335–1341.
- 76 **Kammerl MC, Nüsing RM, Richthammer W, et al.** Inhibition of Cox-2 counteracts the effects of diuretics in rats. *Kidney Int* **2001**; 60: 1684–1691.
- 77 **Mann B, Hartner A, Jensen BL, Kammerl M, Kramer BK, Kurtz A.** Furosemide stimulates macula densa cyclooxygenase-2 expression in rats. *Kidney international* **2001**; 50: 62–68
- 78 **Schricker K, Hamann M, Kurtz A.** Nitric oxide and prostaglandins are involved in the macula densa control of the renin system *Am J Physiol* **1995**; 269: 825–830.
- 79 **Nasrallah R, Landry A, Singh S, Sklepowics M, Hebert RL.** Increased expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the diabetic rat renal medulla. *Am J Physiol* **2003**; 285: 1068–1077.
- 80 **Abassi Z, Brodsky S, Gealekman O, Rubinstein I, Hoffman A, Winaver J.** Intrarenal expression and distribution of cyclooxygenase isoforms in rats with experimental heart failure. *Am J Physiol* **2001**; 280: 43–53.
- 81 **Khan KN, Alden CL, Gleissner SE, Gessford MK, Maziasz TJ.** Effect of papillotoxic agents on expression of cyclooxygenase isoforms in the rat kidney. *Toxicol Pathol* **1998**; 26(1): 137–142.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Ali Ayberk Beşen

Doğum Tarihi ve Yeri : 06/02/1976-İskenderun

Medeni Durumu : Evli

Adres : Beyaz Evler Mah. 10. sok Televi Sitesi 1/2 ADANA

Telefon : 0-322-225 79 01

E.mail : ayberkbesen2000@yahoo.com

Mezun Olduğu Tıp Fakültesi: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Yabancı Diller : İngilizce