T.C
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

DÜŞÜK DOZ KOLŞİSİN KULLANIMININ, NON-STEROİD ANTİ-ENFLAMATUVAR İLAÇ KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN AKUT BÖBREK HASARINA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DR. Tuba PERİ

İZMİR 2024

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

DÜŞÜK DOZ KOLŞİSİN KULLANIMININ, NON-STEROİD ANTİ-ENFLAMATUVAR İLAÇ KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN AKUT BÖBREK HASARINA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. Tuba PERİ
(0009-0001-9446-4599)

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. HÜSNÜ ALPER BAĞRIYANIK

İçindekiler Tablosu

TEŞEKKÜR SAYFASI i
TABLOLAR LİSTESİ ii
ŞEKİLLER LİSTESİ iii
KISALTMALAR LİSTESİ viii
ÖZET 1
ABSRACT 3
1. GİRİŞ VE AMAÇ 5
2. GENEL BİLGİLER 7
2.1. Böbrek Anatomisi 7
2.2. Böbrek Embriyolojisi 11
2.2.1. Pronefroz 11
2.2.2. Mezonefroz 11
2.2.3. Metanefroz 12
2.2.4. Toplayıcı sistem 12
2.2.5. Boşaltıcı sistem 13
2.2.6. Böbrek gelişiminin moleküler kontrolü 14
2.2.7. Böbreğin pozisyonu 15
2.3. Böbrek Histolojisi 16
2.3.1. Kapsül 16
2.3.2. Korteks ve medulla 17
2.3.3. Böbrek lobları ve lobülleri 18
2.3.4. Nefron 19
2.3.5. Renal korpüskül (Malpighi cisimciği) 20
2.3.6. Böbrek tübülleri 25
2.4. Böbrek Fizyolojisi 37
2.5. Akut Böbrek Hasarı 38
2.6. Non-steroid Anti-inflamatuvar İlaçlar (NSAİİ) 41
2.6.1. NSAİİ'a bağlı böbrek hasarı 42
2.6.2. Diklofenak sodyum 45
2.7. İnflamazomlar 48
2.7.1. Akut böbrek hasarında NLRP3 52
2.8. Kolşisin 53
3. GEREÇ VE YÖNTEM 58

3.1. Araştırmanın Tipi 58
3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı 59
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları 59
3.4. Kan Örneklerinin Alınması 60
3.5. Böbreklerin Çıkarılması 61
3.6. Çalışma Materyali 61
3.7. Araştırmanın Değişkenleri 61
3.8. Veri Toplama Araçları 61
3.8.1. Araştırmada kullanılan demirbaş malzemeler 61
3.8.2. Araştırmada kullanılan diklofenak sodyum ve kolşisinin hazırlanması 62
3.8.3. Araştırmada kullanılan yöntemler 62
3.9. Araştırma Planı ve Takvimi 66
3.10. Verilerin Değerlendirilmesi 67
4. BULGULAR 67
4.1. Vücut Ağırlıklarının Değerlendirmesi 67
4.2. Böbrek Ağırlıklarının Karşılaştırılması 68
4.3. Böbrek İndeksi Değerleri Karşılaştırılması 69
4.4. Biyokimyasal Bulgular 70
4.4.1. Kan üre değerlerinin değerlendirilmesi 70
4.4.2. Kan kreatinin değerlerinin değerlendirilmesi 72
4.4.3. Glo merüler filtrasyon hızlarının (GFR) karşılaştırılması 74
4.5. Histolojik Bulgular 75
4.5.1. Hematoksilen eozin (H&E) boyamaların değerlendirilmesi 75
4.5.2. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyamaların Değerlendirmesi 84
4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular 93
4.6.1. NLRP3 immünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi 93
4.6.2. Aktif kaspaz-1 immünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi 100
4.6.3. İnterlökin 1- β (İL 1- β) immünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi 106
5. TARTIŞMA 113
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 123
7. KAYNAKLAR 125
8. EKLER 135
EK-1. Etik Kurul İzin Formu 135

TEŞEKKÜR SAYFASI

Dokuz Eylül Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum tıpta uzmanlık eğitimim boyunca tecrübe ve bilgi birikimini benden esirgemeyen, bana kendimi geliştirme imkânı sağlayan, bana destek olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Hüsnü Alper BAĞRIYANIK'a,

Uzmanlık eğitimi aldığım süre boyunca mesleki ve kişisel gelişimime eşsiz katkılarda bulunan, beni yetiştiren değerli hocalarım Prof. Dr. Çetin PEKÇETİN, Prof. Dr. Ülker CANKURT, Prof. Dr. Başak BAYKARA, Prof. Dr. Serap ÇİLAKER MIÇILI, Doç. Dr. Seda ÖZBAL'a ve bölümümüzün emekli öğretim üyelerinden Prof. Dr. Güven ERBİL, Prof. Dr. Bekir Uğur ERGÜR, Prof. Dr. Kazım TUĞYAN, Prof. Dr. Işıl TEKMEN'e,

Tez çalışmalarıma katkı ve destek sağlayan, bana yol gösteren Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndan emekli Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Özlem GÜRSOY DORUK'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her zaman destek olan ve yardımlarını, güler yüzlerini ve dostluklarını esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Gözde ERKUL, Uzm. Dr. Fatma Sıla SOY HALAÇ, Dr. Gizem AKIN, Dr. Melek Yeşim AK, Dr. Elif SAĞLAM GÖKMEN, Dr. Göksu SARAK, Dr. Tuna KETENCİ, Dr. Hüseyin DENİZ, Dr. İrem ADANUR, Dr. Selin Nur ÇETİN, Dr. Gökçen BİLİCİ GÜLER, Araş. Gör. Şeyda DEMİR YÜKSEL'e,

Arkadaşlarım arasında tezimde çok emeği geçen, ayrıca bir teşekkürü hak eden canım dostum Selma AYDEMİR GÜNÇ'e,

Bugüne gelmemde en büyük hak sahipleri olan, beni büyüten, yetiştiren, hep destekleyen canım annem Mihricen ALBAŞ ve canım babam Apdullah ALBAŞ'a ve hep arkamda olan canım kardeşim Fatih ALBAŞ'a,

Her daim sabırla yanımda olan sevgili eşim Burak PERİ'ye ve benim hayattaki en büyük şansım, mutluluk kaynağım canım oğlum Uras PERİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Ağırlık değişimi (%) (Ortalama±Std. Hata) 68
Tablo 2: Gruplar arasında toplam böbrek ağırlıkları (sağ+sol) ve böbrek indeksleri karşılaştırması (ortalama ± Std. Hata) 69
Tablo 3: Kanda üre ölçümleri (ortalama ± Std. Hata) 71
Tablo 4: Kanda kreatinin ölçümleri (ortalama ± Std. Hata) 73
Tablo 5: eGFR değerleri (ortalama ± Std. Hata) 74
Tablo 6: Histolojik parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması; H&E boyama (Ortalama±Std. Hata) 84
Tablo 7: Fırçamsı kenar kaybının gruplar arasında karşılaştırılması; PAS boyama (Ortalama±Std. Hata) 93
Tablo 8: Histolojik parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması; NLRP3, Kaspaz 1, İL-1 β boyama (Ortalama±Std. Hata) 100

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Böbreğin anatomisi (26) 8
Şekil 2: Renal korteks, medulla ve pelvis (20) 9
Şekil 3: Böbreğin arterleri (28) 10
Şekil 4: Böbreğin embriyolojik gelişimi (32) 12
Şekil 5: Metanefroz ve toplayıcı sistemin embriyolojik gelişimi (32) 13
Şekil 6: Nefronun gelişimi (29) 14
Şekil 7: Metanefron ve Üreter'in erken gelişiminin moleküler temeli. 15
Şekil 8: Renal kapsülün dış (OLC) ve iç (İCL) tabakası (27) 17
Şekil 9: Renal korteks ve medulla(37) 18
Şekil 10: Podosit, pedisel ve filtrasyon yarıklarının görüldüğü Bowman kapsülünün visseral epiteli, taramalı elektron mikroskobi (SEM) görüntüsü (40) 22
Şekil 11: Bowman aralığı; mezengiyal hücre, podosit, pedisel (Pe), slit membran (SM), podositte mikrotübül (Mt) ve sitoplazmik filamet (Fi) ağı, bazal membran, kapiller endoteli ve fenestraları (siyah okla işaretli); transmisyon elektron mikroskobi (TEM) görüntüsü (32) 23
Şekil 12: Glomerül (37) 24
Şekil 13: Proksimal tübülün şematik çizimi (32) 27
Şekil 14: Henle kulpu şematik çizimi (32) 29
Şekil 15: Maküla densa, Pikrosirius-Hematoksilen (PSH) boyama (38) 31
Şekil 16: Distal tübülün şematik çizimi (32) 32
Şekil 17: Proksimal kıvrımlı tübül (PKT) ve distal kıvrımlı tübül (DKT), H&E boyama (38) 32
Şekil 18: Distal tübülün şematik çizimi (32) 33
Şekil 19: Toplayıcı tübüller (*), Henlenin ince kolu; H&E boyama (32) 34
Şekil 20: Diklofenak ilaç ürünlerinin kimyasal yapısı (53) 46
Şekil 21: NLRP3 inflamazomunun aktivasyonuna yol açan yollar(11) 51
Şekil 22: Sonbahar çiğdemi (Colchicum autumnale) (61) 53
Şekil 23: Kolşisinin yapısı (63) 54
Şekil 24: Çalışma modeli 59
Şekil 25: Deney grupları 60
Şekil 26: Deneklerin kilo değişim yüzdelerinin karşılaştırılması 68
Şekil 27: Gruplar arası böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması 69
Şekil 28: Gruplar arası böbrek indekslerinin karşılaştırılması 70
Şekil 29: 2.gün kanda üre değerlerinin karşılaştırılması 71
Şekil 30: 6.gün kanda üre değerlerinin karşılaştırılması 72
Şekil 31: Grupların 2.gün serum kreatinin değerlerinin karşılaştırılması 72
Şekil 32: Grupların 6.gün serum kreatinin değerlerinin karşılaştırılması 73
Şekil 33: Gruplar arasında 2.gün eGFR değerlerinin karşılaştırılması 74
Şekil 34: Gruplar arasında 6.gün eGFR değerlerinin karşılaştırılması 75
Şekil 35: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), glomerül (siyah yıldız), maküla densa (siyah ok); 20 µm. 76
Şekil 36: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimak düz tübül (PDT), Distal düz tübül (DDT), Henle ansı (HA); 20 µm. 76

Şekil 37: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), glomerül (siyah yıldız), maküla densa (siyah ok); 20 µm.....77
Şekil 38: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksima düz tübül (PDT), Distal düz tübül (DDT), Henle ansı (HA); 20 µm.....77
Şekil 39: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. A. Kanama alanı (siyah yıldızlar), tübüler dilatasyon (kırmızı oklar), hyalin kast (siyah ok başı), hyalin kast (siyah ok başı); 50 µm. B. tübüler hücrelerde vakuolizasyon (mavi oklar), kanama alanı (siyah yıldızlar); 20 µm.....78
Şekil 40: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Genişlemiş Henle ansı (siyah yıldız), Proksimal düz tübül lümeninde epitel döküntüleri (kırmızı oklar), tübül lümeninde epitel döküntüleri (siyah ok), kan ekstravazasyonu (mavi oklar); 20 µm. 79
Şekil 41: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Kanama alanları (siyah yıldız), tübül epitelinde incelme, tübülde tribuşon benzeri morfolojik değişiklik (siyah oklar), mononüklear hücre infiltrasyonları (mavi oklar); 50 µm. 79
Şekil 42: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), glomerül (siyah yıldız); 20 µm.....80
Şekil 43: Diklofenak sodyum+ koşisin grubuna ait böbrek kesiti. Proksimal düz tübül (PDT), Distal düz tübül (DDT); 20 µm. 80
Şekil 44: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Toplama tübülleri, H&E boyama; 20 µm.....81
Şekil 45: Gruplar arasında glomerüler atrofinin karşılaştırılması. 81
Şekil 46: Gruplar arasında fırça sınırında bozulmanın karşılaştırması. 82
Şekil 47: Gruplar arasında tübüler hücrelerde vakuol varlığının karşılaştırılması.....82
Şekil 48: Gruplar arasında tübüler epitel hücre hasarının karşılaştırılması. 83
Şekil 49: Gruplar arasında toplam tübüler hasar şiddetinin karşılaştırılması 83
Şekil 50: Gruplar arasında toplam böbrek hasarının karşılaştırılması. 84
Şekil 51: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Glomerül bazal membranı (kırmızı oklar), tübül bazal membranı (siyah oklar), fırçamsı kenar (sarı ok), glomerüler filtrasyon bariyerinin bazal membranı (kırmızı ok başı); 10 µm.....85
Şekil 52: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah ok); 20 µm. 85
Şekil 53: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah ok); 10 µm. 86
Şekil 54: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah oklar), fırçamsı kenar (sarı oklar), glomerüler filtrasyon bariyerinin bazal membranı (kırmızı ok başı); 10 µm. 86
Şekil 55: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah ok); 20 µm. 87
Şekil 56: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Fırçamsı kenar (sarı oklar); 10 µm. 87
Şekil 57: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. A. Fırçamsı kenarda bozulma, mikrovilluslarda dökülme (sarı ok), tübül lümeninde kapanma (mavi ok); 20 µm. B. Tübül bazal membranı (siyah ok), Bowman kapsülü bazal membranı (kırmızı ok); 10 µm. 88

Şekil 58: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Fırçamsı kenarda bozulma, kayıp (sarı oklar), tübül bazal membranında kalınlaşma (siyah oklar), tübüler hücrelerde vakuolizasyon (mavi oklar); 10 µm. 88
Şekil 59: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Fırçamsı kenarda bozulma, kayıp (sarı oklar), korunmuş fırçamsı kenar alanları (siyah oklar); 10 µm. 89
Şekil 60: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Tübül bazal membranında kayıp (siyah ok), tübül bazal mebranda ondüle görünüm (mavi ok), fırçamsı kenarda bozulma, kayıp (sarı ok), lümeni dolduran tübül epitel hücre döküntüleri (siyah yıldız), tübül epitel hücrelerinin sitoplazmalarında yer alan PAS (+) inklüzyonlar (kırmızı ok başları); 10 µm. 89
Şekil 61: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Toplayıcı tübül bazal membranında kalınlaşma (kırmızı ok); 10 µm. 90
Şekil 62: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Tübül lümeninin kapanarak karşılıklı 2 epitelin birleşmesi (mavi ok); 10 µm. 90
Şekil 63: Diklofenak sodyum+kolşisin grubu böbrek kesiti, PAS boyama. Fırçamsı kenar kaybı (sarı ok); 10 µm. 91
Şekil 64: Diklofenak sodyum+kolşisin grubu böbrek kesiti, PAS boyama; 20 µm. 91
Şekil 65: Diklofenak sodyum+kolşisin grubu böbrek kesiti, PAS boyama; 10 µm. 92
Şekil 66: Fırçamsı kenar kaybı 92
Şekil 67: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. A. 50 µm, B. 10 µm. 93
Şekil 68: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Zayıf immünoreaktivite (1(+)) gösteren tübül epitel hücreleri (siyah oklar); 50 µm. 94
Şekil 69: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. A. 50 µm. B. Zayıf immünoreaktivite (1(+)) gösteren bir tübül (siyah ok), maküla densa (kırmızı ok); 20 µm. 94
Şekil 70: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Zayıf immünoreaktivite (1(+)) gösteren bir tübüller (siyah oklar); 50 µm. 95
Şekil 71: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), Bowmnan kapsülünde pozitif boyanma (kırmızı oklar), pozitif boyanmış nükleuslar (mavi oklar); 50 µm. 95
Şekil 72: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. A. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), Distal tübülde dilatasyon (siyah yıldız); 50 µm. B. pozitif boyanmış maküla densa (kırmızı ok), pozitif boyanmış glomerüler hücre nükleusları (mavi ok); 20 µm. 96
Şekil 73: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), pozitif boyanmış maküla densa (kırmızı ok); 20 µm. 96
Şekil 74: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış hücreler (siyah ok), tübüler dilatasyon (siyah yıldız), pozitif boyanan henle ansı (sarı ok), ödemli görünümde tübül epitel hücreleri (mavi oklar); 50 µm. 97
Şekil 75: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), tübüler dilatasyon (siyah yıldızlar); 50 µm. 97
Şekil 76: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), tübüler dilatasyon (siyah yıldızlar); 50 µm. 98
Şekil 77: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Pozitif immünreaktivite gösteren tübüller (siyah oklar) A. 50 µm, B. 20 µm. 98

Şekil 78: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Pozitif boyanmış distal tübül (siyah ok) ve maküla densa (kırmızı ok); 20 µm. 99
Şekil 79: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Pozitif boyanmış tübüller (siyah ok); 20 µm. 99
Şekil 80: Gruplar arasında NLRP3 immünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması. 100
Şekil 81: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. A. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm. B. Maküla densa (kırmızı ok); 20 µm. 101
Şekil 82: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Pozitif boyanmış nükleuslar; 50 µm. 101
Şekil 83: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller A. 50 µm. B. 20 µm. 102
Şekil 84: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Pozitif boyanmış nükleuslar (siyah oklar); 50 µm. 102
Şekil 85: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. A. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış glomerüler hücrelere ait nükleuslar, tübüler epitel hücrelerde vakuol (sarı oklar); 50 µm. B. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış glomerüler hücrelere ait nükleuslar; 20 µm. 103
Şekil 86: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm. 103
Şekil 87: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama; 100 µm. .. 104
Şekil 88: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış henle ansı (mavi oklar); 20 µm. 104
Şekil 89: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller. A. 50 µm. B. 20 µm. 105
Şekil 90: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller; 50 µm. 105
Şekil 91: Gruplar arasında Kaspaz 1 immünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması. 106
Şekil 92: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar). A. 50 µm. B. 20 µm. 106
Şekil 93: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama; 50 µm. 107
Şekil 94: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar) A. 50 µm. B. 20 µm. 107
Şekil 95: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Pozitif boyanmış tübül epitel hücresi (siyah ok); 50 µm. 108
Şekil 96: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller. A. 50 µm. B. 20 µm. 108
Şekil 97: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 20 µm. 109
Şekil 98: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama; 50 µm. 109
Şekil 99: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış henle ansı (sarı oklar); 20 µm. 110
Şekil 100: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm. 110

Şekil 101: Diklofenak sodyum+Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm. 111
Şekil 102: Diklofenak sodyum+Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. A. 50 µm. B. Pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 20 µm. 111
Şekil 103: Diklofenak sodyum+Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Pozitif boyanmış tübül epitel hücreleri (siyah oklar); 50 µm. 112
Şekil 104: Gruplar arasında İL 1- β immünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması 112

KISALTMALAR LİSTESİ

ABH: Akut böbrek hasarı

ABY: Akut böbrek yetmezliği

ADH: Antidiüretik hormon

AQP1: Aquaporin 1

ATN: Akut tübüler nekroz

CK: Kreatin kinaz

COX: Siklooksijenaz

DER: Düz endoplazmik retikulum

DKT: Distal kıvrımlı tübül

DNA: Deoksiribonükleik asit

DT: Distal tübül

FGF-2: Fibroblast büyüme faktörü-2

GDNF: Glial kökenli nörotrofik faktör

GER: Granüllü endoplazmik retikulum

GFR: Glomerüler filtrasyon hızında

GN: Glomerülonefrit

H&E: Hematoksilen eozin

HGF: Hepatosit büyüme faktörü

HK: Hiyalin kast

HÜS: Hemolitik üremik sendrom

IVC: inferior vena cava

İL: İnterlökin

İm: İntramüsküler

İp: İntra-peritoneal

JG: Jukstaglomerüler

KBY: Kronik böbrek yetmezliği

LİF: Lösemi inhibitör faktör

NLR: Nükleotit bağlama ve oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler

NSAİİ: Non-steroid anti-inflamatuvar ilaç

PAS: Periyodik asit schiff

PG: Prostaglandin

PKT: Proksimal kıvrımlı tübül

Po: Per-oral

PT: Proksimal tübül

RAAS: Renin anjiyotensin aldosteron sistemi

TD: Tübüler dilatasyon

TTP: Trombositik trombositopenik purpura

TV: Tübüler vakuolizasyon

TX: Tromboksan

WBC: Beyaz kan hücresi

WT 1: Wilms tümörü 1

DÜŞÜK DOZ KOLŞİSİN KULLANIMININ, NON-STEROİD ANTİ-İNFLAMATUVAR İLAÇ KULLANIMINA BAĞLI GELİŞEN AKUT BÖBREK HASARINA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

TUBA PERİ

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Balçova, İzmir

ÖZET

Amaç: Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler), klinik tıpta analjezik, ateş düşürücü ve anti-inflamatuvar ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmakta olup sık görülen yan etkilerinden biri nefrotoksisitedir ve sıkça görülmektedir.

Akut böbrek hasarı (ABH), dünya çapında milyonlarca hastayı etkileyen, böbrek fonksiyonlarında kısa sürede azalma ile karakterize bir sağlık sorunudur. Glomerüler filtrasyon hızında (GFR) düşüş, kan üre ve kreatininde artış ile karakterizedir. ABH için etkili bir tedavi yoktur ve yeni tedavilere ihtiyaç vardır.

Eskiden beri kullanılan mevcut bir ilaç olan ve günümüzde çeşitli hastalıklar için kullanımı tartışılan kolşisinin NSAİİ kullanımına bağlı gelişen ABH'ye etkilerini NLRP3 inflamazom yolağı üzerinden incelemeyi hedefledik.

Gereç ve yöntem: Bu amaçla çalışmada, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilen 28 adet 8-10 haftalık (200-250 gr) dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele 4 gruba (Kontrol, Diklofenak sodyum, Kolşisin, Diklofenak sodyum+Kolşisin) n=7 olacak şekilde ayrıldı. 5 gün boyunca Kontrol grubuna (1. Grup) %0,9 NaCl (1 ml/gün per-oral) solüsyonu, NSAİİ ilaç grubuna (2. Grup) Diklofenak sodyum (50 mg/kg/gün, intramüsküler), Kolşisin grubuna (3. Grup) Kolşisin (0,2 mg/kg/gün, per-oral), NSAİİ + kolşisin grubuna (4.grup) Diklofenak sodyum (50 mg/kg, intramüsküler) tedavisinin ardından 1 saat sonra (0,2 mg/kg/gün, per-oral) kolşisin uygulandı.

Deneklerin vücut ağırlıkları deneyin başında ve sonunda tartıldı. 1. Gün ve 6.gün biyokimyasal tahliller için kan örnekleri alındı. Elde edilen kan örneklerinden biyokimyasal (üre, kreatinin) tahliller yapıldı ve GFR (glomerüler filtrasyon hızı) hesaplandı. 6. gün inhaler eter anestezisi ile genel anestezi altında doku sıçanlar sakrifiye edilerek (böbrek) örnekleri toplandı. Böbrek dokuları %10 luk formalinle fikse edildi ve rutin doku takibi yapıldı. Ardından kesitleri alınan doku örneklerinden morfolojik değerlendirme için histokimyasal Hematoksilen-Eozin ve Periyodik asit–Schiff (PAS) boyamaları yapıldı. İmmunhistokimyasal olarak da NLRP3, kaspaz 1, İL-1 β işaretlemeleri yapıldı ve semikantitatif skorlandı.

Elde edilen veriler GraphPad Prism 9 istatistik programı ile p (≤ 0.05) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilecek şekilde değerlendirildi.

Bulgular: Deney sonunda diklofenak sodyum grubu ve diklofenak sodyum+kolşisin grubundaki sıçanların kilo kaybettiği, bu kilo farkının yüzde değişiminin kontrol ve kolşisin gruplarına göre anlamlı olduğu görüldü. Toplam böbrek ağırlık ve böbrek indeksinde gruplar arasında fark görülmedi. Kontrol ve kolşisin grubunda biyokimyasal, histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak normal sonuçlar elde edildi. Diklofenak sodyum grubunda serum üre ve kreatinin değerlerinde artış ile eGFR değerinde azalma saptandı. Diklofenak sodyum grubu HE ve PAS boyamaları incelendiğinde glomerüler atrofi, fırçamsı kenarda azalma, tübüler hücrelerde vakuolizasyon, tübüler epitel hücre hasarı, tübül lümen dilatasyonu, hiyalin kast oluşumları ile mononükleer hücre infiltrasyonları, yer yer kanama odakları saptandı. Diklofenak sodyum grubunda NLRP3, kaspaz 1 ve İL-1 β immünohistokimyasal boyamasında reaktivite şiddetinin anlamlı olarak artmış olduğu görüldü. Diklofenak sodyum+kolşisin grubunda ise diklofenak sodyum grubuna göre hasarı işaret eden bu değişikliklerin oldukça azalmış olduğu saptandı.

Sonuç: Diklofenak sodyum ile kolşisin tedavisi verildiğinde, diklofenak sodyum ile indüklenen akut böbrek hasarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalma olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Akut böbrek hasarı, nefrotoksisite, diklofenak sodyum, kolşisin, inflamazom, NLRP3

INVESTIGATION OF THE USE OF LOW-DOSE COLCHICINE ON ACUTE KIDNEY DAMAGE DUE TO NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUG USE

TUBA PERI

Dokuz Eylül University, Medical Faculty, Department of Histology and Embryology, Balçova, İZMİR

ABSRACT

Aim: Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID) are widely used as analgesic, antipyretic and anti-inflammatory agents in clinical medicine, and one of the common side effects is nephrotoxicity and is often seen.

Acute kidney injury (AKI) is a health problem that affects millions of patients around the world and is characterized by a short decrease in renal functions. AKI is characterized by decrease in glomerular filtration rate (GFR) and an increase in blood urea and creatine. There is no effective treatment for AKI and new treatments are needed.

We aimed to examine the effects of Colchicine, which is an existing drug that has been used for various diseases and discussed for various diseases, on the developing AKI, which is due to the use of NSAID, on the NLRP3 inflammoma pathway.

Materials and Methods: For this purpose, 28 8-10 weeks (200-250 g) female Wistar Albino rats were used in the study of Dokuz Eylül University Faculty of Medicine Faculty. Rats were randomly separated to 4 groups (control, diclofenac sodium, colchicine, diclofenac sodium+colchicine) and n = 7. We were applied 0.9 %Nacl (1 ml/day per-oral) to the control group (Group 1), Diclofenac Sodium (50 mg/kg/day, intramuscular) NSAID Group (Group 2), Colchicine (0.2 mg/kg/day, per-oral) Colchicine group (Group 3), treatment of colchicine (0.2 mg/kg/day, per-oral) 1 hour after diclofenac sodium (50 mg/kg/day, intramuscular) treatment to the NSAID + Colchicine group (Group 4) for consecutive 5 days.

Results: At the end of the experiment, the diclofenac sodium group and diclofenac sodium+colchicine groups lost weight, and the weight difference was

significant compared to control and colchicine groups. There was no difference between the groups in the total kidney weight and kidney index. In the control and colchicine group, normal results were obtained from biochemical, histochemical and immunohistochemical. In the diclofenac sodium group, there was an increase in serum urea and creatinine values and a decrease in eGFR value. When Diclofenac Sodium Group H&E and PAS paintings were examined, glomerular atrophy, brushed edge loss, vacuolization in tubular cells, tubular epithelial cell damage, tubule dilatation, hyaline caste formations, and mononuclear cell infiltrations and bleeding in some areas were detected. NLRP3, Caspase 1 and IL-1 β immunohistochemical painting in Diclofenac Sodium group showed significantly increased. In the diclofenac sodium+colchicine group, these changes, which indicate damage compared to Diclofenac sodium group, were found to be highly reduced.

Conclusion: When the treatment of colchicine with diclofenac sodium was given, it was observed that there was a statistically significant decrease in acute renal damage induced by diclofenac sodium.

Keywords: Acute kidney injury, nephrotoxicity, diclofenac sodium, colchicine, inflammasome, NLRP3

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Akut böbrek hasarı (ABH), dünya çapında milyonlarca hastayı etkileyen, sağlık sistemi üzerinde önemli bir yük oluşturan küresel bir halk sağlığı sorunudur (1). Böbrek fonksiyonlarında kısa sürede bozulma ile karakterizedir. ABH geliştikten sonra ilerleyerek klinikte Akut böbrek yetmezliği (ABY) olarak karşımıza çıkabilmektedir. Yüksek mortalite ve morbidite oranı ve hızlanmış kronik böbrek hastalığına gidişi ile önemli bir klinik problemdir. Bu durum iyileşerek düzelebilir veya Kronik böbrek hasarı (KBH) ve akabinde Kronik böbrek yetmezliği (KBY) gelişimine neden olabilir. ABY tanısı konulduktan sonra yoğun bakım ünitesinde mortalite %50'ye kadar çıkmaktadır (2).

ABH glomerüler filtrasyon hızında [glomerular filtration rate (GFR)] hızlı bir düşüş olarak tanımlanır ve başta kreatinin ve kan üre nitrojeni olmak üzere nitrojenli atıkların tutulmasına neden olur (Lucas vd., 2019). Yükselmiş kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin ölçümleri, bu atık ürünlerin azalan klirensinin göstergesi olan azalan böbrek fonksiyonunun göstergeleri olarak işlev görürler (3). İlaç kaynaklı ABH sık görülmektedir. İlaçlar nefrotoksisitenin yaklaşık %20'sinden sorumludur, ancak ortalama yaşam süresi arttıkça nefrotoksisite sıklığı %66'ya kadar artar (4).

Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), klinikte analjezik, ateş düşürücü ve anti-inflamatuvar ajan olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. NSAİİ etkisinin ana mekanizması, araşidonik asidin prostaglandin E2, prostasiklinler ve tromboksanlara dönüşümüne aracılık eden siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonudur (5). Önemli yan etkilerinin olması NSAİİ'ların kullanımlarını sınırlar (6). Özellikle gastrointestinal (7) ve renal toksisiteler bu yan etkilerin başında gelmektedir. Glomerüler filtrasyon hızında azalmanın olduğu ileri yaş ve komorbiditelerde, NSAİİ kaynaklı nefrotoksisite risk artmıştır. Hemen hemen tüm NSAİİ'ler ABH ile ilişkilendirilirler (5).

ABH ve KBH dahil olmak üzere çeşitli böbrek hastalıklarında inflamazomların rol oynadığı bilinmektedir (8,9). İnflamazomlar, sitokin olgunlaşmasını, inflamasyonu ve hücre ölümünü düzenlemek amacıyla gerekli kaspaz aktivasyonu için bir platform görevi gören multiprotein komplekslerdir (10). Nükleotit bağlama ve oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler [(NOD)-like receptors

(NLR)] olarak adlandırılan başka bir hücre içi doğal sensör ailesi üyesi NLRP3, kaspaz-1'in aktivasyonuna ve ardından İL-1β ve İL-18 dahil olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına yol açar (11–13).

Kolşisin, tübülin polimerizasyonunu inhibe ederek, hücre iskeletini ve mitoz, hücre içi taşıma ve fagositoz dahil olmak üzere çeşitli süreçleri bozan, anti-inflamatuvar etkiliği bulunan Colchicum'un aktif alkaloididir (14). Nötrofil kemotaksisini ve adezyonunu inhibe eder (15). Anti-inflamatuvar etkisinin araşidonik asit yolağı üzerinden gerçekleştirmemesi nedeniyle geleneksel NSAİİ'ler ve steroidlerden farklıdır (16).

NSAİİ kaynaklı oluşan ince bağırsak hasarında aktive olan NLRP3i inflamatuvar yolağı üzerine kolşisin etkisinin incelendiği bir çalışma, kolşisin kullanımının ince bağırsak hasarını önlediğini gösterdi (17). NSAİİ kaynaklı akut böbrek hasarında NLRP3 inflamatuvar yolağının etkisinin varlığı da gösterilmiştir (18). Kolşisinin NLRP3 inflamatuvar protein kompleksi oluşumunu zayıflatarak Kaspaz-1, İnterlökin-1 beta (İL-1β) ve İnterlökin-18'i (İL-18) inhibe ettiğini ise çeşitli deneysel model ve dokularda gösteren çalışmalar bulunmaktadır (16,19,20).

Ancak litaretürde NSAİİ kullanımına bağlı oluşan ABH'nda düşük doz kolşisin kullanımının etkilerini NLRP3 inflamatuvar yolağı üzerinden inceleyen bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle "NSAİİ'a bağlı gelişen ABH'nı düşük doz kolşisin kullanımı, NLRP3 inflamazom yolağının aktivasyonunu baskılayarak azaltır." hipotezimiz üzerinden NSAİİ ile ABH modeli oluşturarak, meydana gelen hasarın ve bu hasara kolşisinin olası etkilerinin biyokimyasal (BUN, Kreatinin, GFR), histokimyasal (Hematoksilen Eosin, Periyodik Asit Schiff) ve immünohistokimyasal (NLRP 3, Kaspaz -1 ve İL-1β) olarak incelenmesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler, posterior karın duvarında, vertebral kolonun her iki tarafında yer alan retroperitoneal organlardır. T12 -L3 omurları seviyesinde yerleşirler ancak karaciğer varlığı nedeniyle sağ böbrek sola göre biraz daha aşağı konumdadır (21–24).

Böbrekler her biri 130 ila 150 g ağırlığındadır, toplam vücut ağırlığının %0,4'ünü temsil eder (25). Yaklaşık 10-12 cm uzunluğunda, 5-7 cm genişliğinde ve 3-4 cm kalınlığında, fasülye şeklinde organlardır. Kırmızımsı kahverengi görünürler.

Böbrekler, koruyucu bir yağ tabakası (perirenal yağ tabakası/capsula adiposa) ile çevrili ince, parlak fibromüsküler bir renal kapsül (capsula fibroza) ile kaplıdırlar. Sağlıklı bir böbrekte kapsül renal kortekse tamamen yapışmaz, kolayca soyulabilir. Böbrek hilusunda iki yaprağa ayrılır, yapraklardan birisi hilustaki yapıların üzerine geçerek, onların adventisyası olarak devam ederken diğer yaprak hilum renaleden içeri girer papillalar hariç sinüs renalisin iç yüzünü döşer. Fasya Renalis (Gerota fasyası, perirenal fasya) olarak adlandırılan başka bir bağ dokusu tabakası ise böbreği perirenal yağ ve adrenal bezle birlikte sarar. Bu şekilde böbreği içten dışa olmak üzere üç adet kılıf sarmaktadır; kapsula fibrosa, kapsula adiposa ve fasya renalis. Perinefrik yağ ve renal fasyaya ek olarak, her böbrek için posterior ve posterolateral biriken bir paranefrik yağ tabakası (pararenal yağ), böbrekle ilişkili yağ ve fasyaları tamamlar. İkinci bir pararenal yağ tabakası böbrek fasyası dışında yer almaktadır (21–24,26) Karın arka duvarında retroperitoneal olarak bulunan böbrekler, solunum sırasında ve sırtüstünden dik konuma geçerken ve bunun tersi durumda bir miktar hareket edebilirler. Normal böbrek hareketliliği yaklaşık bir vertebra gövdesinin yüksekliği kadar ortalama 3 cm'dir (23).

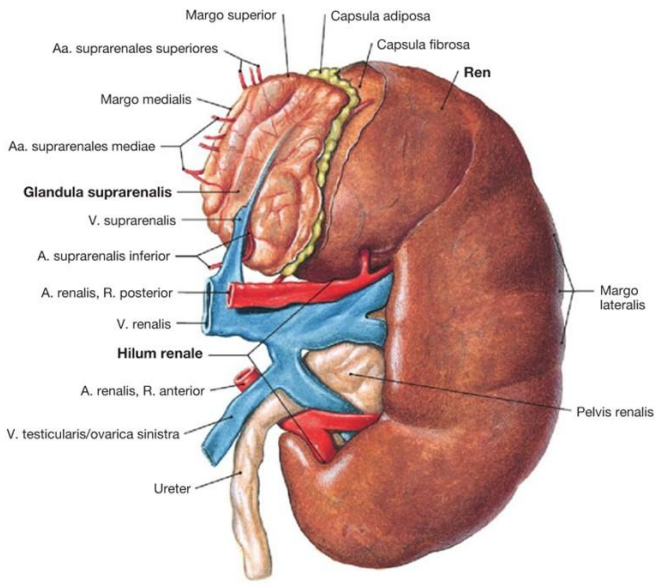
Böreklerin ön ve dışa bakan facies anterior, arka ve içe bakan facies posterior olmak üzere iki yüzü, margo medialis, margo lateralis olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere de iki ucu vardır.

Böbreklerin ön yüzleri periton tabakası ile ayrılan veya doğrudan böbreğe karşı olan çok sayıda yapı ile ilişkilidir ve her iki böbrekte farklılık gösterir. Sağ böbrek ön yüzde; surrrenal bez, karaciğerin sağ lobu, duodenumun ikinci parçası (pars

descendens), colon ascendens, fleksura coli dekstra ve jejunum kıvrımlarıyla komşudur. Sol böbrek ise ön yüzde; surrenal bez, dalak, mide, pankreasın gövdesi, splenik damarlar, fleksura coli sinistra, kolon descendensin başlangıcı ve jejunum kıvrımları ile komşuluk yapar.

Böbreklerin yukarıda diyafragma ile üst-iç yüzleri ise surrenal bez ile komşudur. Diyafragma böbrekleri plevral boşluklardan ve 12. kaburga çiftinden ayırır. Posteriorda psoas majör, quadratus lumborum ve transversus abdominis kasları ile subkostal damarlar ve sinirler ve iliohipogastrik ve ilioinguinal sinirleri vardır (21,23).

Böbreğin girintili medial yüzeyine hilum denir. Damarlar, sinirler ve lenfatikler buradan geçer ve renal sinüse girerler. Hilum aynı zamanda üreterin böbrekten çıktığı noktadır (21–24).



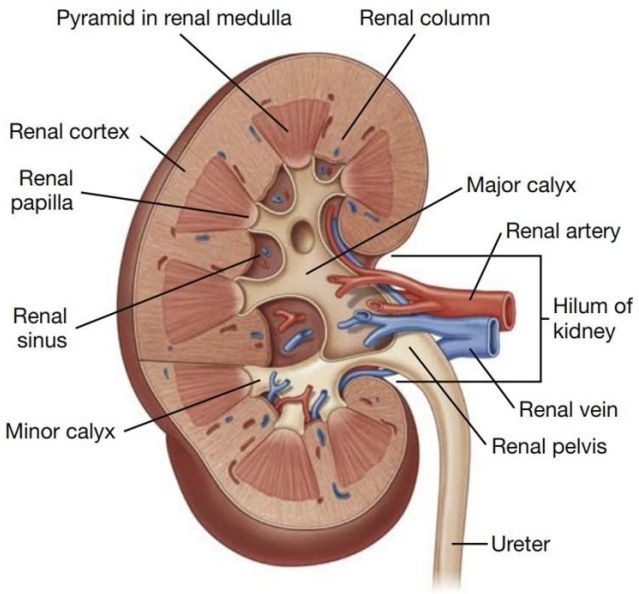
Şekil 1: Böbreğin anatomisi (27)

Böbrek kesit yüzeyinde makroskobik olarak iki katmandan oluşur: dış soluk ve daha ince tabaka olan korteks ve iç daha koyu bir katman olan medulla.

Renal korteks, renal korpüsküller ve onlarla ilişkili tübüllerle karakterizedir. Renal korteksin uzantıları olan renal sütunlar (Bertin) renal medulla'yı böbrek piramitleri adı konik yapılara böler. İnsan böbreğinde 8-12 adet piramit bulunur. Piramitlerin tabanı kortekse, apikal bölgesi renal sinüse bakar. Apikal bölgesine renal papilla adı verilir ve minör kalikslere açılır. Papillanın area kribroza

olarak adlandırılan ucu toplama borularının açıklıklarıyla delinir. Minör kaliksler 2 veya 3 major kalikse açılır. Major kaliksler de birleşerek üreterlerin huni şeklinde genişlemiş üst ucu olan renal pelvisi oluştururlar.

Renal Medulla: Düz tübüller, toplama boruları ve vaza rekta ile karakterizedir (21,28)(21,28).



Şekil 2: Renal korteks, medulla ve pelvis (21)

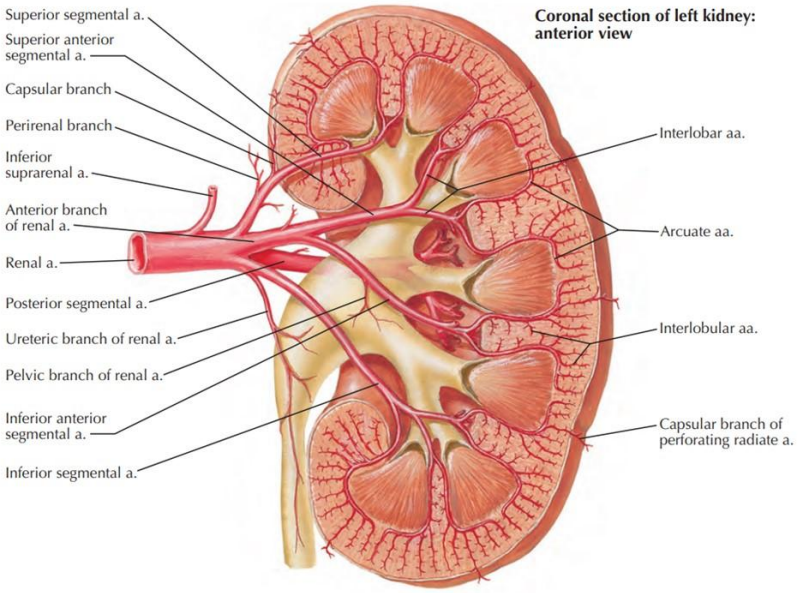
Böbrekler, dakikada 1 litreden fazla (kardiyak outputun %20'sinden fazla) kan alır (22).

Her böbrek tek bir renal arter tarafından kanlanır. Renal arterler, L 1-2 vertebral seviyesinden, üst mezenterik arter kökünün altından abdominal aortun lateralinden dik olarak çıkarlar ve böbreklere hilumdan girerler (21,22,24,27).

Sağ renal arter inferior vena cava (IVC) arkasından geçer ve soldan daha uzundur. Renal arterin ilk dalı ilgili adrenal beze gider. Ayrıca böbrek pelvisine ve üreterin üst kısmına dallar verir (21,22,24).

Renal arter hilumda ön ve arka olmak üzere 2 dala ayrılır. Kan akışına göre her böbrek beş segmente sahiptir. Renal arterinin arka dalı posterior segmente kan sağlarken, ön segment apikal, üst, orta ve alt segmentleri tedarik etmek için dört segmental dala ayrılır. Bu dallara a. segmentalis denir. A. renalis'in dalları tıkanırsa,

ranal enfarktüslerin boyutu etkilenen segment alanıyla sınırlanır. A. segmentalisler sinus renaliste dallanırlar ve a. interlobarisleri oluşturular. Bu arterler kortikomedullar bileşkeye kadar ilerledikten sonra yana kıvrılarak iki katman arasında kavis şeklinde uzanırlar. Bu arterler arkuata olarak adlandırılırlar ve birbirleriyle anastomoz yapmazlar. A. arkuatalardan çıkan a. interlobularis olarak isimlendirilen dik ince dallar böbrek lobçukları arasında uzanırlar. Bunlardan yan tarafa uzanan ince dallara ise arteriola glomerularis afferens denir. Capsula glomerularisin (Bowman Kapsülü) damar kutbundan girerler ve kılcal damar yumağı olan rete capillare glomerulareleri oluştururlar. Bu kapiller yumak, tekrar birleşerek arteriola glomerularis efferensi yapar. Arteriola glomerularis efferens kortekste idrar kanalları arasında peritübüler kapiller ağı oluşturur (24,27).



Şekil 3: Böbreğin arterleri (29)

Bu kapiller ağdan sonra venöz dönüş başlar. İlk olarak v. interlobularise açılır. Bu venler arterleri izleyerek sırasıyla v. arkuata, v. interlobaris, v. segmentalis ve v. renalis olarak v. cava inferiora (IVC) açılırlar. Sol renal ven sağdan daha uzundur, çünkü IVC'ye ulaşmak için aortun önünü geçer. Sol gonadal ven, sol adrenal ven ve lomber damarlar sol renal vene akarken, sağ tarafta gonadal ven doğrudan IVC'ye akar (24).

Böbreğin medulla bölgesini besleyen damarlar olan Vasa recta, kısmen arteriola glomerularis efferensten, kısmen de a. arkuatadan ayrılır. Nefronun tübüler kısımlarında ve toplayıcı kanalda maddelerin emilimi ve salgılanması için önemlidir. Medullar bölgeyi besleyen bu damarlar venula recta denilen venler ile yeniden dönüş yaparak v. arcuataya açılırlar (27).

Her böbreğin lenfatik drenajı, renal arterin kökeni etrafındaki L2 seviyesindeki para-aortik lenf düğümlerine olur (21,24).

Böbreğin innervasyonu hem sempatik hem de parasempatik sinir lifleri içeren renal pleksus yoluyla otonom sinirlerle sağlanır. T12-L1 omurilik seviyesinden kaynaklanan pre-gangliyonik sempatik sinir innervasyonu, vazokonstriksiyonu uyarır ve bunun sonucunda kan akışını azaltır. Parasempatik sinir lifleri nervus vagustan kaynaklanır ve böbrekte vazodilatasyondan sorumludur. Böbrekten duyusal girdi spinal kordun T10-11 seviyelerine gider ve ön karın duvarında karşılık gelen dermatomlarda algılanır (24).

2.2. Böbrek Embriyolojisi

Embriyonik gelişimde ürogenital sistem intermediyer mezodermden gelişir. Kraniyokaudal yönde 3 set nefrik sistem gelişir: pronefroz, mezonefroz, metanefroz (kalıcı böbrekler) (30).

2.2.1. Pronefroz

İnsan embriyolorında dördüncü haftanın başında servikal bölgede 7-10 solid hücre topluluğu tarafından temsil edilir. Rutimenter ve işlevsizdir. Dördüncü haftanın sonunda dejenerasyona uğrayarak kaybolur (31).

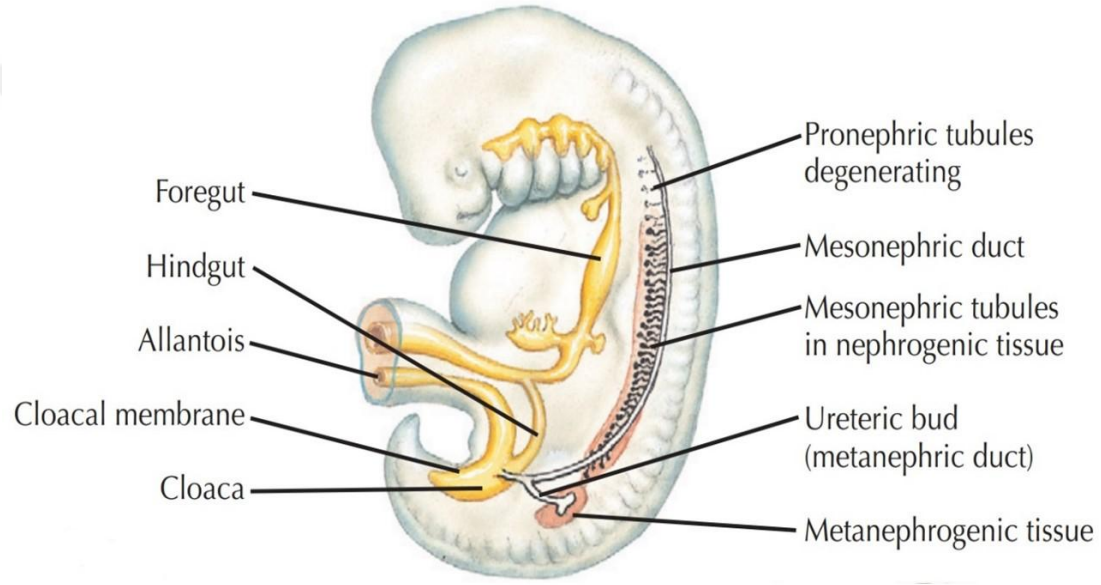
2.2.2. Mezonefroz

Mezonefrozlar, kalıcı böbrekler gelişene ve işlev görene kadar yaklaşık 4 hafta boyunca geçici böbrekler olarak işlev görürler. Glomeruli (böbrek başına 10-50) ve mezonefrik tübüllerden oluşurlar.(32) Üst torasikle üst lumbar segmentlerin intermediyer mezodermden gelişirler. Embriyonik 4. haftanın başlarında mezonefroza ait ilk boşaltım kanalları belirmeye başlar. Hızla uzar, kıvrımlanırlar. Medial uzantılarının ucunda kapiller yumaktan oluşan bir glomerulus oluşur ve çevresinde Bowman kapsülü şekillenir. Mezonefrik boşaltım birimleri yaklaşık 6 ila 10 hafta

arasında işlevseldir ve az miktarda idrar üretir. 20 haftadan sonra, işlev görmeyi bırakarak gerilemeye başlarlar. Mezonefrik kanallar, dişide gerilemesine rağmen erkekte birkaç modifiye mezonefrik tübül, erkek genital kanal sisteminin önemli elemanlarını oluştururlar (30).

2.2.3. Metanefroz

Metanefroz veya kalıcı böbrekler 5. Haftada ortaya çıkarlar. Boşaltım birimlerinin gelişdiği metanefrik mezoderm ve kanal sisteminin geliştiği üreter tomurcuğu olmak üzere mezodermal iki dokudan gelişirler (31,33).

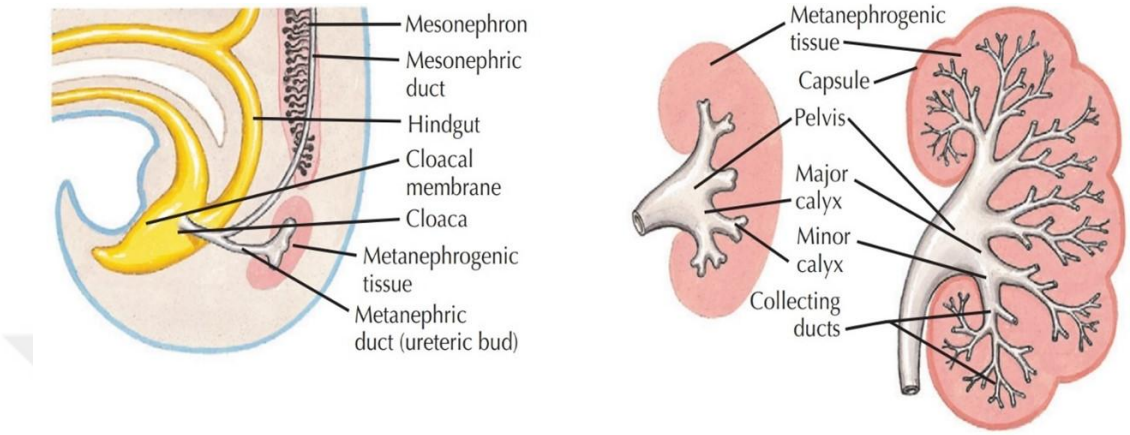


Şekil 4: Böbreğin embriyolojik gelişimi (33)

2.2.4. Toplayıcı sistem

Kalıcı böbreklerin toplayıcı kanalları, üreter tomurcuğundan (metanefrik divertikül) gelişir. Üreter tomurcuğu mezonefrik kanalın kloakaya girişine yakın, dışa doğru büyüyen bir divertiküldür ve yaklaşık 28. günde filizlenir. Üreterik tomurcuğun sap kısmından üreter, baş kısmından ise toplayıcı tübüller oluşur. 32. güne kadar, her üreterik tomurcuğu, metanefojenik blastem adı verilen sakral ara mezoderm kitlesi olan metanefojenik blastem içerisine penetre olur (30,32). Ardından üreter tomurcuğu genişleyerek primitif renal pelvisi oluşturur ve gelecekteki major kaliksleri oluşturmak üzere kraniyel ve kaudal parçalara ayrılır. Kalikslerin her biri 12 ve daha fazla sayıda tübül oluşturana kadar bölünmeye devam ederler. Beşinci ayın sonuna kadar periferde

bir miktar tübül daha oluşur (31). İkinci oluşan dört jenerasyona ait tübüller birleşerek renal pelvisin minör kalikslerini oluştururlar. Sonuç olarak üreter tomurcuğundan üreter, renal pelvis, majör ve minör kaliksler ile yaklaşık 1-3 milyon toplayıcı tübül gelişir (32).



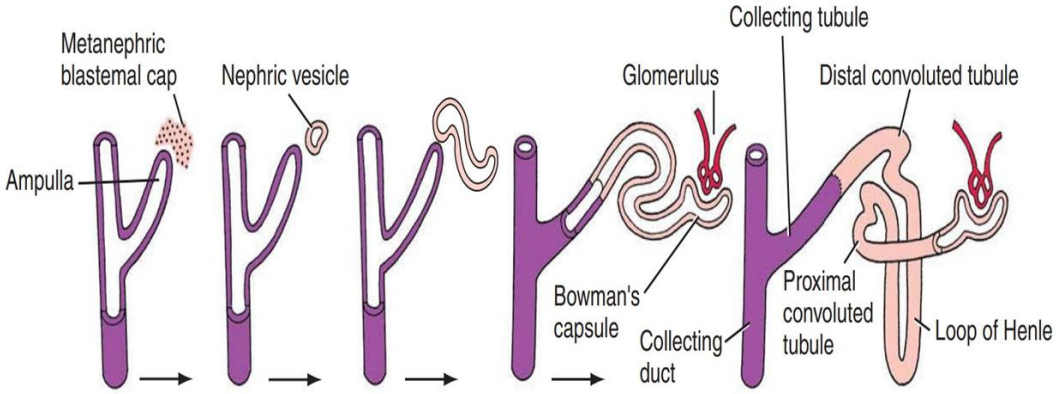
Şekil 5: Metanefroz ve toplayıcı sistemin embriyolojik gelişimi (33)

2.2.5. Boşaltıcı sistem

Toplayıcı tübüllerin son kısmı metanefrik mezoderm içerisindeki hücre kümelerini uyararak, küçük metanefrik veziküllerin oluşumuna neden olur. Bu veziküller de uzayarak metanefrik tübülleri oluştururlar (30,32).

Nefrik vezikül ilk olarak virgül şekilli bir yapıya dönüşür ve daha sonra S şeklinde bir tübül oluşturur. S şeklindeki tübül toplayıcı tübül ile kaynaşır. Nefrik tübülün böbrek korpüskül segmenti, bitişik stroma içinde oluşan kapiller damarların oluşturduğu glomerülü çevreleyen Bowman kapsülünün dış (pariyetal) tabakasını ve glomerüler epiteliyal hücreleri (podositler) oluşturur. Renal korpüskül oluşurken, uzayan nefrik tübül nefronun geri kalan elemanları olan proksimal kıvrıntılı tübül, Henle kulpu ve distal kıvrıntılı tübülü oluşturur. Glomerülle birlikte tübüller nefronu veya boşaltım birimini meydana getirir. Böbreğin medullası büyüyen nefron tübülleri ve interstisyel doku geliştikçe şekillenir. Gestasyonun 10. haftasında, distal kıvrıntılı tübüllerin uçları toplama tübüllerine bağlanmasıyla beraber metanefron fonksiyonel hale gelerek idrar üretmeye başlar.

Nefrojenez insanlarda doğumla tamamlanır (30).



Şekil 6: Nefronun gelişimi (30)

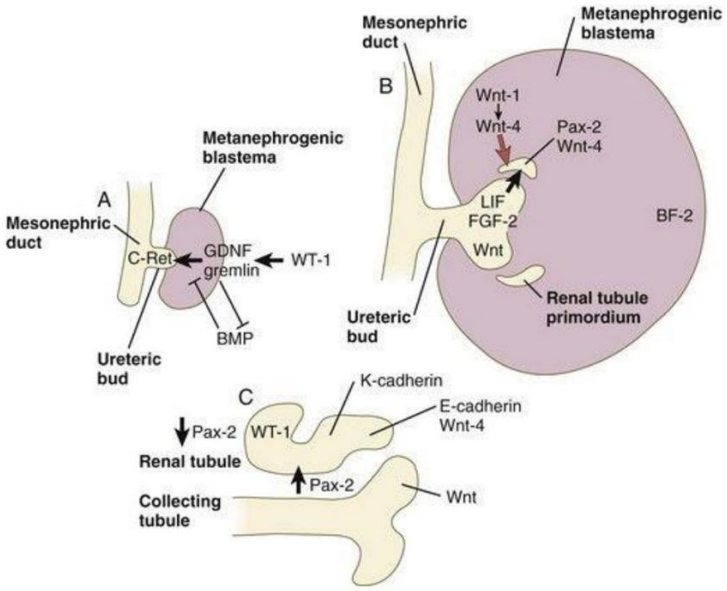
2.2.6. Böbrek gelişiminin moleküler kontrolü

Üriner sistemin gelişimindeki en erken aşamalar, erken idrar sisteminin kraniokaudal sınırlarını belirleyen Hox 4-11 genlerinin ekspresyon sınırlarını belirleyen retinoik asidin etkisine bağlıdır (34).

Mezenşimal dokudan salgılanan ve bir transkripsiyon faktörü olan WT1 (Wilms'tümör supressör 1) metanefrik blastemin üreter tomurcuğunun uyarısına yanıt verebilecek durumuna gelmesine olanak verir. Metanefrik mezenkimde Glial kökenli nörotrofik faktör (GDNF) ve Hepatosit büyüme faktörleri'nin (HGF) oluşumu WT-1 tarafından düzenlenir. Bunlar üreter tomurcuğunun büyümesini sağlar. Üreter tomurcuğu epitelinde yapılan GDNF için RET ve HGF için Met adlı tirozin kinaz reseptörleri epitel ve mezenşim etkileşimini sağlar (31). Bu indüktif sinyal için C-Ret ve erken üreterik tomurcukların epitel hücrelerinin plazma membranlarında bulunan koreseptör GFRA-1 bağlanır. Metanefrojenik mezenkimden elde edilen GDNF sinyaline yanıt olarak, üreter tomurcukların dallanan epitelyal uçları, çevre metanefrojenik mezenkimin renal tübüllerin epitelyal öncüllerine dönüşünü indükleyen sinyal molekülleri fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ve lösemi inhibitör faktörü (LİF) üretir. Aynı bölgede üretilen BMP-7, mezenkimal hücre ölümünü önler ve mezenkimal hücreleri gelişimsel olarak kararsız bir durumda tutar. Üreterik tomurcukların uçlarında Wnt-9b transkripsiyon faktörü ekspresyonu dallanma için önemlidir. Tübül oluşumu ayrıca metanefrik mezenkimin kendisi tarafından üretilen sıralı bir indüktif sinyal olan Wnt-4 gerektirir. Bu indüksiyon, metanefrik mezenkimleri, hücrelerin Wnt-4 ve Pax 2'yi eksprese ettiği tübüler epitelyal

bir alan ve mezenkimal hücrelerin stromal indüktif sinyali BF-2 eksprese ettiği stromal bölge oluşur (34).

Ön indüklenen mezenkim, tip I ve III kolajen ve fibronektin gibi birkaç interstisyel protein içerir. Mezenkimal hücreler üretik tomurcuğun dallanma uçları tarafından lokal indüksiyondan sonra yoğunlaştıkça, bu proteinler kaybolur ve nihayetinde bazal membranda lokalize olan epitelyal tip proteinler (tip IV kolajen, syndecan-1, laminin ve heparin sülfat proteoglikan) ile değiştirilir (31,34) Bunlara ek olarak, mezenşimal dokunun yoğunlaşarak epitele dönüşmesi için elzem olan hücre adezyon moleküllerinden Syndecan ve E-cadherin de sentezlenir. Bütün bu süreç PAX 2 ve WNT-4 genleri tarafından bloke edilir. Bunların yanı sıra ürogenital kabartının oluşumunda Steroidojenik Faktör-1 ve DAX 1 genleri önemlidir (31).



Şekil 7: Metanefron ve üreterin erken gelişiminin moleküler temeli.

2.2.7. Böbreğin pozisyonu

Böbrekler başlangıçta pelviste yer alır. Sakrumun ventralinde, birbirine yakın konumda bulunan böbrekler vücudun dikleşmesi, lumbal ve sakral bölgelerdeki büyüme sonucu yukarı doğru yer değiştirir. Metanefrozlar, pelvis içindeyken arteriyel kan dolaşımını Aort'un pelvik bir dalından alır. Böbrek yükseldikçe, her seferinde daha yukarı kesimlerdeki aorta dalı olan arterlerden kan dolaşımını sağlamaya devam eder. Altta kalan önceki arterler genellikle dejenere olur. Böbrekler dokuzuncu haftada yetişkindeki pozisyonuna ulaşır. Başlangıçta hilus (hilum) ventrale bakmaktadır.

Ancak böbreklerin yükselmesiyle hilus medial hatta doğru 90°'lik bir dönüş yapar. Dokuzuncu haftada hilus arteromedial hatta yönelmiştir (31).

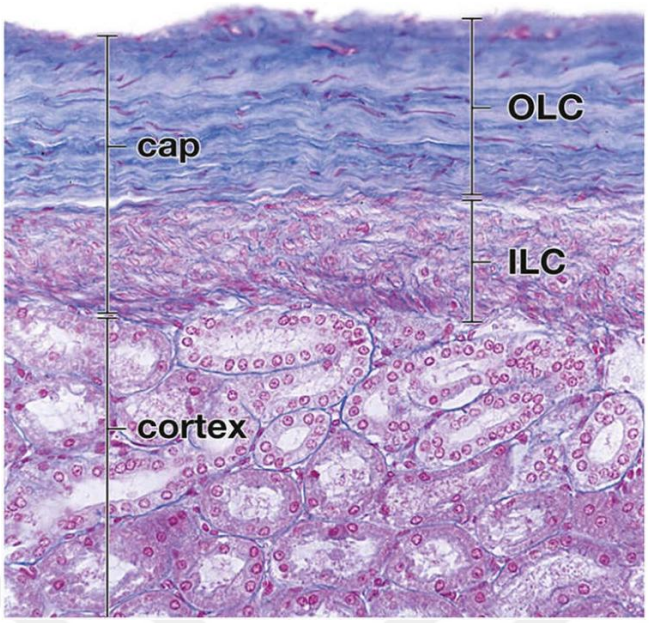
2.3. Böbrek Histolojisi

Boşaltım sistemi 2 böbrek, 2 üreter, 1 mesane,1 üretradan meydana gelir. Böbrekler vücut sıvısını ve elektrolitleri tutarken metabolik atıkları uzaklaştırır. Aynı zamanda endokrin fonksiyonu da olan organlardır.

Böbreklerin dış yüzleri bağ dokusu kılıfı ile çevrelenmiştir. Dışta korteks (Korteks renalis-kabuk) içte medulla (Medulla renalis-öz) olarak iki kısıma ayrılırlar. Böbrekler gevşek bağ dokusu, kan ve lenf damarları ve sinirleri içeren stroma ile çevrelenmiş nefron ve toplayıcı kanallardan oluşurlar.

2.3.1. Kapsül

Böbrek kapsülü iki tabakadan oluşur. Dış tabakada fibroblast ve kolajen lifler, iç tabakada miyofibroblastlar bulunur. Miyofibroblastlar böbrekte basınç ve hacim değişimlerinin düzenlenmesinde görevlidirler (28). Kapsül ince olmasına rağmen kolajen fibrilden zengin olduğu için sağlamdır ve az miktarda elastik fibril de içerir. Yaşla birlikte kapsül kalınlığı ve elastik fibril sayısı artar. Kapsül gerilmeye dirençlidir, böbreğe gevşekçe tutunur ve kolayca soyulabilir. Kolayca soyulması septum bulunmadığını gösterir (35). Hilusta kapsül içe dönerek sinüs bağ dokusunu oluşturduktan sonra renal pelvis ve kalikslerin bağ dokusu ile devam eder (28) .



Şekil 8: Renal kapsülün dış (OLC) ve iç (İCL) tabakası (28)

2.3.2. Korteks ve medulla

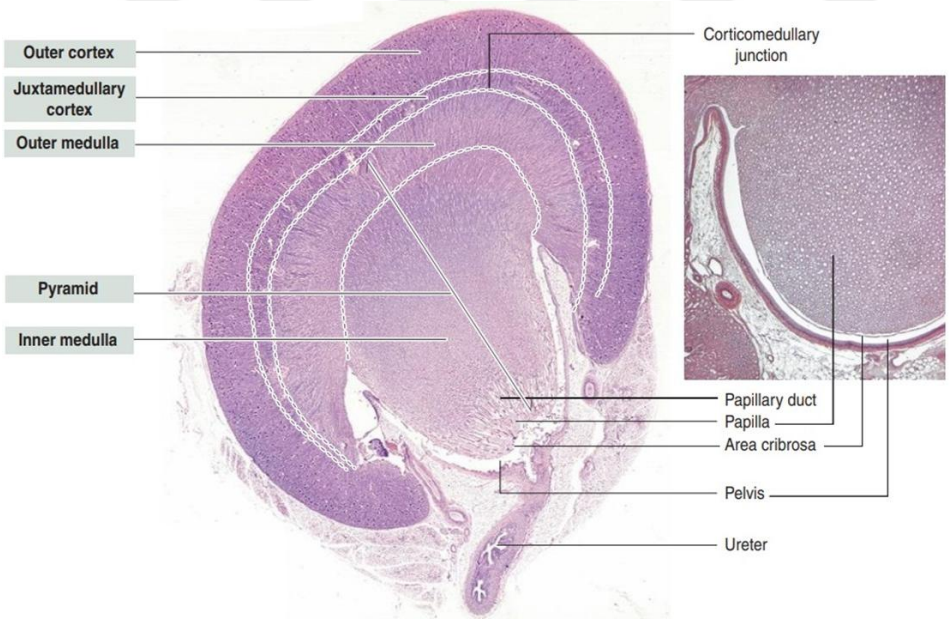
Taze, ortadan kesilmiş böbrek makroskopisinde dıştaki kırmızımsı kahverengi kısım korteks, içteki daha açık renkli kısım medulla olarak adlandırılır (21–23).

Korteks, renal korpüsküller ve onlarla ilişkili tübüllerle karakterizedir. İç ve dış olmak üzere iki bölgeye ayrılır. Böbrek yüzeyine dik açıyla korteksten geçen bir kesit alınırsa medulladan çıkıyor gibi görünen ve yaklaşık 400-500 adet olan medullar ışınlar (Ferrein piramitleri, sitria medullaris kortisis) olarak isimlendirilen seri çizgilenmeler seçilir. Piramit şeklinde oluşumlardır ve korteksten renal piramitlere giden proksimal, distal ve toplayıcı tübülerden oluşmaktadır. Korteksin medulla ışınları arasında kalan alanı kortikal labirenttir. Proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller, kan damarları ve böbrek cisimciği içerir. Makroskopik olarak granüler görünür.

Korteksin dış bölgesi böbreği kabuk gibi sarmaktadır. Kapsula fibrosa ile medulla piramitlerinin taban kısımları arasındaki bölümdür. İç bölgesi ise medulla piramitlerinin arasında, sinus renalis'e kadar uzanır. Kesitlerde piramitler arasında sütun şeklinde görülmektedir. Bu nedenle Bertini sütunları (columna renalis) olarak isimlendirilirler (36). Korteksin geri kalan bölümüne Kortikal Labirint denir (35).

Kapsülün hemen altında böbrek cisimciklerinin bulunmadığı dar bölgeye ise kabuğun kabukçuğu (korteks kortisi) denir (36).

Medulla, düz tübüller, toplama boruları ve özel bir kapiller ağ olan vaza rekta ile karakterizedir. 10-18 adet piramidal ya da konik şekilli medulla piramitlerinden (Pyramis renalis, malpighi Piramitleri) oluşmaktadır. Piramitlerin tabanları (basis piramidis) kortekse, apikal bölgeleri (papilla renalis) sinüs renalise bakar. Genellikle 2-3 piramit birleşerek bir papillada sonlanır. Böylelikle papilla sayısı piramit sayısından azdır. Medulla piramitleri birbirlerine değmeyecek şekilde sinus renalis çevresinde dizilmişlerdir. Her piramit dış ve iç medulla olarak ikiye ayrılır. Dış medulla da kendi içinde iç bant ve dış bant olarak bölümlere ayrılır (28). Dış medulla, dış medullanın dış şeridine ve dış medullanın iç şeridine bölünmüştür. Dış şerit, proksimal tübülün parçalarını (Henle kulpunun kalın inen kolları), distal tübülün düz kısımlarını (kalın çıkan kollar) ve toplayıcı kanalları içerir. İç şerit, inen ince uzuvlar, çıkan kalın kollar ve toplayıcı kanallardan oluşur. İç medulla, ince kollar (inen ve çıkan) ve toplayıcı kanallar tarafından oluşturulur (37).



Şekil 9: Renal korteks ve medulla(38)

2.3.3. Böbrek lobları ve lobülleri

Böbrek lobunu bir renal piramit ve onunla ilişkili kortikal madde oluşturur. İnsanda böbrek 8-12 lobdan oluşur. Lobun sınırları; Bertini kolonları

arasından geçen bir hat, tepesi papillada, tabanı ise kapsülün altındadır (36). Lobların sayısı medullar piramitlerin sayısına eşittir. İnsan böbreği multilobar ya da mutipiramidal bir organdır. Fetal evrade kapsülden içeriye uzanan septumlar vardır. Bu nedenle lobar ayrım belirgindir. Fetüs ve çocuklarda böbreğin dış yüzü lobülerdir. Erişkinde ise intersitisyel bağ doku çok azdır ve dış yüz düzgündür (35).

Loblar merkezde medullar ışın ve onu çevreleyen kortikal materyalden oluşan lobüllere bölünür. Lobüller, bir toplama borusu (Bellini kanalı) ve onun drene ettiği nefronlardan oluşur (28). Medullar ışın ise nefronların düz parçaları ve tek bir toplayıcı kanaldan oluşur ve lobün eksenidir (38). Diğer organlardaki lobüller gibi bağ dokusuyla ayrılmaz (35).

2.3.4. Nefron

Böbreğin korteks ve medullada bulunan idrar üreten fonksiyonel ve yapısal birimlerine nefron denir. Nefronlar, renal korpüskül ve böbrek tübüllerinden oluşurlar. Nefronun başlangıç kısmı olan renal korpüskül özel kapiller yumak olan glomerül ve onu çevreleyen 200 μm çapında çift tabakalı epitelyal kupa olan renal kapsülden (Bowman kapsülü, corpusculum renale Malpighi, renal cisimcik, malpighi cisimciği) oluşur. Bunu böbrek tübüller izler. Tübüller proksimal kıvrıntılı tübül, proksimal düz tübül, ince (ara) parça, distal düz tübüller, distal kıvrıntılı tübüller, toplayıcı tübül ve kanallardan meydana gelir (28,37–39).

Her bir böbrek 1-4 milyon nefron içermektedir (39). Nefronlar yerleşim yerlerine göre subkapsüler (kortikal), jukstamedullar ve ara (midkortikal) nefronlar olarak üçe ayrılır.

1. Kortikal (subkapsüler) nefronlar: Nefronların %85’ ini oluşturur. Renal korpüsküller korteksin dış bölgesinde yerleşiktir. Henle kulbunun inen ince kolları çok kısadır ve medullanın dış kısmına doğru genişler. Çıkan ince kol bulunmaz.

2. Jukstamedullar nefronlar: Nefronların %15’ ini oluşturur. Renal korpüsküller medulla piramitlerinin taban kısmında yerleşiktir. Henle kulpları çok uzundur ve medulla piramitlerinin iç kısmında uzanırlar. İdrar konsantrasyonunda rol oynarlar.

3. Intermediate nefronlar: Renal korpüskülleri korteksin orta bölgesinde yerleşiktir henle kulpları orta uzunluktadır (28,38).

2.3.5. Renal korpüskül (Malpighi cisimciği)

Renal korpüskül nefronun başlangıç kısmıdır ve Bowman kapsülü ile çevrelenmiş özel bir kapiller ağ olan glomerülüsten meydana gelir. Küre şeklindedir ve ortalama 200 μm çapındadır. Renal korpüskülde, arteriyollerin girip çıktığı bir damar kutbu (polus vascularis) ve proksimal kıvrıntılı tübüllerin başladığı bir idrar kutbu (polus tubularis) bulunur.

Bowman kapsülü, glomerüler kapillerle ilişkili bir visseral tabaka (glomerüler epitel) ve bağ doku stromasına bakan bir pariyetal tabakadan (kapsüler epitel) oluşur. İki tabaka arasında, kapiller duvarından ve visseral kattan süzülen sıvının toplandığı glomerül boşluğu (idrar boşluğu/üriner boşluk/Bowman Boşluğu/kapsüler aralık) bulunur.

Pariyetal tabaka, retiküler fibriller içeren bir bazal membrana oturan tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Renal korpüskülün idrar kutpunda proksimal kıvrımlı tübülün kübik epiteliyle devam eder (28,35,36,38). Pariyetal yaprak bazal membranı laminin1, 10 ile az miktarda laminin 2, tip IV kolajenin α-1, α-2 ile az miktarda α-3, α-5 zincirleri, entaktin/nidojen, agrin, perlekan ve bamakan (bazal membran kondroitin sülfat proteoglikan) içerir. Bu bazal membran glomerüler ve tübüler bazal membran olarak devam eder. Pariyetal epitel hücreleri aktin filament paketleri içerir ve bu özellik özellikle damar kutbunu saran hücrelerde belirgindir (36).

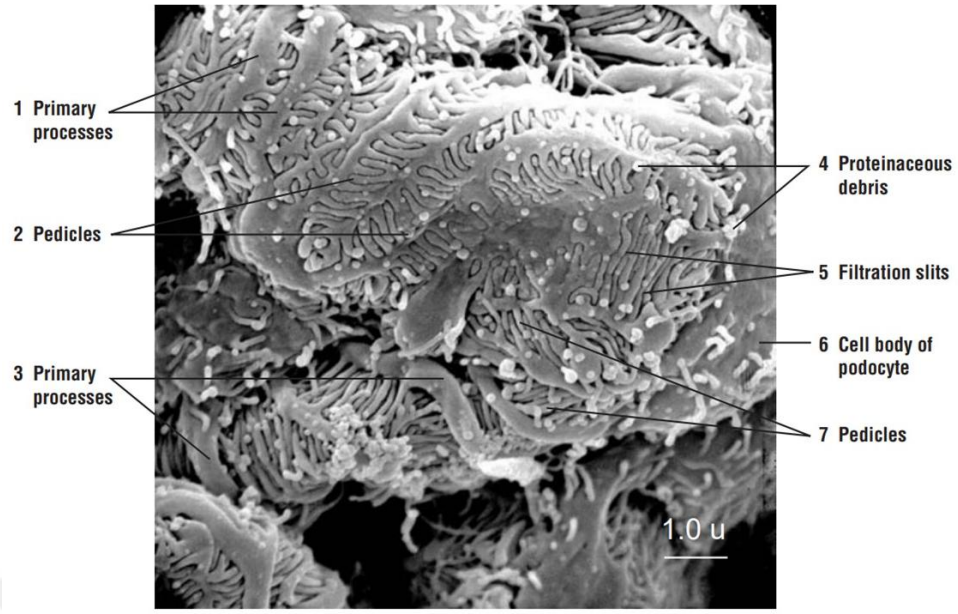
Visseral tabaka, kapiller yumağı oluşturan tüm kapillerleri çevreleyerek dış yüzlerini örter. Kalın bir bazal lamina üzerine oturmuş podosit (episit) denen hücrelerden oluşur (35). Nükleus düzensiz şekillidir ve üriner sahaya bakan hücre membranına yakın periferal olarak yerleşir. Hücre gövdesinin sitoplazması iyi gelişmiş golgi kompleksi, bol miktarda serbest ribozom, granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve düz endoplazmik retikulum (DER), lizozom, mitokondri, mikrotübül, klatrin örtülü ve örtüsüz endozomal veziküller ve multiveziküler cisimler içerir. Membranla sarılı inklüzyon cisimciklerine de sıkça rastlanır (36).

Bu hücreler ileri derecede yassılaşmıştır ve radier olarak uzanan primer uzantılara sahiptirler (podos:ayak). Primer uzantılardan ayrılan çok sayıda sekonder uzantı (ayak uzantısı/pedisel) bulunur (35). Sekonder uzantılar bazal laminaya değdiği halde, çoğu podosit bedeni ve primer uzantı bazal laminaya temas etmez (28,35,36). Hücre gövdesi altında bir tarafta pedisellerin interdijitasyonlarının bir tarafta hücre gövdesinin bulunduğu bağlantısız bu alana subpodosit alan (hücre gövdesi altı sahası/sub-cell body) denir (28,36).

Pediseller, sekonder çıkıntılardır ve glomerül kapillerler yüzeyin büyük bölümünü örterler. Bazal membran ile direk temas halindedirler. Komşu podositin uzantısı ile iç içe geçerler (interdijitasyon) ve birbirlerinden 25-30 nm genişliğindeki süzülme (filtrasyon) yarıkları ile ayrılırlar. Bu yarıkları fermuar benzeri birbirine bağlayan özelleşmiş bir sıkı bağlantı kompleksi olan filtrasyon yarık diyaframı (filtrasyon yarık membranı/slit membran/slit diyafram) vardır (40). Bu diyafram komşu pediselleri birbirine bağlar (36).

Pediseller bazal laminaya α3β1 integrin ve distroglikan ile tutunurlar. Bir podositten uzanan pediseller birden fazla kapillerlere kenetlenir. Filtrasyon yarık diyaframı, homofilik bir şekilde etkileşen nefrin moleküllerinden ve nefrinle ilişkili transmembran proteinleri Neph1 ve Neph2'den oluşur (38). Ayrıca ikinci bir molekül olan p-kaderinin filtrasyon yarığı membranında bulunduğu gösterilmiştir.

Podosit sitoplazmasında membranın kasılabilmesini sağlayan aktin mikrofilaman demetleri bulunur. Bu aktin demetleri, adaptör proteinler olan ZO-1, katenin ve CD2AP ile slit membrana, integrinler ve distroglikanlar ile de glomerüler bazal membrana bağlanırlar (36).



Şekil 10: Podosit, pedisel ve filtrasyon yarıklarının görüldüğü Bowman kapsülünün visseral epiteli, taramalı elektron mikroskobi (SEM) görüntüsü (41)

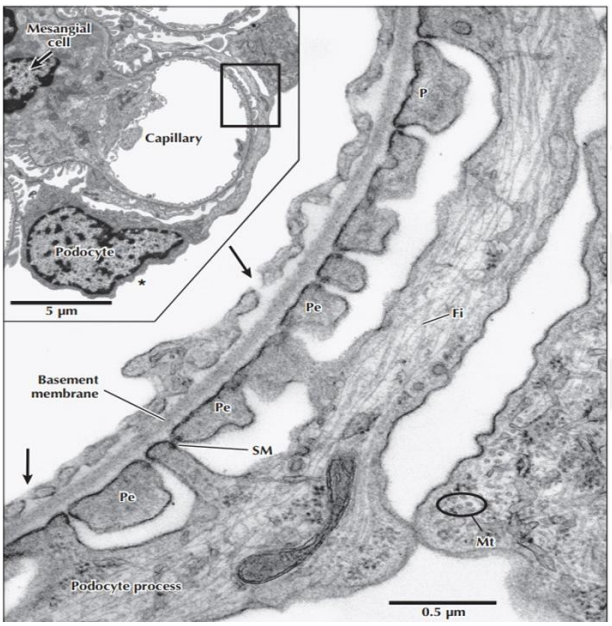
Glomerüler bazal membran, glomerül kapillerindeki pencereli endotel hücreleri ile Bowman kapsülünün visseral tabakasının hücreleri olan podositler arasında kalın (300-370nm) bir bazal membran bulunmaktadır (28). Kalınlığı nedeniyle Periyodik asit-Schiff (PAS) boyamada belirgin şekilde görünür. Bazal membran, podositlerin bazal laminası ve endotel hücrelerinin bazal laminasının kaynaşması sonucunda oluşur. Bu membran idrar boşluğu ile kapillerdeki kanı birbirinden kesintisiz olarak ayıran tek yapıdır. Bazal laminanın dinamik bir yapısı vardır, sürekli değişikliğe uğrar. Podositler sentez yönünden aktif rol oynarken endotel hücreleri ve mezengiyal hücreler de bazal laminanın yapımında rol oynar (35).

Elektron mikroskobuyla incelendiğinde bazal membranda, lamina densa denilen elektron yoğun bir orta katman ve bu katmanın her iki yanında elektron geçirgen lamina rara interna ve eksterna bulunmaktadır. Lamina rara eksterna, podosit çıkıntılarına komşudur. Lamina rara interna ise kapiller endoteline komşudur.

Lamina densa, iki bazal membranın üst üste binme bölgesidir ve lamina raralar arasında yer alır. Ağ şeklinde bir yapıdır ve yapısında negatif yüklü bir proteoglikan olan ve katyonik moleküllerin geçişini engelleyen heparan sülfat içeren bir matriks, Tip IV kolajen ve laminin bulunmaktadır. Tip VIII kolajen, perlekan ve agrin glomerüler bazal membrandaki anyonik yüklerin büyük kısmından sorumludur (28). Lamina rara katmanında laminin, fibronektin, heparan sülfattan zengin

polianyonik bir proteoglikan içerir. Tip IV kolajen, laminin ve fibronektin, pedisel ve endotel hücrelerinin lamina densaya bağlantısının korunmasını sağlar. Podositlerin bazal membrana güçlü yapışmasında ise α3β1 integrin, fibronektin, laminin etkindir (28,36,38).

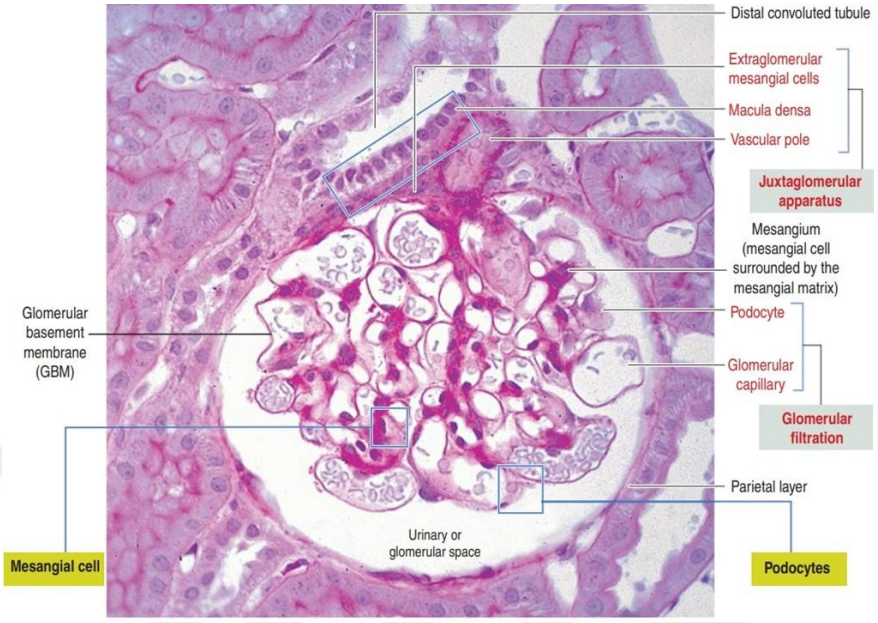
Lamina densa fiziksel bir filtre olarak işlev görür. Lamina raradaki anyonik bölgeler elektriksel engel oluştururlar bu nedenle seçici bir makromoleküler filtredir (36). Ayrıca bazal membranın antijenik özelliği de vardır (35).



Şekil 11: Bowman aralığı; mezengiyal hücre, podosit, pedisel (Pe), slit membran (SM), podositte mikrotübül (Mt) ve sitoplazmik filamet (Fi) ağı, bazal membran, kapiller endoteli ve fenestraları (siyah okla işaretli); transmisyon elektron mikroskobi (TEM) görüntüsü (33)

Glomerüler kapillerler, glomerülün esas yapısını oluştururlar ve büyük bir kısmı üriner sahaya doğru şişkinlik yapar. Afferent arteriyoller böbrek cisimciğine girdikten sonra 4-5 ana dala ayrılır. Bunlar da daha küçük kapillerleri (ortalama 20 tane) oluşturur. Düzensiz seyirli kapillerler birleşerek, arteriyola afferensiayı oluşturur. Ayrıca afferent ve efferent arteriyoller arasında direk şantlar bulunur. Arteriyola afferensiyalar daha büyük çaplıdır. Bu nedenle kapiller içindeki kan basıncı oldukça yüksektir. Efferent arteriyollerin ise afferentlere göre lümeni daha dardır. Duvarında bulunan kalın sirküler kas tabakasının kontraksiyonu glomerül içi kan basıncını artırır (35). Kapiller ağın (rete capillare glomerulare) oluşmasıyla glomerülller şekillenir. Glomerül kapiller endoteli hücre gövdesi yassıdır ve glomerüler hücrelerin %32-34'ünü oluştururlar. Glomerüler kapiller endoteli geniş, çok sayıda ve düzensiz

fenestra içerir. Fenestralarda diyafram yoktur. Endotel hücrelerinde su geçişine imkân sağlayan aquaporin-1 (AQ-1) kanalları bulunur (28,36).



Şekil 12: Glomerül (38)

Glomerüler filtrasyon bariyeri, kapiller içindeki kan ile Bowman aralığı arasında yer alan yapılardan oluşur. Bu yapılar, yassılaşmış, pencereli kapiller endoteli, bazal lamina, pediseller arası filtrasyon yarıklarıdır (35).

Bariyerin görevi plazma ultrafiltratındaki moleküllerin geçişini denetlemektedir. Denetimi sağlayan diğer etkenler ise boyut ve elektrik yüküdür. Pozitif yüklü ya da nötr olan ve 3,5 nm' den daha küçük olan moleküller, daha kolay süzülürken 3.6 nm boyutunda ve negatif yüklü albumin zor geçer.

Erişkin bir kişide her iki böbreğe gelen kan, dakikada 1,2-1,3 litredir. Bu da vücutta dolaşan tüm kanın her dört-beş dakikada bir böbrekten geçmesi anlamına gelmektedir. Glomerül süzüntüsü, kanın hidrostatik basıncına yanıt olarak oluşmaktadır. Bu basını dengeleyen, kolloidlerin oluşturduğu onkotik basınç ve Bowman kapsülü içindeki sıvıların hidrostatik basıncıdır. İdrar (ultrafiltratın) bileşimi kan plazmasına benzer ancak glomerül duvarından makromoleküller geçemediğinden dolayı hemen hemen hiç protein içermez (28,36,38).

Mezengiyum, glomerül içi (intraglomerüler) bir yapıdır. Glomerüler kapillerler arasında bulunan mezengiyal hücreler ve mezengiyal matriksten oluşur.

Aynı zamanda mezengiyal hücreler, maküla densa ile afferent ve efferent arteriyollerle sınırlandırılan glomerül dışı bir bölgede de toplanırlar. Bunlara ekstraglomerüler mezengiyal hücreler denilmektedir. İntraglomerüler mezangiyal hücreler, ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerle devam edebilirler. İntraglomerüler mezengiyal hücreler, makrofajlar ve düz kas hücrelerinin özelliklerine sahip özelleşmiş perisitlerdir. Çekirdeklerinin çok koyu boyanması sayesinde endotel hücrelerinden ayırt edilir. Kısa sitoplazmik uzantıları vardır. Bu uzantılar endotel hücresi ve bazal membran arasındaki aralığa sokulabilir, nadiren uzantılar kapiller lümene ulaşır. Sayıları çok olmamakla birlikte bazı patolojik durumlarda çoğalırlar (35).

Fagositik işlevleri sayesinde bazal membran bileşenlerinin korunmasına yardım ederler. Ayrıca bazal membranı desteklerler. Bu hücreler; kasılma, fagositoz yapma, çoğalabilme, matriks ve kolajen lif sentezleme, prostaglandinler ve endotelinler gibi biyolojik olarak aktif maddeleri salgılama yeteneğine sahiptirler. Mezengiyal hücreler, glomerüler süzme sürecine katılırlar ve bu süreçte; kasılabilme özellikleri ile kan akışını düzenlerler, prostaglandin ve endotelinleri salgılarlar, glomerüler kapiller için mekanik destek sağlarlar, fagositik özellikleri sayesinde glomerüler bazal lamina gereçlerinin dönüşümünü denetlerler ayrıca anjiyotensin II' ye yanıt vererek glomerül içerisindeki kan akımını azaltırlar. Endotelinler, afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin kasılmasını uyarırlar. Süzme bariyerini geçemeyen komplement moleküller, immünoglobulinler mezengiyal matrikse girebilirler. Matrikste biriken immünoglobulin bileşikleri mezangiyal hücrelerce glomerülusun tıkanmasına neden olan immün yanıt tetikleyici sitokinlerin üretimini arttırır (28,36,38).

2.3.6. Böbrek tübülleri

Glomerüler ultrafiltrat böbreğin ürinifer ve toplama tübüllerinden geçerken, aktif ve pasif absorbsiyonunun yanında salgılamayı da içeren bir seri değişiklik geçirir. Ultrafiltrattaki maddelerin bazıları kısmen (su, sodyum, bikarbonat…), bazıları ise tamamen (glukoz…) geri emilir. Ayrıca tübül hücrelerinin salgı fonksiyonu ile de ultrafiltrata bazı maddeler (kreatinin, organik asitler ve bazlar…) de eklenir (28).

2.3.6.1. Proksimal tübül

Malpighi korpüskülünün idrar kutbunda, yassı pariyetal epitel proksimal tübülün kübik epiteli ile devam eder. Bu kısma boyun denir (35). Boyun 14 mm uzunlukta, 50-60 μm çapındadır. Bir kıvrıntılı (pars konvoluta), bir de düz (pars rekta) parçası vardır (36).

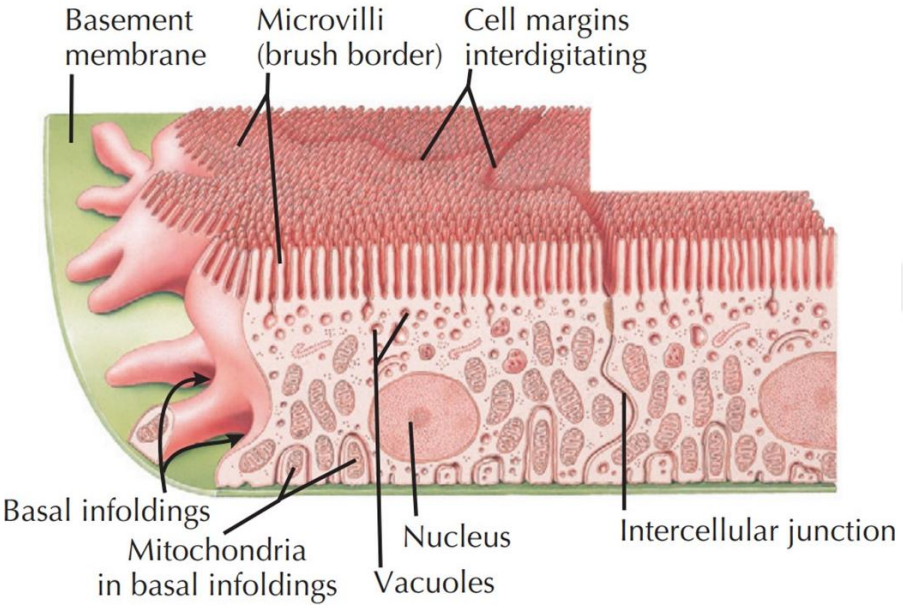
a. Proksimal kıvrımlı tübül (pars kontortus tübülüs proksimalis, pars konvoluta):

Renal korpüskülden başlar ve çok sayıda kıvrım yapar. Kıvrıntılar kapsüler yüzeye doğru geniş bir ans yapar. Daha sonra geri dönerek renal korpüsküle yaklaşır ve Ferrein piramitin içine girerek Henle ansı ile medullaya doğru ilerler. Nefronun en uzun, en kıvrımlı ve en geniş parçasıdır. Bu nedenle korteks kesitlerinde oblik ve transfers olarak sıkça rastlanır. Korteksin kortikal labirent bölgesine yerleşmişlerdir. Distal kıvrımlı tübüllerden daha uzundurlar, renal korpüsküllerin yanında daha sık görülürler (35,36). Ultrafiltrat geri emiliminin başladığı ve büyük kısmının yapıldığı yerdir.

Proksimal kıvrımlı tübülleri (PKT) apikal sıkı bağlantılarla bir arada tutulan kübik epitel hücreler döşer. Hücreler PAS (+) boyanan iyi gelişmiş bir bazal lamina üzerine oturmuştur. Bu hücreler geri emilim için uygun yapısal özellikler sergilerler. Hücrelerin apikal bölgeleri sıkı paketlenmiş uzun mikrovillusların oluşturduğu fırçamsı kenar ile kaplanmıştır (28,35,36,38). Mikrovillusların apikal yüzeyi glikokaliksle kaplanmıştır. Bu nedenle PAS (+) reaksiyon verir (28). Mikrovillusların tabanları arasında bulunana çok sayıda kanalcık ve vezikül vardır. Bunlar endositoz ve pinositozun gerçekleştiğini gösterir ve makromoleküllerin emiliminde görev alırlar. Makromoleküller lizozomlarda parçalanarak pinositoz vezikülleriyle kaynaşırlar ve oluşan monomerler (geri emilmiş proteinler ve aminoasitler) dolaşıma geri döner (40). Proksimal tübül hücreleri bazalinde birçok zar katlanmaları yaparken, lateralde komşu hücrelerle parmaksı çıkıntılar aracılığıyla testere dişi şeklinde kenetlenir. Bu nedenle ışık mikroskobik incelemelerde hücreler arasındaki sınırları tespit etmek zordur (35,40).

Tübül lümeni genelde dardır. Lümen çapı medullaya yaklaştıkça artar. Lümen yıldız şeklinde kıvrıntılı ya da uzundur. Nükleus büyük, küre biçimli ve

soluktur (35). Golgi kompleksi çekirdeğin üst ve yan kısmında yerleşiktir. Tübül epitel hücreleri çok sayıda mitokondriyon içerdiğinden dolayı sitoplazma asidofiliktir. Proksimal kıvrıntılı tübül hücrelerinde mitokondriyonlar iyi gelişmiştir ve çok sayıdadırlar. Bazal sitoplazmada bazal hücre zarına dik olarak birbirine paralel sıralanmış uzun mitokondriyonlar bölgenin ince çizgili görünmesine neden olurlar. Elektron mikroskop ile incelendiğinde bazal hücre zarının sitoplazma içine doğru intrasitoplazmik membranlar olarak adlandırılan katlantılar yaptığı görülür. Bu membranlar anastomoz yaparak, bazal sitoplazmayı içerisinde mitokondriyonlar bulunan bölmelere ayırırlar. Bölmeler ve mitokondriyonlar işlevsel birim oluştururlar. Bu özellikler hem sekretuvar hem de absorbtif aktif transport için gerekli enerjinin sağlanmasıyla ilgilidir (36).



Şekil 13: Proksimal tübülün şematik çizimi (33)

Bazolateral zarlarda bulunan Na+/K+ ATPaz (sodyum potasyum pompası) plazma membranının lateralinde yer alan bir transmembran proteinidir. Suyun geri emilimi için itici güç olan Na^+'un geri emiliminden sorumludur. Aquaporin-1 (AQP1) kanalı ise moleküler bir su kanalı olarak görev yapar. Transmembran proteindir ve suyun bu kanal içinde hareketi Na^+/K^+-ATPaz pompalarının ürettiği yüksek enerjiyi gerektirmez (28). Su geri emilimi için yönlendirici kuvvet, NaCl ve glukoz gibi katıların geri emilimi ile sağlanan transsellüler osmotik gradyandır. Su, osmoz ile sıkı bağlantılar arasından (parasellüler yol) yan hücrelerarası boşluğa geçer ve burada

oluşan hidrostatik basınç artışı sıvı ve katıları kapiller ağ içine doğru hareket etmeye zorlar (28,36,38,39).

Ultrafiltrattan sodyum klorit ve suyun %85 ya da fazlası geri emilerek filtrat hacmi azaltılır. Normalde glukozun tamamı geri absorbe edilirken kan şekerinin yüksek olduğu durumda absorbsiyon kapasitesinin üstüne çıkılır ve idrarda glukoz bulunur. Aminoasit, protein, C vitamini, inorganik iyonlar da proksimal tübülden geri emilir. Bazı maddeler ise lümene geri verilir (eksresyon). Bu nedenle kreatinin, değişik boyalar (diodrast, fenol kırmızısı gibi) klinikte tübüler fonksiyonu değerlendirmek için kullanılır (35).

b. Proksimal düz tübül (Tubulus rectus proximalis, Pars rekta):

Medullar uzantılar içinde ve dış meduller bölgede bulunurlar. Henle kulpu' nun inen kolunun başlangıç bölgesidirler. Proksimal kıvrıntılı tübüle kıyasla lümenleri daha geniştir. Lümeni çevreleyen epitel hücreleri kübik şekillidir apikal yüzlerindeki mikrovilluslar seyrelmiştir. Bazal kısımlarındaki intrastoplazmik membranlar neredeyse kaybolmuştur. Bu bölgedeki mitokondriyonlar az sayıda ve yuvarlak şekillidirler. Apikal invajinasyon ve endositik veziküller, lizozom sayıları daha azdır (28).

2.3.6.2. Henle kulpu:

Ultrafiltrattaki suyun %15 ve NaCl, K^+, Ca^+, ve HCO^-_3'ın %25 kadarının geri emilimi yapılır. Proksimal ve distal tübüller arasındaki U biçimli tübüler bölümdür. İnen ve çıkan kollardan oluşur. Her kol ince ve kalın parça içerir. Kalın inen parça proksimal tübülün devamı iken kalın çıkan kol distal tübülle devam eder (38). İnce parça kortikal nefronlarda kısa iken jukstamedüller nefronlarda uzundur. İnsanlarda kısa anslı nefronlar yaklaşık %80-90 oranındadır. Az miktarda Na^+'u reabsorbe ederler (tuz kaybeden nefronlar).

Henlenin ince kolu yassı hücrelerle döşelidir. Bu nedenle lümeni geniştir (12 µm). Hücreler bazal lamina üzerine oturmuştur. Çekirdekleri H&E ile soluk boyanır ve lümene doğru kabartı yapar (35). İnce segmentlerin elektron mikroskobik incelemeleri hücreler arasında farklılıklar olduğunu ortaya koymuştur. Buna göre Tip I, II, III, IV olmak üzere 4 tip epitel hücresi tanımlanmıştır.

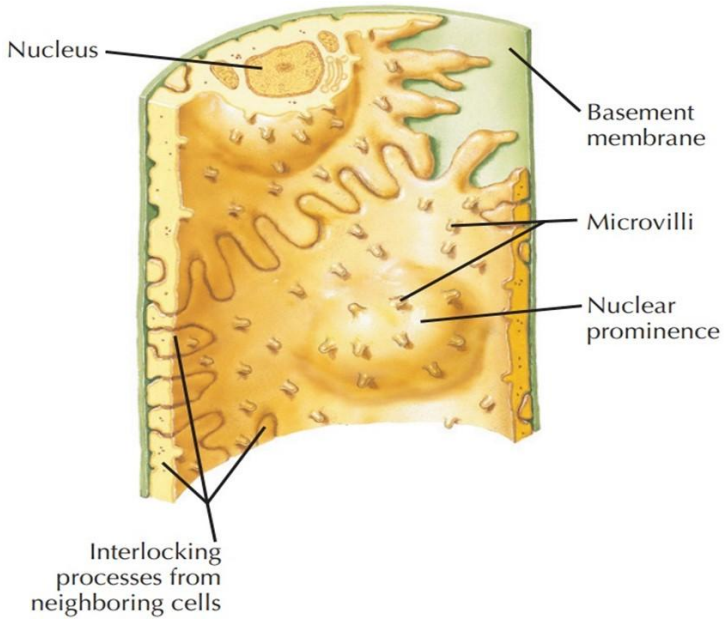
Tip I epitel: kısa kulplu nefronlarda bulunur. Komşu hücreler birbiriyle neredeyse hiç interdigitasyon yapmaz. Organelleri azdır.

Tip II epitel: kortikal labirentteki uzun nefronların inen ince kollarında bulunur. Daha uzun boylu epiteldir. Organeli çoktur ve birçok küçük, künt mikrovillusları vardır. Komşu hücrelerle lateral interdigitasyon derecesi türe göre değişir.

Tip III epitel: iç medulladaki inen ince kolda bulunur. Daha ince bir epiteldir. Tip II epitele göre mikrovillusları azdır. Lateral interdigitasyon yapmazlar.

Tip IV epitel: uzun kulplu nefronların dönüş yerinde ve çıkan ince kollarda bulunur. Organeli az, mikrovillussuz, alçak, yassı epiteldir (28,36).

Çıkan kol suya geçirgen değildir. Su geri emilimi çoğunlukla inen kolda, tübüler ve intersitisyel sıvı arasındaki osmotik gradyanla gerçekleşir. Çıkan kolda katıların geri emiliminde Na^+/K^+-ATPaz pompasının önemli yeri vardır. Bu pompanın bazı diüretik ilaçlarla inhibe edilmesi NaCl'ün geri emilimini engelleyerek medulladaki intersitisyel sıvının ozmolaritesini azaltır. Böylece NaCl ile suyun idrarla atılımı kolaylaşır (38).



Şekil 14: Henle kulpu şematik çizimi (33)

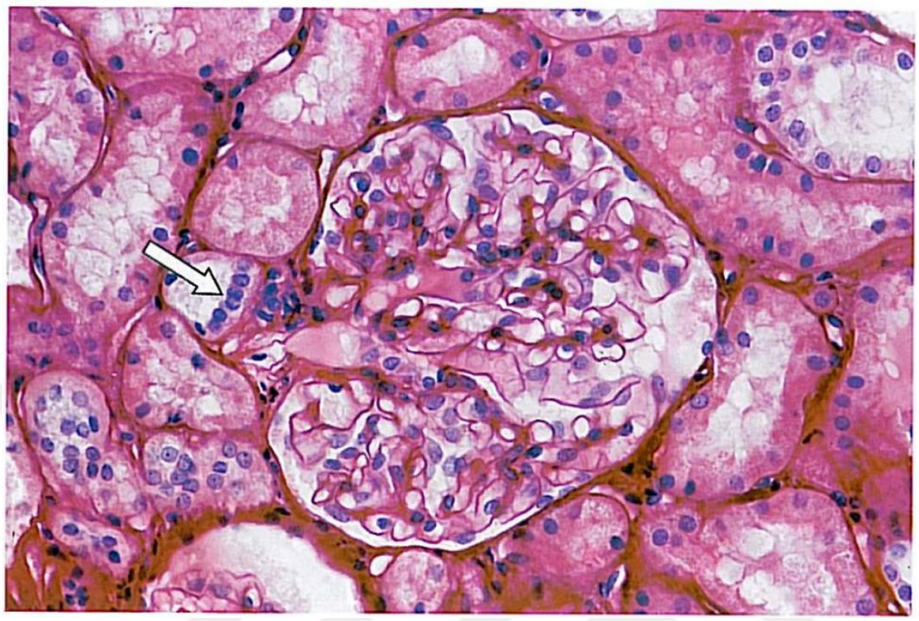
2.3.6.3. Distal tübül

Distal tübüller düz parça (Tubulus rectus distalis, Pars rekta), çok kısa maküla densa ve kıvrımlı parça (Tubulus contortus distalis, Pars kontorta) olmak üzere 3 segmenttir. Medullada Henle kulpunun ince kolundan sonra distal tübülün düz parçası başlayarak kortekse geçer. Meduller ışınlar içinde seyreder ve kendi renal korpüskülünün damar kutpuna temas eder. Temas yerinde koyu boyanmış bir grup kübik hücre maküla densayı oluşturur. Distal tübüller proksimal tübülerden daha küçük ve daha az eozinofilik kübik hücrelerle döşelidir. Lümenleri daha geniştir ve mikrovillusları nadiren, kısa ve kalın olarak görülür. Bu nedenle proksimal tübülerden kolayca ayırt edilebilirler (36).

Distal düz tübüller (Tubulus rectus distalis, Pars rekta): Henle kulpu' nun çıkan kolunu oluşturur. Dış medullar bölge ve medullar uzantılarda bulunur. Lümeni döşeyen tek katlı kübik epitel eozin ile açık renk boyanır. Nükleus apikal bölgeye yerleşmiştir ve bu alanda hücrenin lümene doğru şişmesine neden olur. Fırçamsı kenar içermez. Seyrek dizilimli küçük mikrovilluslar bulunur. Bazal intrasitoplazmik membran ve mitokondriyonlar ise belirgindir. Apikal hücre membranı Cl^-, Na^+ ve K^+'un hücreye girişine olanak veren elektronötral taşıyıcılara (synporter) sahiptir. (28) Viral hemaglütinasyonu inhibe eden Tamm Horsfall (üromodülin) proteini distal düz tübül hücrelerinde fazlaca üretilmektedir. Bu protein ürinde en fazla bulunan glikoproteindir. Renal sıvılarda Ca^+ kristalizasyonunu engeller. Ayrıca üriner enfeksiyonlara karşı defans sağlar (36).

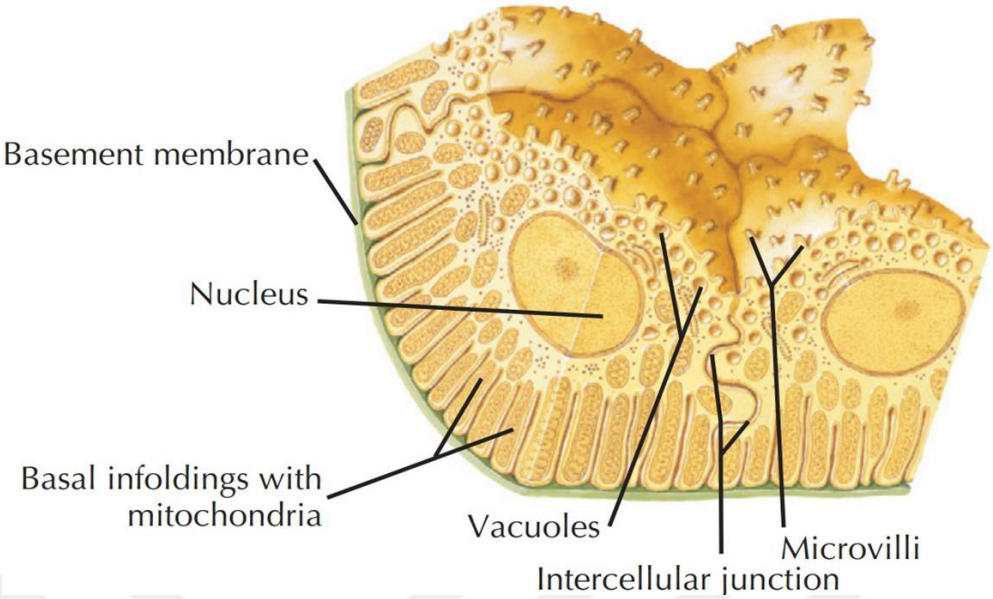
Maküla densa: Distal tübülün kısa, özelleşmiş bölgesidir. 20-30 özellleşmiş hücre içerir. Bazal yüzeyi ekstraglomerüler mezengiyum, afferent ve efferent arteriyollere dayanır. Bu bölgede distal kıvrımlı tübül epiteli hücreleri sık olarak dizilen dar ve yüksek boylu hücrelerden oluşan prizmatik epitele dönüşür ve çekirdekleri bir araya toplanır. Bu kısım hücrelerin yüksekliği ve çok sayıda hücre çekirdeği olması nedeniyle lümene çıkıntı yapan yoğun bir plak oluşturur. Golgi kompleksi hücrenin bazal bölümünde infranüklear pozisyonda yerleşiktir. Hücre çekirdeklerinin yakın yerleşimi nedeniyle daha koyu görünür. Maküla densa hücreleri interdigitasyon yapmazlar. Düz endoplazmik retikulum (DER) ve bol miktarda serbest ribozom içerirler. Maküla densa hücreleri tübül içi sıvıda klorür iyon (Cl^-) içeriğine ve su hacmine duyarlıdır. Maküla densa hücreleri dolaşıma renin salgılanmasını başlatan

moleküler sinyaller üretirler. Böylece ultrafiltratın ozmolaritesini, hacmini ve Na^+ düzeylerini düzenler. Maküla densadaki hücrelerin yüzeyinde Tamm Horsfall proteinleri bulunmaz (36,38).

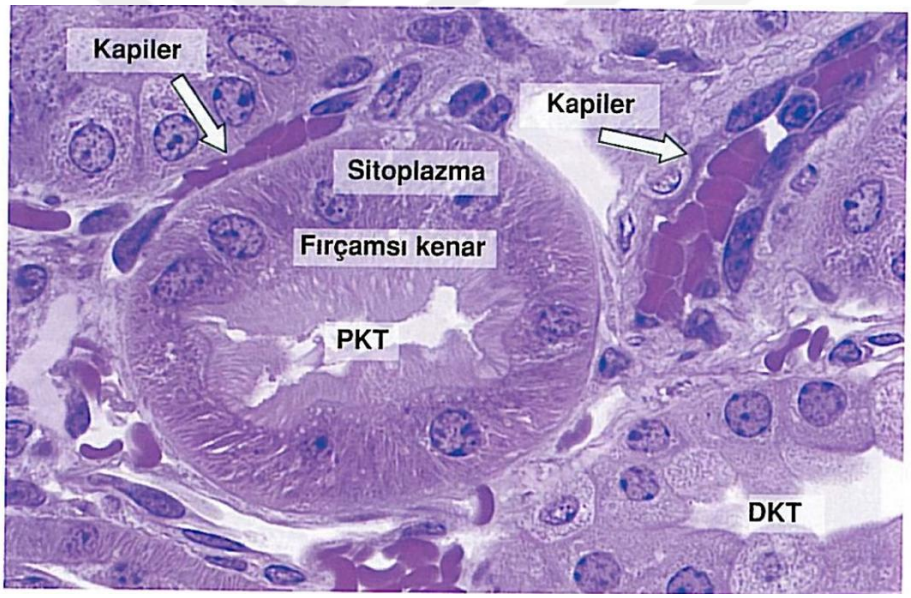


Şekil 15: Maküla densa, Pikrosirius-Hematoksilen (PSH) boyama (39)

Distal kıvrıntılı tübül (Tubulus contortus distalis, Pars kontorta): Henle kulpu'nun çıkan kalın kolu korteks katmanına girer, kıvrımlar oluşturur ve tek katlı kübik epitel ile döşeli distal kıvrıntılı tübül oluşur. Proksimal tübüle göre distal tübül daha kısa ve az kıvrıntılıdır. Lümeni düzgün ve geniştir. Distal ve proksimal kıvrıntılı tübüller kortekste bulunurlar ancak distal kıvrıntılı tübüller apikal yüzlerinde fırçamsı kenar ve apikal kanal içermezler aynı zamanda apikal veziküller azdır. Hücreleri daha küçüktürler ve açık renk boyanırlar. Proksimal tübüldeki gibi bazolateral hücre katlantıları ve buralarda mitokondriler içerir. Aldosteronun düzenleyici rolü altında Na^+ ve K^+'u değiştirerek Na^+ geri emilimi sağlar. HCO_3^- geri emilimi ve H^+ sekresyonu ile idrarı asidik hale getirir. Ayrıca amonyum sekresyonu ile de böbreğin asit atma ve bikarbonat üretme ihtiyacını karşılarlar (28,38).



Şekil 16: Distal tübülün şematik çizimi (33)

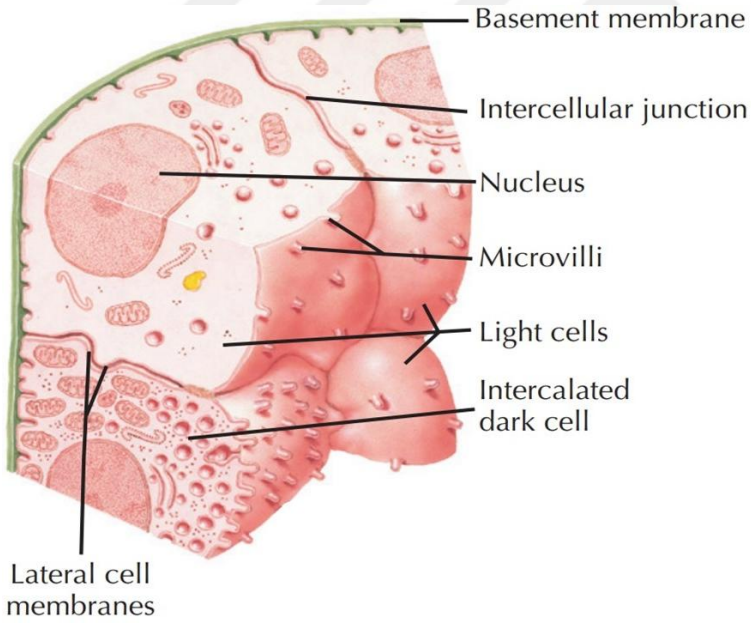


Şekil 17: Proksimal kıvrımlı tübül (PKT) ve distal kıvrımlı tübül (DKT), H&E boyama (39)

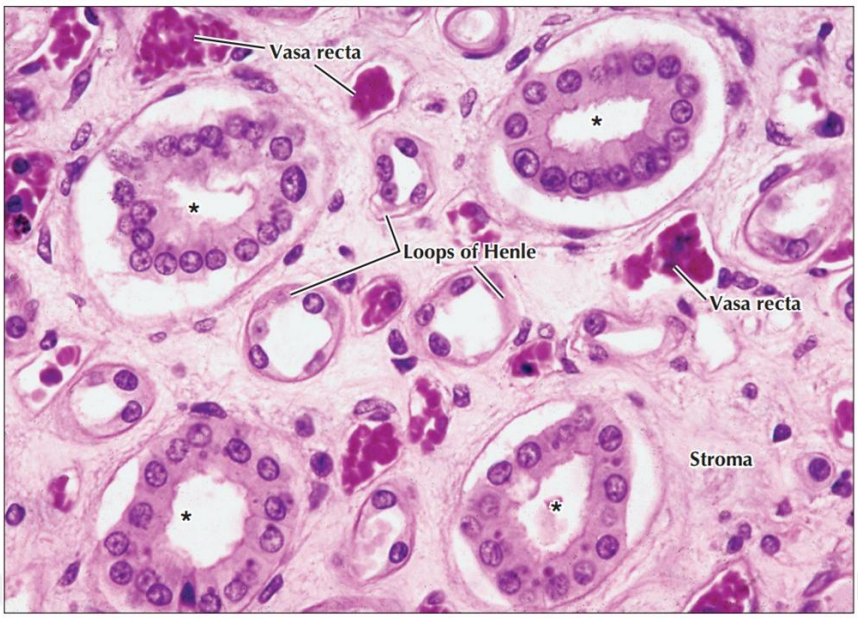
2.3.6.4. Toplayıcı tübüller

Distal kıvrıntılı tübüller toplayıcı tübüllere açılırlar, bunlar daha büyük ve düz şekilli toplayıcı kanallara açılırlar. Bu kanallar Bertini papiller kanalları olarak isimlendirilir ve medulla piramitlerinin uçlarına doğru gittikçe genişlerler. Küçük toplayıcı tübüller, yaklaşık 40 µm çapındadır kübik epitel hücreleri ile döşelidirler. Medullanın derinliklerine indikçe toplayıcı tübül hücrelerinin boyları uzar ve çapları 200 µm' ye varan prizmatik epitel hücreleri bulunur. Toplayıcı kanalların çapı medulla

piramitlerinin ucuna yakın bölgede artar, dar açılar oluşturarak birleşip duktus papillarisleri oluştururlar. Bu yapılar da kalikslere ve pelvis renalise açılır. Toplayıcı tübül ve kanal hücreleri açık renk boyanırlar. Organelleri azdır. Toplayıcı tübüllerde esas hücreler ve interkalat hücreler olmak üzere iki hücre tipi bulunmaktadır. Esas hücrelerin organel içeriği az olduğundan sitoplazmaları daha soluktur. Çekirdek oval ve merkezi yerleşimlidir. Mikrovillusları seyrektir, az sayıda katlantı ve mitokondriyon içeren bazolateral yüzü vardır. Na^+ ve suyu geri emerler ve Na-K ATPaz pompasına bağımlı durumdaki K^+' u salgılarlar. İnterkalat hücreler H+ iyonu ya da $HCO3^-$'ı salgılarlar. Asit-baz dengesinin önemli düzenleyicileridir. Bu hücreler daha fazla organele sahiptirler ve yoğun sitoplazmalıdırlar. Esas hücrelere göre daha az sayıdadırlar. Apikal hücre zarında küçük mikroplakalar, apikal kısımda 50-200 nm çapında çok sayıda vezikül ve oldukça fazla mitokondriyon içerirler. Çekirdekleri yuvarlak ve merkezi yerleşimlidir (28).



Şekil 18: Distal tübülün şematik çizimi (33)



Şekil 19: Toplayıcı tübüller (*), Henlenin ince kolu; H&E boyama (33)

2.3.6.5. Jukstaglomerüler aparat

Jukstaglomerüler aparat, maküla densa, jukstaglomerüler hücreler (epiteloid hücre), ekstraglomerüler mezengiyal hücrelerden oluşan küçük bir endokrin yapıdır. Renal korpüskülün damar kutbunda, distal düz tübülün son kısmı ile afferent ve efferent arteriyollerin direk komşuluğunda yer alır (28,35,36,38).

Böbrek cisimciğinin hemen bitişiğinde, afferent arteriyolün (ve bazen efferent erteriyolün) tunika mediasında değişmiş düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücreler polimorfik görünümdedir ve sitoplazmik granüller içerirler. Nükleusları küre şeklindedir. Bu hücrelere jukstaglomerüler (JG, epiteloid hücre) hücreler adı verilir (28,36). 8-15 kadar hücredirler. Bu hücrelerin bulunduğu yerde afferent arteriyolun membrana elastika internası görülmez. Bu nedenle jukstaglomerüler hücreler endotel bazal membranıyla komşudurlar. Ayrıca maküla densa hücreleri ile de yakın temastadırlar ve bu temas bölgesinde bazal lamina da ortadan kalkmıştır. Sitoplazmaları bazofiliktir ve Sitoplazmalarında bulunan salgı granülleri PAS (+) boyanır. Bu salgı granülleri proteolitik bir enzim olan renin içerir. Jukstaglomerüler hücreler renin aktivitesi gösterir ve renin hormonunu afferent arteriyolün lümenine salgılar (36). JG hücrelerce salgılanan renin, karaciğerde üretilen bir plazma proteini olan Anjiyotensinojeni inaktif dekapeptit olan Anjiyotensin I'e dönüştürür. Anjiyotensin I, akciğer endotel hücrelerinde yüksek yoğunlukta bulunan dönüştürücü

bir enzim (ACE) etkisiyle, iki aminoasitini yitirerek etkin vazopresif bir oktapeptit olan Anjiyotensin II' ye dönüşür. Anjiyotensin II arteriyolleri daraltılır ve aldosteron salgısı artarak kan basıncının düşmemesi sağlanır. Aldosteron böbrek tübül hücrelerini etkileyerek sodyum ve klor iyonlarının geri emilimini artırır. Böylece sıvı hacmi artar ve kan basıncı yükselerek hipotansiyon düzenlenir (28,38).

Jukstaglomerüler aparatın bir diğer elemanı maküla densadır. Distal tübülün bazal yüzeyi ekstraglomerüler mezengiyum, afferent ve efferent arteriyollere dayanan, 20-30 özelleşmiş hücre içeren, kısa, özelleşmiş bölgesidir (28,36). Bölüm 2.3.6.3.'te ayrıntılı anlatılmıştır.

Jukstaglomerüler aparatta ayrıca açık renk sitoplazmalı ve glomerül dışı mezengiyal hücreler (Lakis, Polkissen, Goormaghtigh hücreleri, kutup yastıkçığı) olarak adlandırılan hücreler bulunur. Bu ekstraglomerüler mezengiyal hücreler afferent-efferent arteriyol ve maküla densa arasındaki üçgen sahada bazal membrana benzer bir madde içine gömülmüş olarak bulunurlar. Sitoplazmik çıkıntıları bulunan küçük hücrelerdir. Glomerül içindeki mezengiyal hücreler gibi myoepitelyal hücrelere benzerler. Fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. Ancak eritropoietin hormonu salgıladıkları öne sürülmüştür (35,36).

2.3.6.6. Böbrek ara dokusu (intersitistum)

Böbrek parankiminde intersitisyel doku olarak adlandırılan bağ doku nefronları, tübülleri, kan ve lenf damarları arasındaki boşlukları doldurur. Korteksten medulla ve papillanın iç bölgelerine doğru hacmi artar (%7'den %20'ye). İntersitisyumda özelleşmiş intersitisyel hücreler vardır. Kortekste, tübüllerin bazal membranı ile komşu peritübüler kapillerler arasında bulunan fibroblast benzeri hücreler ve makrofajlardır. Fibroblastlar, intersitisyum ekstrasellüler matriksinin kolajen ve glikozaminoglikanlarını üretiler (28,36). Yakın zamanda eritropoietin ürettikleri öne sürülmüştür (36).

Medullada esas intersitisyel hücreler myofibroblastlara benzemektedir. Tübüllerin uzun eksenine paralel yerleşerek bunlara kompresyon uygularlar. Aktin filament demetleri, granüllü endoplazmik retikulumları, golgi kompleksi ve lizozomları vardır. Sitoplazmalarında lipit damlacıklar görülür (28). İntersitisyel

hücrelerin birbirleriyle temas noktalarında oluklu bağlantılar (gap junctionlar) gözlenmiştir (36).

2.3.6.7. Böbreklerin türler arası farklılıkları

Laboratuvar hayvanları ile insanlar arasındaki böbrek makroskobik ve mikroskobik anatomisindeki türler arası ve cinsiyete bağlı farklılıklar, test maddesiyle ilişkili böbrek değişiklikleri ve patolojilerini değerlendirirken ve yorumlarken dikkate alınmalıdır. Örneğin, insanlardaki böbrek medullası multipapiller (multilobüler) yapıdadır çünkü 8 ila 18 konik kütleye (piramit, lob) ayrılmıştır. Benzer şekilde, minidomuzların multilobüler böbrekleri vardır. Sıçan, fare, köpek ve cynomolgus maymunlarının böbrekleri unipapillerdir, yani tek renal piramidi vardır. Ayrıca, insanlar da dahil olmak üzere çoğu memelide basit renal medulla (yani, sadece inen ve çıkan vasa recta'dan oluşan vasküler demetlere sahip) anatomik yapısı mevcuttur. Ancak, yüksek idrar yoğunlaştırma yeteneğine sahip memelilerde (örn. sıçan ve fare), kompleks bir böbrek medulla (vasküler dallarla yakın ilişkide olan kısa kavisli inen ince kollar) mevcuttur. Bu nedenle, insanlar yaklaşık 300 mOsm/kg'a kadar bir ozmolaliteye sahipken, sıçan ve farelerin idrar ozmolalitesi 4.300 mOsm/kg'a kadar çıkabilir ve bu, örneğin, kemirgenlerde bulunan ve insanlarla ilgili olmayan bir bulgu olan ilaçla ilişkili böbrek kristalürisi oluşumunu etkileyebilir. Fare böbreklerinin medullasında uzun Henle halkaları ve ilişkili vasa recta bulunur. Sıçanlarda, dış şerit çok iyi gelişmiştir ve dış medulla'nın yaklaşık üçte birini oluşturur, insanlarda ve insan olmayan primatlarda çok incedir ve köpeklerde neredeyse tamamen yoktur. Köpeklerde, tüm nefronlar uzun kıvrımlı çeşittedir, buna karşın sıçanlarda ve farelerde uzun kıvrımlı nefronlar toplam nefronların %28'ini oluşturur. Hem erkek hem de dişi farelerde normal eşeysel dimorfizm görülebilir (örneğin, erkeklerde dişilerden daha büyük renal korpüsküller görülür). Erkek farelerin böbreğindeki Bowman kapsülünü döşeyen epitel kübikken, dişilerde epitel basit skuamözdür. Bu, ilaç kaynaklı epitel hiperplazisi ile karıştırılmamalıdır. Ayrıca, diğer türlerin aksine, fareler normal fizyolojik koşullar altında idrarla büyük miktarda protein atarlar; idrarları taurin içerir ve triptofan içermez, ayrıca idrarla kreatinin atarlar. Yetişkin tavşanların idrarları normalde bulanıktır çünkü diyetlerindeki kalsiyumun çoğu emilir ve bunu böbrekler yoluyla atarlar (37).

2.4. Böbrek Fizyolojisi

Böbrekler vücut sıvı ve elektrolitlerinin düzenlenmesi, hücre dışı sıvı hacminin dengelenmesi, hormonların işlenmesi (endokrin fonksiyon), kan pH'ının ve basıncının düzenlenmesi, metabolizmanın atık ürünlerinin atılması gibi metabolik aktiviteler de rolü olan organlardır. Yeterli kan akışı ve perfüzyon normal böbrek fonksiyonunu etkiler. Böbrek fonksiyonunun ölçümü, türlere göre değişen glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ile belirlenir ve afferent-efferent arteriyollerdeki patolojiler (örneğin, ilaç kaynaklı vazokonstriksiyon) GFR'yi etkileyebilir. Plazma, glomerüler ultrafiltrat üretmek için glomerülden süzülür ve ultrafiltrat Bowman boşluğuna geçer. Sadece küçük moleküler ağırlıklı moleküller glomerüler filtreden geçebilir ve küçük moleküller (örneğin amino asitler, glikoz, sodyum, potasyum, su) glomerüler ultrafiltrattan geçebilir. Plazma ultrafiltratı nefron tübülünden aşağı geçerek idrar oluşturur. Ultrafiltrat tübüler sistemde de birtakım değişikliklere uğrar (28,37,42).

Fizyolojik olarak, proksimal tübüller tüm reabsorptif aktivitenin %70'ini oluşturur. Glomerüler ultrafiltrat, proksimal tübüllerde sodyum (%65), su (%65), potasyum (%65), kalsiyum (%90), fosfat, bikarbonat, magnezyum, amino asitler (%99), glikoz (%100), vitaminler, sülfat ve düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin reabsorpsiyon sürecinden geçer. Bunlar peritübüler ve vaza rekta kılcal damarları tarafından dolaşıma geri döndürülür. İdrar yoğunlaştırma mekanizması su ve sodyum atılımını düzenlemede önemli bir rol oynar. Henle halkasının inen ve çıkan kısımları glomerül tarafından filtrelenen Na^+ ve suyun çoğunun geri kazanılmasını sağlar. Distal kıvrımlı tübül, sodyum, potasyum ve katyon homeostazında kritik bir rol oynar. Filtrelenmiş sodyumun yaklaşık %5 ila %10'unu, filtrelenmiş kalsiyumun %7 ila %10'unu, filtrelenmiş magnezyumun %10'unu ve suyun %10 ila %15'ini yeniden emer. Toplayıcı kanallar idrar hacmini ve ozmolariteyi düzenler. Toplayıcı tübüldeki ana hücreler ana hücreler vücudun su ve tuz dengesini korumaya yardımcı olur. Ara hücreler ise asit veya bikarbonat salgılar veya emer ve kan pH'ını düzenlemede önemli bir rol oynar. Bu fonksiyon plazmanın asitliğini düşürürken idrarın asitliğini artırır. Böbreklerin endokrin fonksiyonu da vardır. Böbrekler eritropoietin, kalsitriol (1,25-dihidroksikolekalsiferol) ve renin olmak üzere 3 temel hormon salgılarlar. Ayrıca prostaglandinler, büyüme faktörleri ve araşidonat metabolitleri sentezlerler. Bunun

yanında böbrekler, ksenobiyotik atılımının birincil yoludur ve ksenobiyotik biyotransformasyon enzimleri içerir (37,42).

2.5. Akut Böbrek Hasarı

Akut böbrek hasarı (ABH), dünya çapında milyonlarca hastayı etkileyen, sağlık sistemi üzerinde önemli bir yük oluşturan küresel bir halk sağlığı sorunudur (1). Richard Bright 1827'de böbrek hastalığını tanımlamıştır (43) ve sonrasında enfeksiyonlar, toksinler ve transfüzyon reaksiyonları gibi çeşitli etiyolojilerle ilişkili akut Bright hastalığının birçok vaka çalışması yayınlandı. Bywaters ve Beal'in 1941'deki ezilme yaralanmasını akut böbrek fonksiyon bozulmasıyla ilişkilendiren raporu (44), modern tıpta akut böbrek hasarı (ABH) tartışmasının başlangıç noktası olmuştur. Klinik ve laboratuvarda eden tartışma sayesinde ise daha önce akut böbrek hasarı (ABH) olarak bilinen akut böbrek yetmezliğini (ABY) anlamada önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (3).

Böbrek fonksiyonlarında kısa sürede bozulma ile karakterize bir durumdur (45). ABY için birden fazla tanım vardır, ancak en çok kabul gören tanım 2007 yılında Acute Kidney Injury Network tarafından geliştirilmiştir. Bu tanımlamaya göre, ABY, 48 saatten kısa bir sürede kreatinin seviyesinde başlangıç seviyesine göre 0,3 mg/dL'den fazla ani bir artış veya 6 saat veya daha uzun süre idrar çıkışında 0,5 mL/kg/saat'ten az bir azalmanın olmasıdır (46,47). ABH geliştikten sonra ilerleyerek klinikte Akut böbrek yetmezliği (ABY) olarak karşımıza çıkabilmektedir (3). Yüksek mortalite ve morbidite oranı ve hızlanmış kronik böbrek hastalığına gidişi ile önemli bir klinik problemdir. Bu durum iyileşerek düzelebilir veya Kronik böbrek hasarı (KBH) ve akabinde Kronik böbrek yetmezliği (KBY) gelişimine neden olabilir (48). ABY tanısı konulduktan sonra yoğun bakım ünitesinde mortalite %50'ye kadar çıkmaktadır ve ilerlemeyi tersine çevirmek veya önlemek için etkili tedavi her zaman yeterli değildir (2,46,49).

ABY glomerüler filtrasyon hızında [glomerular filtration rate (GFR)] hızlı bir düşüş olarak tanımlanır ve başta kreatinin ve kan üre nitrojeni olmak üzere nitrojenli atıkların tutulmasına neden olur (5). Yükselmiş kan üre nitrojeni (BUN) ve kreatinin ölçümleri, bu atık ürünlerin azalan klirensinin göstergesi olan azalan böbrek fonksiyonunun göstergeleri olarak işlev görürler.

Klinik olarak ABY üç ana etiyolojide gruplandırılabilir:

1-Prerenal ABY, renal parankime zarar vermeden renal perfüzyon basıncındaki azalmaya bağlı olarak GFR'de azalma ile karakterizedir. Kanama, kusma, ishal, yetersiz oral alım, yanıklar, aşırı terleme, böbrek kayıpları (örn. diürez) gibi durumlardan kaynaklanan hipovolemi; konjestif kalp yetmezliği, perikardiyal tamponad, şiddetli pulmoner hipertansiyon, sepsis, vazodilatör ilaçlar, otonomik nöropati veya anafilaksi gibi durumlardan kaynaklanan azalmış vasküler direnç (periferik vazodilatasyon); ve vazokonstriktif ilaçlardan veya hiperkalsemi gibi durumlardan kaynaklanan renal vazokonstriksiyon gibi durumlardan kaynaklanır.

2-Renal ABY, böbrekte oluşabilecek çeşitli yaralanmalar nedeniyle değerlendirilmesi zor bir formudur ve renal doku hasarıyla ilişkilidir.

3- Postrenal ABY, idrar akışında akut tıkanıklık (akut üriner sistem obstrüksiyonu durumları…) ile karakterizedir. İdrar yolu tıkanıklığı intratübüler basıncı artırır ve böylece GFR'yi azaltır (3).

Renal böbrek yetmezliği etyolojilerini değerlendirilirken tübül, glomerül, intersitisyum ve böbrek içi kan damarları olmak üzere böbreğin dört ana yapısındaki hasarı düşünmek gerekir.

Tübüler hasardan kaynaklanan ABY için Akut tübüler nekroz (ATN) terimi kullanılır ve iskemik (böbrek perfüzyonunda şiddetli veya uzun süreli azalma sonucu) ile nefrotoksik (böbrek için toksik veya potansiyel olarak toksik olan çeşitli ekzojen bileşiklerden (örn. aminoglikozidler, amfoterisin B, sis-platin, radyokontrast maddeler) ve endojen bileşikler (hemolizde hemoglobin, rabdomiyolizde miyoglobin gibi)) olmak üzere iki ana nedeni vardır (3,50). Akut tübüler nekrozun tipik histolojik özellikleri arasında vakuolleşme, proksimal tübüler hücrelerde fırça kenarının kaybı ve tübüler hücrelerin lümene dökülmesi ile bunun sonucunda kast tıkanıklığı yer alır. Lökosit infiltrasyonun eşlik ettiği interstisyel ödem tübüler dilatasyona neden olabilir. Hasar nekroz olarak adlandırılsa da nekrotik hücreler yaygın bir bulgu değildir. İleri düzey hasarda, tübül epitel hücreleri bazal membrandan ayrılarak hücre ve proteinlerin intraluminal agregasyonuna katkıda bulunur ve tübüler tıkanıklığa neden olur (50).

Glomerüler hasardan kaynaklanan ABY, akut glomerülonefritin (GN) şiddetli vakalarında ortaya çıkar. İdiyopatik hızla ilerleyen GN gibi birincil bir böbrek hastalığından veya sistemik (sistemik lupus eritematozus, bakteriyel endokardit…) bir hastalığa bağlı ortaya çıkabilir.

İntersitisyel hasardan kaynaklanan ABY için Akut interstisyel nefrit terimi kullanılır ve çeşitli ilaçlara (genellikle penisilinler, sefalosporinler, sülfonamitler gibi antibiyotikler) veya bir enfeksiyona (leptospiroz, lejyonella, piyelonefrit, Hanta virüsü…) karşı alerjik reaksiyon nedeniyle oluşan interstisyel hasardan kaynaklanabilir.

Vasküler hasardan kaynaklanan ABY, böbrek içi damarlardaki hasarın (malign hipertansiyon, ateroembolik hastalık, preeklampsi/eklampsi ve hemolitik üremik sendrom (HUS)/trombotik trombositopeni purpurası (TTP)) böbrek perfüzyonunu azaltması ve GFR'yi düşürmesi nedeniyle oluşur (3,50).

ABH değerlendirmesi ve tedavisi için standart yöntemler arasında yüksek riskli hastaların seçilmesi, erken tespit için biyobelirteçlerin ölçülmesi, hacim durumunun optimize edilmesi ve ilaçların gözden geçirilmesi yer alır. ABH'nı tahmin etmek zordur çünkü sadece birkaç neden böbrek-spesifiktir ve durum diğer sistemik anormallikler tarafından kolayca uyarılabilir. Bu nedenle de yeni biyobelirteçlerin tespiti için çalışmalar yürütülmektedir (51).

ABY'nin önlenmesi ve erken teşhisi böbrek hasarının etkilerini ve sonuçlarını hafifletmek için kritik öneme sahiptir. Öncelikle uygun risk değerlendirmesi, tanımlanması ve uygulanabilir olduğunda risk faktörlerinin tersine çevrilmesi gereklidir. Altta yatan kronik bir böbrek hastalığının varlığı en yaygın risk faktörüdür. Bu nedenle, birçok vakada belirlenmesi zor olabilen bazal böbrek fonksiyonunu bilmek önemlidir. Hacim ve hemodinamik durumu optimize etmenin böbrek perfüzyonunu iyileştirdiği ve ABY'yi önlediği gösterilmiştir. Sıvılar ve vazopressörler, hipovolemi ve hipotansiyonu olan hastalar için yoğun bakım ortamında kullanılır. Ancak hastaların yalnızca bir kısmı sıvılara yanıt verir.

Hemodinamik durumu korumak ve renal perfüzyonu sağlamak böbreğe daha fazla zarar gelmesini önler. Pozitif sıvı dengesi ve yetersiz idrar çıkışı olan ABY

hastaları, özellikle kalp yetmezliği veya nefrotik sendromlarda loop diüretik tedavisiyle yönetilebilir. Sıvı aşırı yüklenmesi tıbbi tedaviyle hızla tedavi edilemiyorsa diyaliz gerekebilir.

ABY'de bazı durumlarda acil diyaliz tedavisi gereklidir. Bu durumlar arasında en az 6,5 mmol/L potasyum ile tıbbi tedaviye dirençli hiperkalemi; pH'ı 7,1'den düşük metabolik asidoz; özellikle oligoanürik hastalarda, üremik perikardit ve üremik ensefalopatide artan oksijen gereksinimiyle sıvı yüklenmesi ve metanol ve etilen glikol gibi toksik alkol alımları bulunur. Bazı ilaç toksisitelerinin tedavisinde de diyaliz kullanılabilir; bunlar arasında lityum ve metformin bulunur (46).

2.6. Non-steroid Anti-inflamatuvar İlaçlar (NSAİİ)

Söğüt kabuğunun aktif bileşiği olan salisin, tarihi bir tıbbi ilaçtır ve ateş düşürücü, ağrı kesici ve iltihap giderici özelliklere sahip olan salisilik aside metabolize edilir. 19. yüzyılın sonlarında, salisilik asit dünyanın dört bir yanında çeşitli rahatsızlıklar için kullanılıyordu. 1897'de Felix Hoffman ve Arthur Eichengrün, salisilik asit molekülünü asetilleştirdi ve bu, Bayer (Berlin, Almanya) tarafından 1899'da aspirin olarak patentlendi. 1950'lerin başlarında, Geigy Şirketi (Basel, İsviçre) aminofenazonun suda çözünür tuzlarını oluşturan, güçlü anti-inflamatuvar ve ürik asit atılımını artırıcı aktiviteye sahip yeni bir bileşik keşfetti. Fenilbutazon adlı bir pirazolidin türevi olan bu bileşik, ankilozan spondilit, gut, romatoid ve psoriatik artrit ve karma bağ dokusu hastalığı olan hastalara verilen ilk salisilat olmayan NSAİİ oldu. 1950'lerin sonlarında Shen ve arkadaşları anti-inflamatuvar özelliklere sahip ilk asetik asit türevi olan indometasini keşfetti. NSAİİ aktivitesinden sorumlu moleküler mekanizma, John Vane'in asetilsalisilik asit ve NSAİİ'lerin araşidonik asidin prostanoidlere dönüşümünden sorumlu siklooksijenaz enzimlerinin aktivitesini inhibe ettiğini gösterdiği 1971 yılına kadar keşfedilmedi. Bu keşif, propiyonik asit türevleri (örneğin, ibuprofen) ve fenamik asit türevleri (örneğin, mefenamik asit) dahil olmak üzere çok çeşitli yeni NSAİİ'ların geliştirilmesiyle sonuçlandı (52).

Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), klinik tıpta analjezik, ateş düşürücü ve anti-inflamatuvar ajan olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. NSAİİ'ler reçeteli veya reçetesiz olarak temin edilebilmektedirler (5).

NSAİİ'lerin etkisinin ana mekanizması, araşidonik asidin prostaglandin E2, prostasiklinler ve tromboksanlara dönüşümüne aracılık eden siklooksijenaz (COX) enzim inhibisyonudur (5,53). COX'un COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki farklı izoformu vardır. COX-1 her yerde bulunur ve normal hücrelerde sürekli olarak mevcuttur. COX-2 ise inflamatuar durumda büyük ölçüde artış gösterir. Bununla birlikte, birkaç çalışma beyin, üreme organları ve böbrekler gibi çeşitli organlarda normal durumda COX-2 ekspresyonunu göstermiştir. COX'un iki izoformu %60 aynıdır ve endoplazmik retikulum ve nükleer membranın lüminal bölmesinde bulunur. NSAİİ'ler COX-1'e geri dönüşümlü hidrojen bağı yoluyla bağlanırken, COX-2'nin bağlanması geri dönüşümsüz aktif bir işlemdir. COX enzimi öncelikle araşidonik asidi prostaglandin (PG) G_2'ye dönüştüren eikozanoid biyosentezinde yer alır. PGG_2 daha sonra peroksidaz enzimi aracılığıyla PGH_2'ye dönüştürülür. Sonuç olarak, PGH_2 izomeraz enzimleri aracılığıyla PGE_2, $PGF_{2\alpha}$, PGI_2 ve tromboksan (TX) A_2 dahil olmak üzere çeşitli PG tiplerine metabolize edilir. NSAİİ'ler anti-inflamatuar özelliklerini esas olarak COX-2 inhibisyonu yoluyla gösterirken, COX-1 inhibisyonu genellikle yan etkilere neden olur (53). Böbreklerde ayrıca prostaglandinler böbrek perfüzyonunu artırarak vazodilatör görevi görür (5).

NSAİİ'lar COX-2 seçiciliğine göre seçici olmayan (non-selektif) COX inhibitörleri ve seçici (selektif) COX-2 inhibitörleri olarak sınıflandırılabilirler. Ayrıca kimyasal yapılarına ve karboksilik asitler, asetik asitler ve propiyonik asitler gibi özelliklerine göre de sınıflandırılabilir (53).

Terapötik faydalarına rağmen, bu ilaçların önemli yan etkileri vardır ve bu durum kullanımlarını sınırlar (6). Bunlardan gastrointestinal (7) ve renal toksisiteler büyük endişe kaynağıdır (5).

2.6.1. NSAİİ'a bağlı böbrek hasarı

Toksisite, bir kimyasalın yapısı, özellikleri ve dozu tarafından belirlenen durumdur. Kimyasallar, genellikle birkaç enzimatik yolla düzenli olarak metabolize edilir; üretilen metabolitler ana molekülden daha fazla veya daha az zararlı olabilir. Bu bileşiklerden bir veya daha fazlasının hedef makromoleküllerle etkileşimi toksisiteye neden olur (4).

Böbrekler, vücudun boşaltım işlevi için önemli organlardır, tüm kalp debisinin yaklaşık %25'ini alırlar (54). Birçok ilaç böbrek yoluyla atılır. Böbrek, büyük miktarda ilaca ve bunların metabolitlerine maruz kalır. Ayrıca böbrekler, nefrotoksinlerin birikmesine izin veren belirli özelliklere sahiptir. Proksimal kıvrımlı tübül (PKT), nefrotoksinin bağlanabileceği ve böbreğin epiteline taşınabileceği geniş bir yüzey alanına sahiptir. Glomerüler filtratın emilimi, intraluminal nefrotoksin seviyelerini yükseltirken, böbrekteki özel taşıma yollarından kaynaklanan bölgeye özgü toksisite ortaya çıkabilir (4). Filtrasyon işlevlerini yeterli şekilde yerine getirebilmek için, glomerüler filtrasyon hızını (GFR) ve böbrek homeostazını koruyacak prostaglandin sentezi gibi düzenleyici mekanizmalara sahiptirler (54).

Böbrekler, vücudun homeostazı sürdürmesine ve detoksifikasyon, toksik metabolit ve ilaç eliminasyonu dahil olmak üzere hücre dışı ortamı yönetmesine yardımcı olan önemli bir organdır. Bu nedenle, eksojen toksinler birincil hedef organ olarak böbrekleri hedef alabilir. İlaçlar nefrotoksisitenin kabaca %20'sinden sorumludur, ancak ortalama yaşam süresi arttıkça nefrotoksisite sıklığı %66'ya kadar artar. İlaçlar, ABH'nin yaygın nedenidir (4). İlaç kaynaklı ABY, parankimal hasar nedeniyle "renal ABY" olarak da bilinir (54).

(NSAİİ)'ler analjezik, ateş düşürücü ve anti-inflamatuvar ajan olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Böbrek yan etkilerinin küresel insidansının %5 olduğu tahmin edilmektedir. Ancak yaygın kullanımları nedeniyle ilaç kaynaklı böbrek bozukluğunun en yaygın nedenleri arasındadır (4).

NSAİİ'lerin en bilinen yan etkilerinden biri böbrekler, özellikle glomerüler filtrasyon sistemi üzerindeki etkisidir. NSAİİ'ler böbrek prostaglandinlerini azaltır, bu da böbrek arterinin vazokonstriksiyonuna neden olur. Glomerulusa kan akışını azalır ve glomerülün genel filtrasyonu bozulur (4,54). Glomerüler filtrasyon sistemi bozulduğunda, böbrekler tarafından idrar yoluyla normalde atılan toksik metabolitler kan dolaşımında birikmeye başlar ve toksik olmayan işlevsel moleküller istemeden idrara sızar. Bu patolojik süreç çeşitli semptomlara neden olabilir (54).

NSAİİ'ler öncelikle prostaglandin dengesizliğinden kaynaklanan hemodinamik değişiklik yoluyla ABH'yı tetikler. Normalde COX-1 genellikle böbreklerde inflamatuvar olmayan durumda ifade edilir. Düşük seviyede

COX-2 ise maküla densada bulunabilir. PG'ler glomeruli , juxtaglomerüler aparat (JGA), Henle halkası, interstisyel ve tübüler hücreler dahil olmak üzere nefronun çeşitli kısımlarında yer alırlar. İşlevleri ve bölgeye özgü yerleşimleri böbrek işlevini korumaya ve düzenlemeye yardımcı olur (53).

NSAİİ'ler, selektif veya non-selektif bir şekilde araşidonik asit kaskadını inhibe ederek prostaglandinlerin oluşumunda baskılayıcı bir etkiye neden olur. Böbreklerde, prostaglandinler- özellikle prostasiklinler, PGE2, PGD2- afferent arteriolde vazodilatör olarak etki eder, böbrek perfüzyonunu artırır ve korteks akışının böbrek medüller bölgesindeki nefronlara dağıtılmasını sağlar. Bu vazodilatasyon, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin performansı ve sempatik sinir sistemi gibi mekanizmalar üzerinde negatif geri bildirim görevi görür ve organa yeterli akışı sağlamaya yönelik bir düzenleme ile sonuçlanır. NSAİİ'ler bu mekanizmayı inhibe eder ve akut vazokonstriksiyona ve dolayısıyla iskemiye neden olabilir. Bu da akut böbrek hasarına yol açabilir (5,53).

Vazodilatasyon etkisinin yanında, PGE2 tübüler reseptörlerin uyarılması Henle'nin çıkan kolunda ve toplayıcı kanallarda sodyum ve klorür taşınmasını engelleyerek natriüreze yol açar. Ayrıca, PGE2 antidiüretik hormon (ADH) reseptörleri üzerinde antagonistik bir etki ederek de diürezi teşvik eder. NSAİİ'ler ayrıca PGE2 üretimini engelleyerek daha yüksek sodyum ve su tutulmasına neden olabilir ki bu da subklinik ödem oluşumuna yol açabilir (4,5,53).

Prostaglandinler böbreklerdeki etkilerinin yanı sıra, gastrointestinal mukozanın korunması, trombosit aktivasyonu, inflamasyon, bronkodilatasyon gibi homeostazla ilgili çeşitli işlevleri de yerine getirirler (5).

NSAİİ kaynaklı ABY riski, en çok kronik böbrek hastalığı olan yaşlı hastalarla ilişkilidir. ABY'ye ilerleyen NSAİİ nefrotoksisitesi için risk faktörleri hipovolemi, yüksek doz maruziyeti, kalsinörin inhibitörleri gibi vazokonstriktörlerin kullanımı ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) inhibitörleri veya diüretiklerin kullanımıdır. Hipovolemi egzersiz, ishal, diürez veya yetersiz alımla indüklenebilir veya hipovolemi, siroz, nefrotik sendrom veya konjestif kalp yetmezliği gibi altta yatan bir nedenden dolayı da ortaya çıkabilir. İleri yaş ve aminoglikozidler, anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri, anjiyotensin reseptör blokerleri veya

simetidin gibi glomerüler filtrasyon hızını (GFR) azaltan ilaçlar da diğer risk faktörleri arasındadır (54).

NSAİİ'lerin tek doz kullanımları bile ABH oluşumuna sebep olabilmektedir. Singapur'daki 8 hastaneden 2022 yılında yapılan ve 2015 ve 2017 yılları arasını kapsayan retrospektif bir kohort çalışmasında, sistemik NSAİİ'leri 14 günden daha uzun süre reçete edilen vakaların %20'sinde ve daha kısa süreli (1-14 gün) reçete edilen vakaların %17,1'inde ABH ve/veya hiperkalemi oluştuğu bulunmuştur (54).

Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada da fonksiyonel önemi olmayan ve Kronik Böbrek Hastalığı'na (KBH) ilerlemeyen minör morfolojik böbrek hasarı ile karakterize subklinik ABH durumunda tek oral doz NSAİİ kullanımının ABH'nı ağırlaştırdığı ve kronik böbrek hasarına ilerlemeye neden olduğu gösterilmiştir (55).

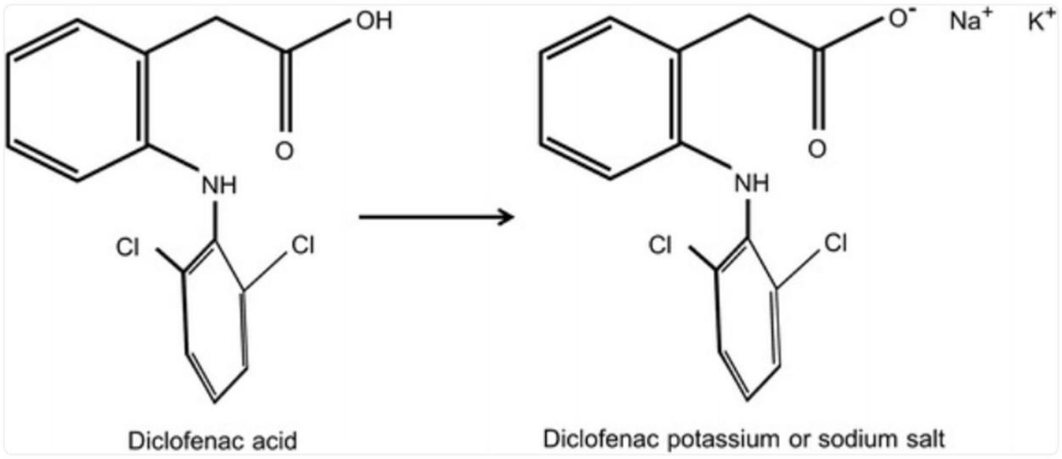
NSAİİ'lerin böbrek yan etkileri ödem, hipertansiyon, hiperkalemi , ABH , nefrotik sendrom , papiller nekroz ve interstisyel nefrite yol açan sıvı tutulması dahil olmak üzere değişkendir. Klinisyenler bu bulguların farkında olmalı ve derhal NSAİİ'lere maruz kalma öyküsünü sormalıdırlar (53).

2.6.2. Diklofenak sodyum

Diklofenak sodyum, anti-inflamatuar, analjezik ve antipiretik özelliklere sahip fenilasetik asit sınıfından non-steroid anti-inflamatuar ilaçtır (NSAİİ). Alfred Sallmann ve Rudolf Pfister tarafından sentezlendi ve ilk olarak 1973 yılında Ciba-Geigy (şimdiki Novartis AG, Basel, İsviçre) tarafından tanıtıldı. Tanıtımından bu yana, etkinliği, tolere edilebilirliği ve hasta rahatlığını iyileştirme amacıyla diklofenak içeren birçok ilaç geliştirildi (52). Oral, rektal veya intramüsküler olarak kullanılan formları mevcuttur (56).

Diklofenak, 4 asitlik sabitine sahip, zayıf bir asit olduğunu ve 13,4'lük bir bölme katsayısına sahip, hem sulu hem de hidrofobik ortamlarda kısmi çözünürlüğünü gösteren bir fenilasetik asittir. Molekülün yapısal özellikleri, yani bir fenilasetik asit grubu ve iki klor atomu içeren bir fenil halkası, fenil halkasının maksimum bükülmesini üretir ve COX enziminin substrat bağlama cebine iyi bir uyum sağlar.

Sonraki deneysel ve klinik çalışmalar, diklofenak sentezine yol açan teorik düşünceleri doğruladı (52).



Şekil 20: Diklofenak ilaç ürünlerinin kimyasal yapısı (52)

Diklofenak, hem COX-1 hem de COX-2 enzimlerini inhibe eden bir NSAİİ grubuna aittir. Ancak (COX)-2 enzimini COX-1'den daha büyük bir güçle inhibe eder. NSAİİ'lerin COX izozimlerine bağlanması, prostaglandinlerin (PGE_2, PGD_2, PGF2, PGI_2) ve tromboksan A_2 (TXA_2)'nin sentezini inhibe eder. PGE_2, inflamasyonda üretilen baskın prostaglandindir ve NSAİİ'ler tarafından sentez inin inhibisyonunun, bu ajanların güçlü analjezik ve anti-inflamatuar özelliklerinin ana mekanizması olduğuna inanılmaktadır (52).

Diklofenak sodyum oral, rektal veya intramüsküler uygulamadan sonra hızla ve etkili bir şekilde emilir. İntramüsküler uygulamadan sonra pik plazma konsantrasyonlarına 10 ila 30 dakika sonra ulaşılır. Enterik kaplı formülasyonla pik konsantrasyonlara 1,5 ila 2,5 saat sonra ulaşılır ve bu, yiyecekle 2,5 ila 12 saate ertelenir. Bu formülasyonların tek bir 50 mg dozundan sonra, değişmemiş diklofenakın ortalama pik plazma konsantrasyonları 0,7 ila 1,5 mg/L'dir. Sürekli salımlı diklofenakın tek bir 100 mg dozundan sonra net bir pik konsantrasyon bulunmaz, ancak ortalama konsantrasyon 2 saatte yaklaşık 0,1 mg/L'dir. Pik plazma konsantrasyonları ve plazma konsantrasyonu-zaman eğrisi altındaki alan, uygulama yolundan bağımsız olarak 25 ila 150 mg aralığında doza doğrusal olarak ilişkilidir ve tekrarlanan dozlardan sonra birikme meydana gelmez (56).

Diğer NSAİİ'ler gibi diklofenak da yüksek oranda (≥ %99,5) proteine bağlıdır. Ortalama toplam dağılım hacmi 0,12 ila 0,17 L/kg'dır ve merkezi bölmenin hacmi 0,04 L/kg'dır. Diklofenak ve metabolitleri hayvanlarda plasentayı geçer ve kadınların anne sütünde az miktarda bulunabilir. Diklofenak ilk geçiş metabolizmasına uğrar ve ilacın sadece %60'ı oral uygulamadan sonra değişmeden sistemik dolaşıma ulaşır. Başlıca hepatik metabolizma ve ardından metabolitlerin glukuronid ve sülfat konjugatlarının idrar ve safra yoluyla atılmasıyla elimine edilir. İnsanlardaki başlıca metabolit, ana ilaçla karşılaştırıldığında ihmal edilebilir düzeyde anti-inflamatuar aktiviteye sahip olan 4'-hidroksidiklofenaktır; idrarla atılan miktar dozun %20 ila %30'unu ve safrada atılan miktar ise %10 ila %20'sini oluşturur. Sağlıklı gönüllülerde, diklofenakın ortalama plazma klirensi 16 L/saattir ve terminal fazın ortalama eliminasyon yarı ömrü 1,1 ila 1,8 saattir. Radyoaktif olarak işaretlenmiş bir dozdan sonra ortalama eliminasyon yarı ömrü izleyici için yaklaşık 30 saattir (52,56).

Kısa biyolojik yarı ömrü (~2 saat) ve hızlı eliminasyon oranı (ortalama eliminasyon yarı ömrü 1,2–1,8 saat) nedeniyle, diklofenakın terapötik konsantrasyonunu korumak için genellikle sık uygulanması gerekir ve bu da istenmeyen olay riskini artırabilir (52). Diklofenak tabletlerin başlangıç dozu, öğünlerle birlikte 2 veya 3 bölünmüş dozda günlük 150 mg'dır ve çoğu hastada terapötik kontrol günlük 100 mg ile sağlanabilir. Çocuklarda dozaj 2 ila 3 mg/kg/gündür. Romatoid artrit, osteoartrit, ankilozan spondilit, tendinit ve bursit gibi romatizmal durumlarda ve burkulma ve incinme, dismenore, sırt ağrısı, siyatik ve postoperatif ağrı gibi diğer inflamatuar veya ağrılı durumlarda kullanılabilir. Sürekli salımlı bir formülasyon günde bir kez uygulanabilir ve fitiller günde bir veya iki kez uygulanabilir. Böbrek veya safra koliği gibi akut ağrının acil olarak giderilmesi için intramüsküler diklofenak 75 mg verilebilir. Gerekirse 30 dakika sonra ek bir doz uygulanabilir, ancak oral uygulamada olduğu gibi günlük doz 150 mg'ı geçmemelidir. Çocuklarda oral, rektal ve intramüsküler yoldan uygulanan 0,25-0,5 mg/kg ve erişkinlerde 50-150 mg diklofenak etkili bir ateş düşürücüdür. Ancak böbrek veya dolaşım fonksiyonları bozuk olan yoğun bakım hastalarında yan etkiler sık rastlanır (52,56).

Diklofenak 18 aylıktan küçük çocuklar için önerilmez ve yalnızca hamile veya emziren kadınlarda gerekli olduğunda önerilir (56).

2.7. İnflamazomlar

İnflamazomlar, tehlike sinyallerine yanıt olarak tetiklenen doğuştan gelen bağışıklık sensörleridir. Sitokin olgunlaşmasını, inflamasyonu ve hücre ölümünü düzenlemek amacıyla gerekli kaspaz aktivasyonunun gerçekleşmesini sağlayan multiprotein komplekslerdir. İnflamazom aktivasyonu, konakçının enfeksiyona karşı tepkisinde meydana gelen doğuştan gelen ilk bağışıklık olaylarından biridir ve aynı zamanda adaptif bağışıklık yanıtlarının gelişimini de teşvik edebilir. İnflamazomlar ölmekte olan hücrelerden salınan moleküller dahil olmak üzere, mikroorganizmalara ve endojen tehlike sinyallerine karşı doğuştan gelen bağışıklık yanıtında merkezi bir role sahiptir. Mikrobiyal olmayan doku hasarı da inflamazom aktivasyonuna yol açabilir; bu nedenle inflamazomlar kalp, akciğerler, karaciğer ve böbrekleri içeren çeşitli mikrobiyal ve mikrobiyal olmayan hastalıklarda rol oynar. İnflamazomlar ve ilgili sitokinlerinin ayrıca doku homeostazı, doku iyileşmesi, fibroz, metabolizma, tümör oluşumu ve mikrobiyotanın bakımında rolleri vardır (57).

İnflamazom, otoimmünite ve enfeksiyon olmaksızın doğuştan gelen bağışıklık anormalliklerinin neden olduğu bir dizi sistemik inflamasyon olan oto-inflamatuvar hastalıkların genetik analizlerinden tanımlanmıştır (10).

Bilinen doğuştan gelen bağışıklık reseptörleri arasında en iyi tarif edilenler, zara bağlı Toll benzeri reseptörler (TLR'ler)'dir. Nükleotit bağlama ve oligomerizasyon alanı (NOD) benzeri reseptörler (NLR'ler) olarak adlandırılan başka bir hücre içi doğal sensör ailesi, pro-inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimi ile ilişkili hastalıklar için potansiyel terapötik hedefler olarak ilgi çekmiştir. NLR'ler, hücre içi makromoleküler komplekslerin oluşumuna katkıda bulunan patojenler, yaralı dokudan salınan moleküller ve çeşitli spesifik olmayan moleküller dahil olmak üzere çeşitli uyaranlara karşı konakçı bağışıklık tepkilerini düzenleyen kritik sinyal molekülleridir (58). NLR ailesi, bir N-terminal pirin alanını (PYD), merkezi bir NACHT (Naip, CIITA, HET-E ve telomerazla ilişkili protein 1) alanını ve birkaç lösin açısından zengin tekrarı (LRR' ler) paylaşan farklı hücre içi molekülleri grubunu içerir.(12,58) NLR ailesinin en iyi tanımlanan üyelerinden biri NLRP3'tür (Siropirin,

CIAS1 veya Nalp3 olarak da adlandırılır) (12,13,58). NLRP3, sitozolik bir sensördür ve merkezi bir NACHT, C-terminal LRR'ler ve bir N-terminal pirin alanından (PYD) oluşur (8).

İnflamazomlar, kanonik ve non-kanonik olarak tanımlanan iki yolla aktive olabilmektedir.

Kanonik inflamazom yolları, kaspaz-1'e bağlıdır. Bir NLR veya ALR (Absent in Melanoma 2-Like receptors) PRR (pattern-recognition receptors), ASC (apoptosis-associate speck-like protein) ve kaspaz 1'den oluşan multimerik kompleksten oluşur.

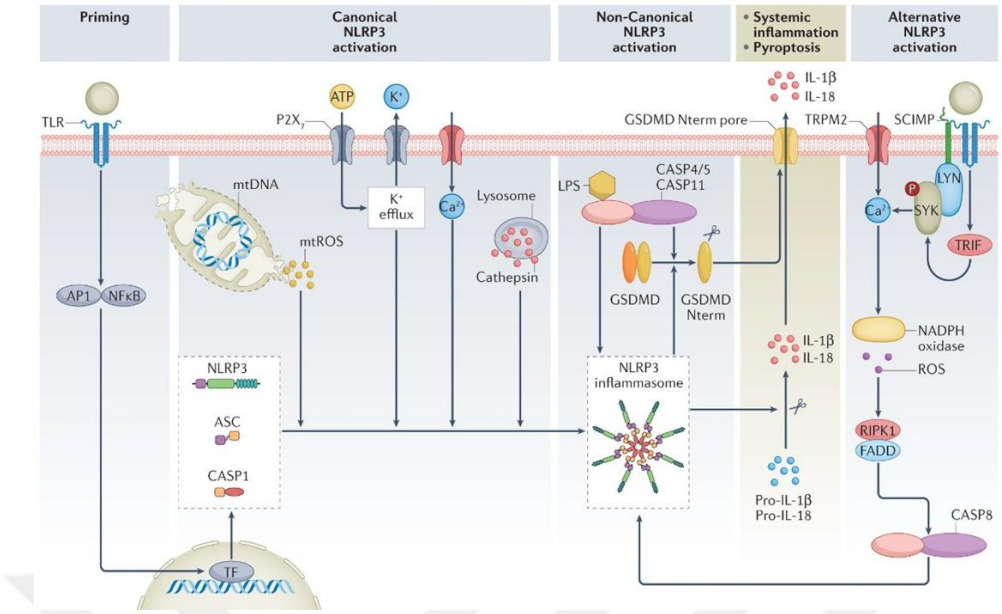
ASC, bir kaspaz bağlanma bölgesine sahiptir. Vücuda zararlı herhangi bir uyaran üzerine, PAMP'ler veya DAMP'ler tarafından aktive edilen PRR'ler, doğuştan gelen bağışıklığın ilk koruyucu bariyeri olarak ilgili sinyal yolunu tetikler. ASC, kaspaz-1'i devreye sokar ve kaspaz-1 p10 ve kaspaz-1 p20 alt birimlerine ayrılır. Bu da proinflamatuvar sitokinler pro-İL-1β ve pro-İL-18'in aktif formları İL-1β ve İL-18'e dönüşümünü ve ayrıca GSDMD'nin ayrılmasını sağlar. Bu moleküller, NF-kB ve MAPK sinyal yollarının yanı sıra diğer sinyal yollarıyla da ilişkilidir. Hücre pirotozuna ve dolayısıyla da organların hasarına ve vücudun işlev bozukluğuna yol açar (13).

NLRP3 (NOD-, LRR- ve pirin alanı içeren 3) inflamazom 2002 yılında tanımlanmıştır. Bu inflamazom ilk olarak, bir CARD (ASC) ve İL-1β olgunlaşmasını düzenleyen aktif kaspaz 1 içeren PRR NLRP3'ten oluşan yüksek moleküler kütleli, protein oligomerik bir kompleks olarak tanımlanmıştır. NLRP3, dokuz karboksi-terminal LLR, merkezi bir nükleotid bağlayıcı NACHT alanı ve bir amino-terminal efektör PYD'den oluşur. Hemen hemen tüm NLRP'lerin benzer bir alan yapısı vardır, ancak sadece birkaçının kanonik inflamazomlar oluşturduğu gösterilmiştir. NLRP3 NACHT alanı, inflamazom birleşimini tetiklemek için gereken protein oligomerizasyonunu düzenleyen ATPaz aktivitesine sahiptir (57).

Kanonik olmayan inflamazom yolları, farede kaspaz 11'i ve insanlarda kaspaz 4/5'i aktive eder. Kaspaz 8'in inflamazom aracılı aktivasyonu da kanonik olmayan olarak kabul edilir ve İL-1β'nin olgunlaşmasıyla sonuçlanabilir. Kanonik olmayan inflamazom yollarında rol alan kaspaz aktivasyonunun çoğu, piroptoz ve/veya apoptoz yoluyla hücre ölümüyle sonuçlanır.

Kanonik olmayan inflamazom yolu, hücre içi lipopolisakkarit (LPS)'e yanıt olarak kaspaz 11, kaspaz 4 ve/veya kaspaz 5'i aktive eder. Kaspaz 4, kaspaz 5 ve kaspaz 11, LPS veya lipit A bağlanması üzerine doğrudan LPS'ye ve onun bileşeni olan lipit A'ya bağlanır. Kaspaz 4, kaspaz 5 ve kaspaz 11, LPS'ye CARD alanları aracılığıyla bağlanır ve aktivasyonları için adaptör proteinlere ihtiyaç duymazlar. Endojen oksitlenmiş fosfolipidler (örneğin oksitlenmiş 1-palmitoil-2-araşidonoil- *sn* -glisero-3-fosfolipitler (OxPAPC)) ayrıca kaspaz 11'e bağlanır ve dentritik hücrelerde kanonik olmayan inflamazom aktivasyonunu tetikler, ancak kaspaz 11'e rekabetçi bağlanmaları makrofajlarda LPS kaynaklı inflamazom aktivasyonunu inhibe edebilir. Kanonik olmayan inflamazomlar öncelikle GSDMD'yi parçalar ve piroptozu tetikler; ancak bu inflamazomların aktivasyonu muhtemelen mitokondriyal ROS ve K^+ dışa akışının üretimi yoluyla kanonik NLRP3 inflamazomunun birleşmesine de yol açar (13,57).

NLR'lerin veya AIM2'nin aşağı akışında kaspaz 8 aktivasyonunun kanonik olmayan olduğu düşünülmektedir. Kaspaz-1 eksikliği olan hücrelerde, NLRP3 pro-İL-1β'yi parçalayan ve apoptozu indükleyen bir kaspaz-8 aktive edici platform oluşturur. İL-1β veya diğer sitokinlerden yoksun hücrelerde, NLRP3 tarafından kaspaz 8 aktivasyonu apoptozu yönlendirir. Bu nedenle, kanonik olmayan işlev, kaspaz 1'den bağımsız kaspazların aktivasyonu olarak tanımlanır. Kanonik olmayan inflamazomlar, kaspaz 4, kaspaz 5 ve kaspaz 11 tarafından aracılık edilen piroptozu, kaspaz-8 aracılı apoptozu, kaspaz-8 aracılı İL-1β olgunlaşmasını ve kanonik inflamazom aktivasyonunu düzenler. NLR'ler ve AIM2 ayrıca inflamazom birleşimi ve kaspazlardan bağımsız olarak hücre ölümü, çoğalması ve fibrozda kanonik olmayan işlevler de sergileyebilir (57).



Şekil 21: NLRP3 inflamazomunun aktivasyonuna yol açan yollar(12)

Sonuç olarak NLRP3, kaspaz-1 aktivasyonu için gerekli olan çok proteinli bir moleküler iskele olan kaspaz-1 iltihaplanmasının temel bir bileşenidir. İşlevsel NLRP3 inflamatuvar kompleksine bir kez birleştirildiğinde inflamazomların aktivasyonu, kaspaz-1'in aktivasyonuna ve ardından İL-1β ve İL-18 dahil olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasına yol açar (12,13,58). Mikrobiyal RNA ve imidazokinolin bileşikleri, ATP, potasyum akışı, asbest, silika, alüminyum hidroksit, amiloid β peptidi, gözenek oluşturucu toksinler, sıkıntılı hücreler tarafından hücre dışı ortama salınan bileşenler (gut ve psödogutta bulunan monosodyum ürat ve kalsiyum pirofosfat dihidrat kristalleri dahil) ve kolesterol kristalleri gibi çok çeşitli yapısal olarak ilgisiz uyaranlar NLRP3'ü aktive eder. Pek çok farklı uyaranın NLRP3'ün aktivasyonunu ve ardından inflamasyon oluşumunu tetiklemesi gerçeği, NLRP3'ün pro-inflamatuvar sitokinlerin aşırı üretimine yol açan birçok farklı hücresel tetikleyici için ortak bir merkez olduğunu düşündürür (58). NLRP3 inflamatuvarının aktivasyonu ayrıca, bir inflamatuvar hücre ölümü biçimi olan piroptozu da indükler (12,13).

Son zamanlarda NLRP3 iltihabının gut ataklarının etiyolojik ajanı olan monosodyum ürat veya ürik asit tarafından indüklenebildiği ve gut için kullanılan terapötik bir ilaç olan kolşisinin NLRP3 iltihabının aktivasyonunu baskıladığı ve gutu rahatlattığı bildirildi (17).

NLRP3 inflamasyonu, ABH ve KBH dahil olmak üzere çeşitli böbrek hastalıklarında rol oynamıştır (8,9). NLRP3 ve diğer inflamasyonla ilişkili genlerin seviyeleri, diyabetik nefropati ve glomerülonefrit dahil olmak üzere çeşitli böbrek hastalıklarında, ABH'de artış gösterir (57).

NLRP3'ün böbrek hasarına ve hastalığın ilerlemesine katkıda bulunduğu sürecin, inflamasyona bağımlı ve inflamasyondan bağımsız yolların bir kombinasyonunu kapsadığı varsayılmaktadır (9,58).

2.7.1. Akut böbrek hasarında NLRP3

Birkaç NLR proteini ve AIM2 fare ve/veya insan böbreklerinde ifade edilir. Örneğin, sağlıklı insan böbrek dokuları yüksek seviyelerde NLRP1, NLRP2 ve NLRP10 ifade eder. Ayrıca, tek taraflı üreter obstrüksiyonunu takiben fare böbreğinde NLRP1, NLPR3, NLRP6, NLRP10, NLRP12 ve AIM2 mRNA'sı ile sağlıklı ve hastalıklı insan böbreklerinde NLRP1, NLRP3, NLRP6 ve AIM2 mRNA'sı tespit edilmiştir (57).

NLRP3 böbrekte inflamazom oluşturan genler arasında en iyi karakterize edilenidir. Önceki çalışmalarda, tek taraflı üreter obstrüksiyunu, adenin kaynaklı tübülointerstisyel nefrit, metabolik sendromla ilişkili nefropati, hiperhomosisteinemi kaynaklı glomeruloskleroz, albümin aşırı yüklenmesi kaynaklı tübüler hasar, anjiyotensin II kaynaklı hipertansif böbrek hasarı, kör bağırsak ligasyonu ponksiyonu kaynaklı sepsis, diyabetik böbrek hastalığı, glomerülonefrit ve kalan böbrek (5/6 nefrektomi) dahil olmak üzere çeşitli böbrek hastalığı modellerinde NLRP3 ve inflamazomlar incelenmiştir. Bu çalışmalar böbrekteki NLRP3 ve/veya inflamazomun kanonik ve kanonik olmayan işlevlerini ortaya çıkarmıştır. Çoğunlukla, NLRP3 veya diğer inflamazom genlerinin yokluğunda böbrek hasarı, hücre ölümü, inflamasyon ve fibrozisin azaldığını göstermektedir; ancak çelişkili raporlar mevcuttur (13,57).

Böbrekte inflamazomların aktivasyonu hasarı ağırlaştırırken, NLRP3'ün genetik veya farmakolojik inhibisyonu, böbrek hastalıklarının çeşitli hayvan modellerinde böbrek hasarını iyileştirmiştir (8,9,13). Bu nedenle, inflamazom böbrek hastalıklarının tedavisinde potansiyel bir hedef olabilir ve böbrek hastalıkları için yeni ve etkili tedavilerin geliştirilmesi gerektiğini düşündürmektedir (13). Bununla birlikte,

NLRP3'ün böbrek hastalıklarının patogenezine dahil olduğu ayrıntılı mekanizmalar henüz kesin değildir (8).

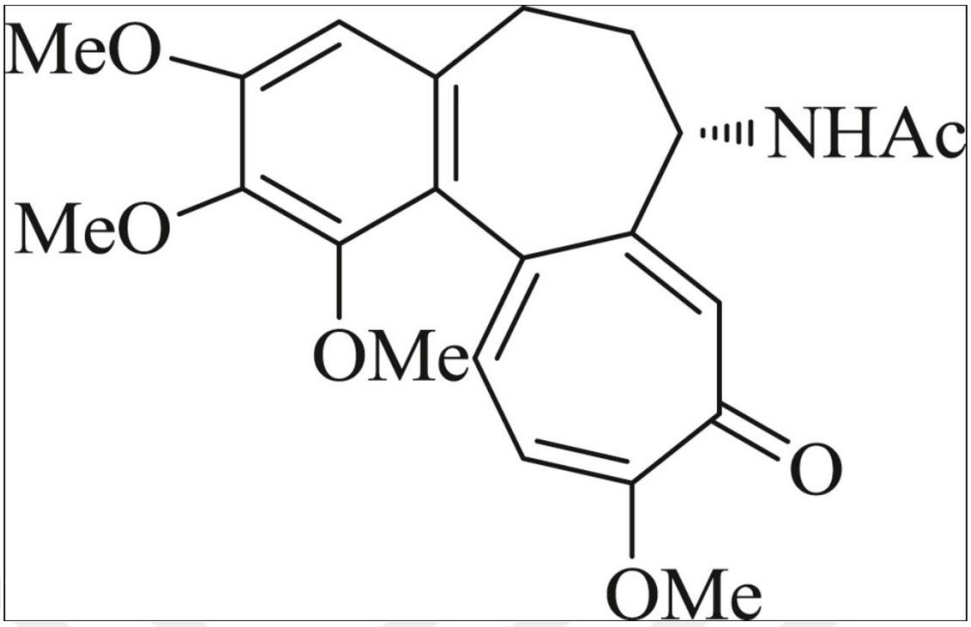
2.8. Kolşisin

Kolşisinin bitki kaynağı olan sonbahar çiğdemi (*Colchicum autumnale*), ilk olarak MÖ 1500 dolaylarında bir Mısır tıbbi papirüsünde romatizma ve şişkinlik tedavisi için tanımlanmıştır (59).



Şekil 22: Sonbahar çiğdemi (Colchicum autumnale) (60)

Kolşisin ilk olarak 1820'de Colchicum'un aktif alkaloidi olarak izole edildi ve daha sonra P.L. Geiger tarafından kolşisin adını verdiği aktif bir bileşene saflaştırıldı (59) Kolşisin, botanikte sıklıkla kullanılır ve moleküler kütlesi 399.437 olan bir trisiklik alkaloiddir ($C_{22}H_{25}NO$) (61).



Şekil 23: Kolşisinin yapısı (62)

Günümüzde kolşisin, akut gut alevlenmeleri ve Ailesel Akdeniz Ateşi'nin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (14,59). Behçet sendromu ve kardiyovasküler alanda perikardit gibi diğer inflamatuvar durumlarda da kullanılmıştır (19). Kolşisinin anti-inflamatuvar etkisi, araşidonik asit yolağı üzerinde etki yapmaması bakımından geleneksel NSAİİ'ler ve steroidlerden farklıdır (16,59). Çeşitli bozukluklarda kolşisinin farmakoterapötik etki mekanizması tam olarak anlaşılmamıştır, ancak ilacın öncelikli olarak nötrofillerde biriktiği ve bu etkinin FMF'de yararlı olduğu bilinmektedir (61). İlacın çoğu terapötik etkisinin β-tübüline bağlanma kapasitesiyle ilişkili olduğu, böylece mikrotübüllerin kendi kendine birleşmesini ve polimerizasyonunu inhibe ettiği ve çeşitli hücresel işlevlere müdahale ettiği varsayılmaktadır (14,61). Kolşisin kemokin ve prostanoid üretimini düzenler. Prostaglandin üretiminde önemli bir rol oynayan siklooksijenazlar COX-1 ve COX-2'nin aktivitesini düzenleyebilir. Bu hipotez, gut ataklarında kolşisin ve COX-2 inhibitörlerinin benzer şekilde hızlı etkisine dayanmaktadır. Son çalışmalar, kolşisinin nötrofillerde COX-1 veya COX-2'yi inhibe etmediğini, bunun yerine osteogenez ve apoptozisin erken evrelerinde COX-1 ve COX-2 genlerini indüklediğini göstermektedir (63). Kolşisin ayrıca dokularda düşük pH ile artan ürik asit kristal birikimini inhibe eder, muhtemelen glikozun oksidasyonunu ve ardından lökositlerde laktik asit redüksiyonunu inhibe eder (61). Beyaz kan hücrelerini (WBC'ler) hedef alır

ve mikrotübül depolimerizasyonuna neden olur, bu da WBC'lerin hareketliliğini, fagositozunu ve degranülasyonunu inhibe eder. Nötrofil kemotaksisini ve iltihaplı endotele yapışmayı inhibe eder (15,59,61). Ayrıca, kristal kaynaklı gut, tekrarlayan idiyopatik perikardit ve daha yakın zamanda aterosklerotik koroner arter hastalığının aracılık etmesinde giderek daha fazla tanınan bir role sahip olan NLRP3 inflamazom protein kompleksi oluşumunu zayıflatarak interlökin-1beta (İL-1β) ve interlökin-18'i (İL-18) inhibe eder (59).

Kolşisin yağda çözünür ve jejunum ve ileumda emilir. Biyoyararlanımı %44'tür ve CYP3A4 tarafından metabolize edilir (16,59). Ağırlıklı olarak karaciğer tarafından atılır ve %10-20'si böbrekler tarafından atılır (59,63).

Kolşisin intravenöz bolus enjeksiyonundan sonra, konsantrasyon-zaman eğrisi altındaki alan (AUC) 61,2±12.7 ng sa/ml, kararlı durum dağılım hacmi 419±95 L; sistemik klerens 8,5'tir±1.8 l/sa, ve terminal yarı ömrü (t ½) 58'dir±11 sa'dir. Çözelti formunda oral uygulamadan sonra, 6,50±1.03 ng/ml'lik pik plazma konsantrasyonuna (Cmax), 1,07±0,55 sa'te (tmaks) ulaşılır; 0.109±0,024sa^{-1} (Cmax/AUC). Oral tabletler intravenöz uygulamaya benzer Cmax, tmax ve Cmax/AUC değerleri verir, ancak AUC önemli ölçüde daha düşüktür. İlacın çoğu enterohepatik resirkülasyona uğrayarak, alındıktan sonraki 6 saat içinde plazmada ikinci bir zirveye yol açar. Bu ikinci emilim süreci birinciden önemli ölçüde daha uzundur ve benzer miktarda kolşisin emilimine neden olur. Protein bağlanması %10 ile %31 arasındadır. t ½ , %9,3 ile %10,6 saat arasındadır (61).

Kolşisinin doruk plazma konsantrasyonları, oral uygulamadan sonra 0.5-2 saat içinde ortaya çıkar, ancak alımdan 10 gün sonrasına kadar lökositlerde saptanabilir. Kolşisin lipofiliktir ve jejunum ve ileum tarafından hemen emilir. Sağlıklı bireylerde ilacın ortalama oral biyoyararlanımı %45'tir, ancak %24 ile %88 arasında bir aralıktadır. Biyoyararlanımdaki büyük farklılıklar, aynı kolşisin dozuna karşı bireyler arası farklı tepkilerin nedenidir (61). Kolşisin atılımının ana yolu hepatobiliyer atılımdır ve dışkı ve safra yoluyla elimine edilir. Kolşisinin yaklaşık %20'si 2 saatte ve %30'u 24 saatte idrarla atılır (61,63). Kolşisin, CYP3A4 sistemi aracılığıyla deasetilasyonla yoğun hepatik metabolizmaya uğrar ve atılım büyük ölçüde hücre zarında bulunan ATP'ye bağımlı bir fosfor glikoprotein olan P-glikoproteine bağlıdır

(61,63). Kolşisinin ortalama eliminasyon yarılanma ömrü 20 saattir (14). Kolşisinin dar bir terapötik indekse sahip olduğu ve 0,5 mg/kg'dan daha yüksek dozlarda önemli toksisitenin ortaya çıktığı bilinmektedir (61,64). Ek ilaç almayan, normal böbrek fonksiyonuna sahip hastalarda ≥0,8 mg/kg kolşisin dozları potansiyel olarak ölümcüldür ve bu seviyenin altındaki doz aşımları ciddi komplikasyonlara yol açabilse de nadiren ölümcüldür (65). 10-30 mg arasında oral dozlar verilen sıçanlarda, her biri artan dozla kötüleşen gıda alımında azalma, vücut ağırlığında azalma ve ölüm meydana gelir (66,67).

Kolşisin vücuttaki tüm dokulara girebilir ve anne sütüne de geçer. Kolşisin plasenta bariyerini geçebilmesine rağmen, hamilelikleri sırasında kolşisin alan annelerin çocuklarında herhangi bir anormallik bildirilmemiştir (63). Kolşisinin lökositlerde tercihli bir birikim gösterdiğini ve burada belirgin etkiler gösterdiğini fark etmek önemlidir: nötrofillerin konsantrasyonu plazmadaki tepe konsantrasyonunun 16 katından fazla olabilir; ilacın nötrofillerdeki tepe konsantrasyonuna 48 saat sonra ulaşılır ve ilaç kesildiğinde nötrofillerin eliminasyon yarı ömrü 16 sa'dır ve farmakolojik etkiler 24-48 sa'den sonra azalır (61).

Gastrointestinal intoleransı (ishal, karın ağrısı, kusma) kolşisinin en yaygın yan etkisidir ve hastaların yaklaşık %20'sini etkiler, ardından miyalji gelir. Bu yan etkilerin çoğu, daha düşük günlük dozlarla (yaklaşık 0,5 mg/gün) veya uzun süreli tedavilerle yönetilebilir (68).

Son zamanlarda kolşisin kardiyovasküler hastalıklar (perikardit, miyokard enfarktüsü vs. gibi), IgA vasküliti gibi çeşitli hastalıklarda çalışılmaya başlanmıştır ve doza bağlı etkileriyle ilgili çalışmalar yapılmaktadır (65,69–74). Klinik olarak stabil koroner hastalığı olan hastalarda kolşisinin kardiyovasküler olay riskini azaltıp azaltamayacağını belirlemek amacıyla yapılan bir düşük doz kolşisin (Low-Dose Colchicine-LoDoCo) çalışması, standart tedaviye 0,5 mg/gün kolşisin eklenmesinin akut koroner sendrom, hastane dışı kardiyak arrest, kardiyoembolik olmayan iskemik inme dahil olmak üzere kardiyovasküler olay riskini önemli ölçüde azalttığını gösterilmiştir (75).

Büyük, randomize çalışmalar, günde bir kez 0.5 mg kolşisin ile uzun süreli tedavinin, kronik koroner arter hastalığı (KAH) olan hastalarda kardiyovasküler ölüm,

miyokard enfarktüsü, felç veya iskemi kaynaklı revaskülarizasyon riskini azalttığını göstermesi üzerine, çeşitli uluslararası kılavuzlar koroner arter hastalığının (KAH) ikincil önlenmesine yönelik önerilere kolşisini dahil etmiştir. Buna rağmen, özellikle statinlerle birlikte kullanıldığında, uzun vadeli güvenliğine ilişkin endişeler ortaya çıkmıştır. Yıllarca kolşisine maruz kalmanın böbrek veya karaciğer fonksiyonu ve kreatin kinaz (CK) üzerindeki potansiyel etkisi değerlendirildiğinde kronik KAH'ta, plaseboyla karşılaştırıldığında günde bir kez 0,5 mg kolşisine 2-4 yıl maruz kalmanın böbrek fonksiyonlarını etkilemediği, ALT, albümin ve CK düzeylerinde küçük yükselmelerle ilişkili olduğu görüldü. Veriler, karaciğer enzimleri ve CK'deki ılımlı yükselmelere rağmen, kronik KAH hastalarında günde bir kez 0,5 mg kolşisine 2-4 yıl maruz kalmanın iyi tolere edildiğini göstermektedir (74).

FDA (Food and Drug Administration- Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından 2023 yılı haziran ayında, 0,5 mg/gün düşük doz kolşisinin oral yolla kullanımın miyokard enfarktüsü (MI), inme, koroner revaskülarizasyon ve yerleşik aterosklerotik hastalığı olan yetişkin hastalarda kardiyovasküler ölüm riski veya kardiyovasküler hastalık için çoklu risk faktörlerini azaltmak için kullanılabileceği onayı Agepha Pharma USA tarafından üretilen LODOCO tablet için verildi. Kolşisinin bu etkiyi hangi mekanizmayla yaptığının tam olarak anlaşılamadığı ancak nötrofiller ve monositlerde interlökin-1 beta aktivasyonuna aracılık eden inflamazom kompleksinin hücre içi düzeneğine etki edebileceği belirtilmiştir. Bu endikasyonda kolşisinin farmakodinamiğinin tam olarak anlaşılamadığı da belirtilmiştir (76).

Kolşisinin kardiyovasküler sistem üzerine olumlu etkilerinin görülmesi, bu ilacın diğer sistemler ve farklı mekanizmalar üzerinde çalışılması için cazip hale getirmiştir.

Kolşisinin en sık yan etkisi gastrointestinal sistem üzerinde olmasına rağmen (68) NSAİİ kaynaklı oluşan ince bağırsak hasarında aktive olan NLRP3 inflamatuvar yolağı üzerine kolşisin etkisinin incelendiği bir çalışmada, kolşisin kullanımının ince bağırsak hasarını önlediği gösterilmiştir (17). Yapılan çalışmalar kolşisinin bağırsak geçirgenliğini artırdığını (77) ve etkilerin doza bağımlı olduğunu göstermiştir ve özellikle düşük doz kullanımıyla ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur (72,73,78,79). Bir

başka grup çalışmacı uzun süre düşük doz kolşisin kullanımının karaciğer enzimlerini ılımlı artırsa da böbrek fonksiyonlarını bozmadığını ve iyi tolere edildiğini gösterdi (80). Çeşitli faktörlere bağlı gelişen (Lipopolisakkarite bağlı sepsis modelinde, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer fibroz modelinde vs. gibi) karaciğer fibrozu üzerine de kolşisin uygulamasının olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (79,81).

Kolşisin kullanılarak oluşturulan şiddetli sepsis modelleri olmasına rağmen (80) yakın tarihli bir çalışma, düşük doz kolşisinin oral yoldan uygulanmasının mortalite ve iyilik halini iyileştirdiğini ve sepsise bağlı karaciğer ve böbrek hasarını azalttığını göstermiştir.

Sıçanlarda endometriozis modeli üzerinde kolşisin çalışması yapan bir grup ise kolşisinin TNF-α üzerinden etkili olduğunu göstermişlerdir (82).

Yine bir diğer çalışma da NLRP3 inflamasyon oluşumunun kolşisin tarafından düzenlenerek sepsis kaynaklı akut akciğer hasarını hafiflettiğini göstermiştir (83).

Chen ve ark. tarafından yayınlanan bir vaka raporunda ise kolşisin ve NSAİİ intihar amaçlı birlikte alımının ABH'na neden olduğu gösterilmiş olsa da bu rapordaki ilaç alım dozlarının yüksek doz olması, toksik doz alıma bağlı gelişen ABH-ilaç toksisitesi olabileceğini düşündürmüştür (84).

Kolşisinin üriner sistem üzrindeki etkileri de çalışılan bir diğer konudur. Bir çalışmada, renal iskemi reperfüzyon hasarı ile oluşturulan akut ve kronik böbrek hasarına karşı kolşisin ve metformin kullanımı incelenmiştir ve her iki ilacın da önleyici olarak kullanıldığında ABH'i hafiflettiği gösterilmiştir (1). Çeşitli etyolojilerden (iskemi reperfüzyon hasarı, adenin diyeti, diyabetik nefropati, siklosporin nefrotoksisitesi vs. gibi) yola çıkarak oluşturulan böbrek hasarı modelleri ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda kolşisin kullanımın inflamasyon, hasar (1,20,85–88) ve fibroz üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (20,85).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

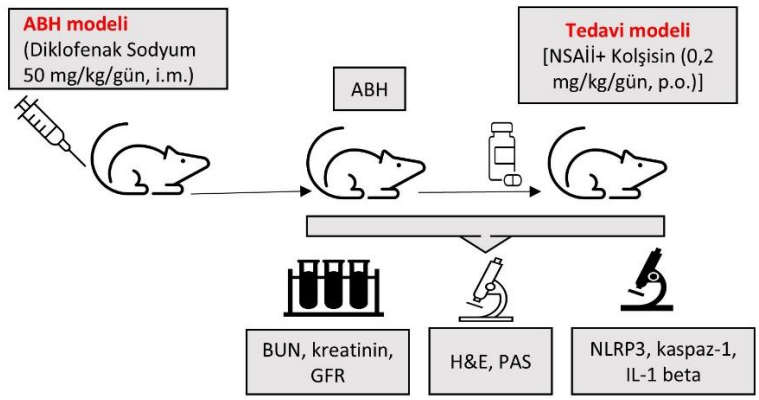
Prospektif deneysel bir araştırma

3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Araştırma Mayıs 2023 tarihinde literatür tarama ile başlamış olup; etik kurul onayı 09 Ocak 2018 tarihinde alındıktan sonra, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarında ilaç uygulama ve sakrifikasyon yapılmasını takiben, alınan böbrek dokuları histolojik analizler için Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalına, kan örnekleri ise biyokimyasal analizler için Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na getirilerek gerekli işlemler yapılmıştır. 7/2024-11/2024 tarihleri arasında tez yazımı ile sonlandı.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi/Çalışma Grupları

Araştırmada n:7 olacak şekilde 4 deney grubunda toplam 28 dişi deney hayvanı (sıçan) kullanıldı ve deney grupları aşağıdaki gibi düzenlendi.



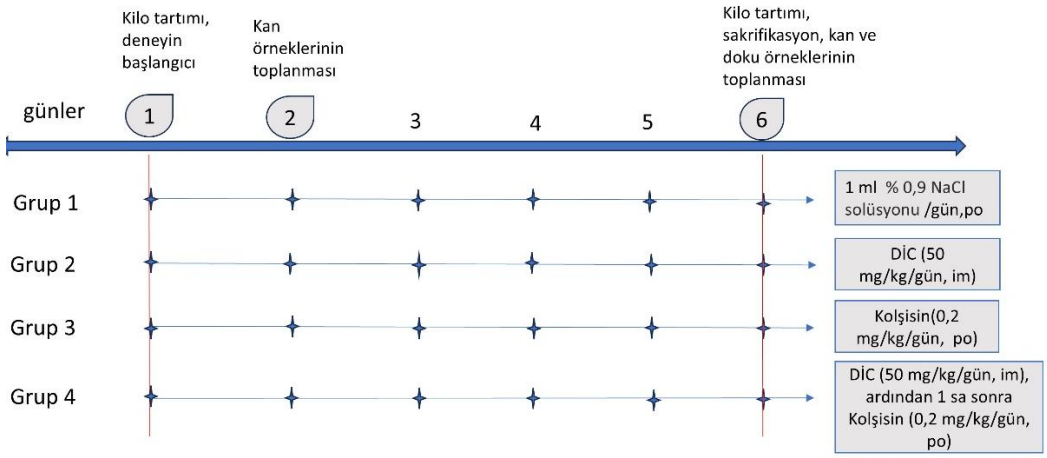
Şekil 24: Çalışma modeli

1. Grup: Kontrol grubu (n=7); 5 gün boyunca %0,9 NaCl (1 ml/gün per-oral) solüsyonu uygulandı.

2. Grup: NSAİİ ilaç grubu (n=7); 5 gün boyunca Diklofenak sodyum (50 mg/kg/gün, intramüsküler) uygulandı.

3. Grup: Kolşisin grubu (n=7); Kolşisin (0,2 mg/kg/gün, per-oral) 5 gün boyunca uygulandı.

4. Grup: NSAİİ + kolşisin grubu (n=7); Diklofenak sodyum (50 mg/kg, intramüsküler) tedavisinin ardından 1 saat sonra (0,2 mg/kg/gün, per-oral) kolşisin 5 gün boyunca uygulandı.



Şekil 25: Deney grupları

Örneklem büyüklüğü G power programı kullanılarak %95 güven aralığı, %5 hata payı ve %80 güç kabul edilerek 4 grup için toplam minimum 8 olarak hesaplandı. Çalışmamızda n:7 olarak belirlendi.

Deneklerin, ilk ilaç uygulaması ve sakrifikasyon öncesinde kilo tartımı yapıldı.

Denekler son ilaç uygulamasından 24 saat sonra (6.gün), eter anestezi altında genel anesteziye alındı. Abdominal bölgeleri insizyon ile açılarak böbrek dokusu histolojik incelemelerde kullanılmak üzere çıkarılıp %10'luk formalin içerisine alındı. Sonrasında deneklere ötenazi işlemi uygulandı.

3.4. Kan Örneklerinin Alınması

Sıçanlar ilk enjeksiyondan 24 saat sonra (deneyin 2. günü) eter anestezisi altına alınarak kuyruk veni olan vena saphena lateralisten kan örnekleri toplandı. Alınan kan örnekleri aynı gün 1000xg'de 20 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serum örneklerinden aynı gün serum üre, kreatinin ölçümleri çalışıldı.

Sıçanlar son enjeksiyondan 24 saat sonra (deneyin 6. günü) i.p. ketamin 80 mg/kg + ksilazin 10 mg/kg ile anestezi yapılarak, orta hat insizyonuyla batınları açıldı. Vena cava caudalisden kan örnekleri toplandı. Alınan kan örnekleri aynı gün 1000xg'de 20 dakika santrifüj edildi. Ayrılan serum örneklerinden aynı gün serum üre, kreatinin ölçümleri çalışıldı.

3.5. Böbreklerin Çıkarılması

Sıçanların böbrekleri steril şartlarda çıkarıldı. Çıkarılan böbrek dokularının ağırlıkları ölçüldü. Sol böbrek histolojik incelemeler için kullanıldı. Böbrekler yeteri kadar %10'luk nötral formol eklenmiş ependorf tüplerine konarak histolojik değerlendirme yapılıncaya kadar oda ısısında muhafaza edildi.

3.6. Çalışma Materyali

Çalışmamızda Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Anabilim Dalı'ndan temin edilen, Wistar Albino toplam 8-10 haftalık (180-270 gr) 28 dişi sıçan kullanıldı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, Wistar suşunun bulunması ve literatür ile uyumlu olması nedeniyle bu tür seçilmiştir. Tüm denekler deney sonlanıncaya kadar 21°C±1 oda sıcaklığı, %50-60 nisbi nem ve 12 saat gündüz/12 saat gece aydınlatma periyotlarında bulunan standart hayvan oda ve kafeslerinde barındırılmıştır. Denekler adlibitum olarak dinlendirilmiş su ve standart pellet yem ile beslendi. Hayvanlara uygulanan deneysel uygulamalar ve sakrifikasyon, DEÜ Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuarı'nda gerçekleştirildi.

3.7. Araştırmanın Değişkenleri

Bağımsız değişken: Madde uygulamaları (Diklofenak Sodyum, Kolşisin)

Bağımlı değişken: Ölçülen ürünler (Üre, Kreatinin, GFR)

3.8. Veri Toplama Araçları

3.8.1. Araştırmada kullanılan demirbaş malzemeler

Araştırmada deney başlangıcında ve deney sonunda denek ağırlıklarını ölçmek için terazi, antioksidan tartımı için hassas tartı, deneklerden elde edilen dokuların takibinde etüv, parafin blokların hazırlanmasında parafinin hazırlanması için dispenser, kesitlerin alınmasında mikrotom, su banyosu, boyamalarda kullanılması gerekli olan distile su ihtiyacı için distile su cihazı, immünohistokimyasal incelemeler için humidity chamber, otomatik mikropipetler, mikrodalga fırın, biyokimyasal incelemeler için soğutmalı santrifüj cihazı, malzemelerin saklanması için buzdolabı, formalin gibi kimyasal maddelerle çalışırken kullanılan çeker ocak, histolojik çalışmalarda kullanılan vorteks cihazı ve karıştırıcı kullanıldı.

3.8.2. Araştırmada kullanılan diklofenak sodyum ve kolşisinin hazırlanması

3.8.2.1. Diklofenak sodyumun hazırlanması

Diklofenak Sodyum (Diclomec 75mg/3ml, Abdi İbrahim ilaç) ampul formda eczaneden satın alındı. Diklofenak Sodyum 5 gün boyunca günde bir defa olmak üzere 50 mg/kg intramüsküler (im.) olarak deneklere uygulandı.

3.8.2.2. Kolşisinin hazırlanması

Kolşisin (Purity: 99.95%; HY-16569, MedChem Express) Alfagen, İzmir firmasından temin edildi. Kolşisin beyaz renkli kuru toz formunda olup steril serum fizyolojik içinde çözdürülerek hazırlandı. Kolşisin 5 gün boyunca günde bir defa olmak üzere 0,02 mg/kg oral gavaj yolu ile deneklere uygulandı.

3.8.3. Araştırmada kullanılan yöntemler

Deney sonunda elde edilen doku örneklerine rutin doku takibi prosedürü uygulandı, ince kesitleri alındı, çeşitli histokimyasal ve immünohistokimyasal boya uygulamalarına tabi tutuldu. Araştırmada histokimyasal değişiklikler için Hematoksilen Eozin (H&E), Periyodik Asit Schiff (PAS) boyamaları, immünohistokimyasal değişiklikler için NLRP3, Kaspaz-1 ve İL1-β boyamaları yapılmıştır. Alınan kan örneklerinden ise üre ve kreatinin düzeyleri ölçüldü.

3.8.3.1. Denek ağırlıklarının değerlendirilmesi

Deney başlangıcında ve deney sonunda deneklerin ağırlıkları ölçüldü. Denek ağırlıkların yüzde kilo değişimleri "[(son ağırlık- ilk ağırlık) /ilk ağırlık]x100" formülüyle hesaplanmıştır. Elde edilen veriler GraphPad Prism 9 istatistik programı kullanılarak, One-Way ANOVA ile değerlendirildi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8.3.2. Böbrek ağırlıklarının değerlendirilmesi

Deney sonunda sakrifiye edilen deneklerin böbrek ağırlıkları ölçülmüştür. Toplam böbrek ağırlıkları gruplar arasında GraphPad Prism 9 programında One-Way ANOVA ile değerlendirildi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmada $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8.3.3. Böbrek indeksi

Böbrek hasarı sürecinin makroskobik bir göstergesi böbrek indeksinin ölçümüdür. Bu indeks, hayvanın toplam ağırlığının her iki böbreğin ağırlığı ile değerlendirilmesiyle hesaplanır. Amacı böbrek kütlesinde değişiklik olup olmadığını değerlendirmek amacıyla hesaplanır (89). Hesaplama "böbrek ağırlıkları toplamı/ kilo (kg)" formülüyle yapıldı. Veriler gruplar arasında GraphPad Prism 9 programında One-Way ANOVA ile değerlendirildi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. Karşılaştırmada $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8.3.4. Histokimyasal incelemeler

Sakrifikasyon sonunda alınan sol böbrekler, histolojik incelemeler için %10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edildi.

3.8.3.4.1. Rutin doku takibi

Alınan böbrek dokusu %10'luk formaldehit solüsyonu ile 3 gün fikse edildi. Ardından fiksatifin uzaklaştırılması için 1 gece akarsu altında yıkama yapıldı. Dehidratasyonu sağlamak için sırasıyla %70, %80, %96'lık artan etil alkol serilerin içinde 20'şer dakika tutuldu. Şeffaflandırma için 30'ar dakika iki farklı ksilene tabi tutuldu. 1'er saat iki kez parafin içinde immersiyonu sağlandı. Tüm bu işlemler 60°C'lik etüv içerisinde gerçekleştirildi. Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığıyla bloklardan 5µm'lik parafin kesitlerin bir kısmı normal lamlara, bir kısmı ise poly-L lysine kaplı lamlara alındı.

3.8.3.4.2. Hematoksilen eozin boyama yöntemi

Alınmış olan kesitler, deparafinizasyon için 1 gece 60°C'lik etüvde tutuldu. Ardından ilki etüvde olmak üzere 20'şer dakika üç farklı ksilenden geçirildi. Dehidratasyon işlemi için 5 değişik azalan alkol serisinden geçirilip distile su ile çalkalandı ve hematoksilen boyası (01562E. Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyandı. Böylece nükleusların boyanması sağlandı. Boyamadan sonra, 10 dakika akarsu altında kesitler yıkanarak boya fazlası uzaklaştırıldı. Eozin boyası (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile 1 dakika boyandı. Böylece hücre sitoplazmasının boyanması sağlandı. Boyamanın ardından %70, %80, %96 şeklinde artan alkol serilerinden ve 2 kez absolü alkolden geçirildi. Sonrasında kesitler şeffaflaştırmanın sağlanması için 3 kez 20 dakika süreyle ksilende tutuldu ve Entellan (UN 1886, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

3.8.3.4.3. Periyodik asit schiff (PAS) boyama protokolü

Alınmış olan parafin kesitler deparafinizasyonun sağlanması amacıyla 1 gece boyunca 60°C'de etüvde bekletildi. Sonra önce 20 dakika (etüvde) daha sonra iki kez 20'şer dakika oda sıcaklığında üç kez ksilene tabii tutuldu. Daha sonra rehidratasyon sağlanması için 2 defa absolü alkol, %96, %80, %70'lik azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler distile suda çalkalandı. PAS (Periyodik Asit Schiff) boyama kiti (Facepath) içerisinden periyodik asit solüsyonundan (Reagent A) 10 damla damlatıp 10 dakika bekletilerek oksidasyon işlemi sonucunda aldehit gruplarının oluşması sağlandı. Ardından kesitler distile suda yıkandı. Üzerlerine 10 damla schiff reagent solüsyonu (Reagent B) damlatılarak 30 dakika bekletildi. Böylece schiff reagentin içerdiği sülfür fuksin, bazik fuksine benzer çözünmeyen işaretli bileşiklerdeki 2 komşu aldehit gurubunun değişmesini sağladı. Daha sonra kesitler tekrar distile suda yıkandı. Ardından 5 dk akarsuda yıkandı. Daha sonra üzerlerine 10 damla Harris Hematoksilen Solüsyonu (Reagent C) damlatılarak 5 dakika bekletildi. Böylece nükleusların boyanması sağlandı. Sonrasında 2 dk akarsuda yıkandı. Distile sudan geçirilen preparatlar dehidratasyonun sağlanması için artan alkol serilerinden geçirildi. Şeffaflandırmak için 3 değişim halinde 20 dakika süreyle ksilende bekletildi ve entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

3.8.3.5. Böbrek dokusunun histomorfolojisinin değerlendirilmesi

Elde edilen kesitler H&E ve PAS ile boyandıktan sonra böbrek dokusu değerlendirildi.

H&E boyama için böbrek hasarının semi-kantitatif değerlendirmesi amacıyla, böbrek kesitinin rastgele 10 farklı alanı incelendi. Histopatolojik değişiklikler; korteks ve medulladaki tübüler (fırça sınırının bozulması, tübüler hücrelerde vakuol varlığı, tübüler epitel hücre hasarı) ve glomerüler (atrofi) hasarın morfolojik analizi ile belirlendi. Her kriter 0-3 (0: normal, 1: hafif (+), 2: orta (++), 3: şiddetli (+++)) arasında puanlandı. Tübüler hasar skorları (fırça sınırının bozulması, tübüler hücrelerde vakuol varlığı, tübüler epitel hücre hasarı) toplanarak toplam tübüler hasar şiddeti olarak değerlendirildi. Toplam doku hasarının derecesi skorlanan tübüler ve glomerüler hasar verilerin (fırça sınırının bozulması, tübüler hücrelerde vakuol varlığı, tübüler epitel hücre hasarı ve glomerüler (atrofi) hasar) toplamı (toplam maksimum 12 puan) ile değerlendirildi (18,90–92).

PAS boyama için böbrek hasarının semi-kantitatif değerlendirmesi amacıyla, böbrek kesitinin rastgele 10 farklı alanı incelendi. Fırçamsı kenar kaybı 0-3 (0: normal, 1: hafif (+), 2: orta (++), 3: şiddetli (+++)) arasında puanlandı.

Veriler GraphPad Prism 9 istatistik proğramı kullanılarak Kruskal-Wallis testi uygulandı ve post-hoc Dunn testi ile değerlendirildi. Sonucu $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.8.3.6. İmmünohistokimyasal değerlendirmeler

3.8.3.6.1. İmmünohistokimya boya protokolü

NLRP3 (bs-10021R, Bioss), Kaspaz-1 p20 (bs-10442R, Bioss) ve IL1- β (bs-6318R, Bioss) immün reaktivitelerinin gösterilmesi amacıyla NLRP3, Kaspaz-1 ve İL1- β antikorları kullanıldı. Alınan kesitler 60°C'de etüv içerisinde 1 gece bekletildi. Sonrasında deparafinizasyon amacıyla 30'ar dakika üç kez değiştirilerek ksilolde tutuldu. Azalan alkol serilerinden geçirilip distile suda çalkalandı. Ardından NLRP3 ve Aktif Kaspaz-1 boyaması için dokuların etrafı pappen ile çizildi ve proteinaz K damlatıldı ve 37°C etüvde 15 dakika bekletildikten sonra kesitler 3 kez PBS ile yıkandı. IL1- β için mikrodalgada sodyum sitrat solüsyonu (Bio-optica, 15-M103, Milano, ITA) içerisinde, 600 watta 5 dakika tutulduktan sonra soğuması için 20 dakika bekletildi ve dokular PBS ile yıkandı. Suyu uzaklaştırılan dokuların etrafı pappen ile çizildi. Tüm kesitler 3 kez PBS ile yıkanan kesitler 10 dk %3 H_2O_2 ile oda ısısında muamele edildi. Tekrar PBS ile 3 defa yıkama yapıldı ve 30 dakika bloklama solüsyonu ile bekletildi. Primer antikor olarak rata spesifik NLRP3 (1:200, Bioss), aktif kaspaz-1 (1:200, Bioss), İL-1β (1:200, Bioss) ile +4°C'de 1 gece bekletildi. Ertesi gün kesitler oda ısısına gelene kadar bekletildikten sonra PBS ile 3 defa yapılan yıkamadan sonra biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz sekonder antikorunda (Histostain Plus Kit, 85-9043 San Francisco, USA) 30 dakika bekletildi. Yine PBS ile 3 defa kesitler yıkandı. İmmünohistokimyasal reaksiyonu görünür hale getirmek için DAB (Roche, Darmstadt, Almanya) ile muamele edildi. Distile suda yıkanan kesitlere mayer's hematoksilen kullanılarak artalanda boyama sağlandıktan sonra akarsu ile yıkandı. Artan alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

3.8.3.6.2. İmmünohistokimya değerlendirmesi

Böbrekteki NLRP3, Kaspaz-1 ve İL1- β proteinlerinin dağılımını belirlemek için Anti-NLRP3, Anti-Kaspaz-1 ve Anti-İL1- β antikor boyaması yapıldı.

3.8.3.6.3. Semikantitatif immünohistokimyasal analiz

Deney gruplarında bulunan her bir denek için tübülointersitisyel hasar ve glomerüler hasarı değerlendirmenin standart olması amacıyla böbrek dokusu kesitlerinde farklı bölgelerden 5 standart alan seçildi ve semikantitatif değerlendirme yapıldı. Semikantitatif skorlama; 0 (-) (Pozitif boyanma yok), 1 (+) (Zayıf pozitif boyanma), 2 (++) (Pozitif boyanma), 3 (+++) (Kuvvetli pozitif boyanma) şeklinde yapıldı.

3.8.3.7. Biyokimyasal incelemeler

3.8.3.7.1. Biyokimyasal serum üre, kreatinin ölçümü ve e(GFR)'nin hesaplanması:

1cc. kandan elde edilen serum örnekleri spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ölçümü yapılan parametreler, serum üre ve kreatinindir.

Tahmini GFR'yi (estimated GFR (eGFR)) hesaplamak için aşağıdaki formüller kullanıldı.

Plazma kreatinin <52 µmol/L: $eGFR = 880 \times W^{0,695} \times C^{-0,660} \times U^{-0,391}$

Plazma kreatinin ≥ 52 µmol/L: $eGFR = 5862 \times W^{0,695} \times C^{-1,150} \times U^{-0,391}$

Burada eGFR tahmini GFR'yi (µL/dak), W ağırlığı (g), C kreatinin konsantrasyonunu (µmol/L) ve U üreyi (mmol/L) ifade eder. (93)

Veriler (üre, kreatinin ve eGFR değerleri) gruplar arasında GraphPad Prism 9 programında One-Way ANOVA ile değerlendirildi ve post-hoc Tukey testi kullanıldı. Karşılaştırmada $p<0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.9. Araştırma Planı ve Takvimi

Tez Konusu Belirlenmesi ve Literatür Araştırması 05.2023-09.2024

Etik Kurul ve Yönetim Kurulu Onayı 01.11.2023

Deneysel Verilerin Toplanması 05.2024-07.2024

Laboratuvar Çalışmaları 07.2024-09.2024

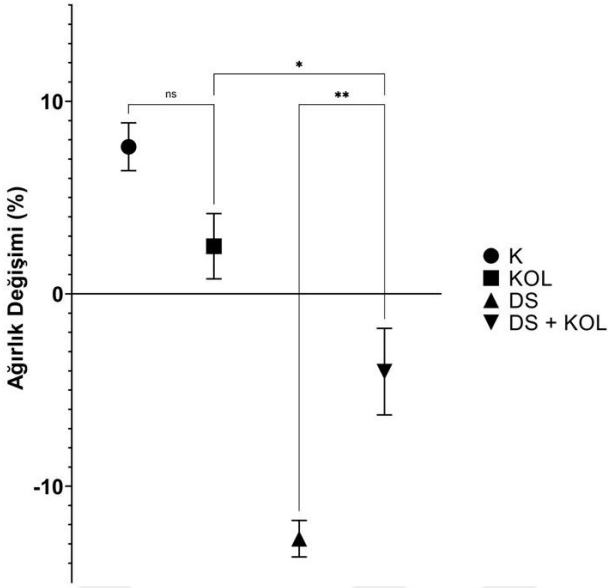
3.10. Verilerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 9 programı kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu analitik yöntemler (Kolmogorov- Smirnov/ShapiroWilk testleri) kullanılarak incelendi. Normal dağılan gruplarda One-Way ANOVA testi uygulandı, post-hoc Tukey testi yapıldı. Normal dağılmayan gruplarda Kruskal-Wallis testi uygulandı ve post-hoc Dunn testi yapıldı. Tüm istatistikler ortalama±standart hata kullanılarak verildi. p-değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (94).

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıklarının Değerlendirmesi

Tüm gruplardaki sıçanların deneyin başlangıcında ve sonunda ağırlık ölçümleri yapıldı. Her grubun deney sonunda başlangıca göre yüzde kilo değişimleri hesaplandı. Bunun için son ağırlıktan başlangıç ağırlığı çıkarıldı ve sonuç başlangıç ağırlığa bölünerek 100 ile çarpıldı. Çıkan sonuç istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Kontrol ve kolşisin grubunda başlangıca göre kilo alımının olduğu ve bu iki grup arasında kilo alım oranları arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p>0,05$) (Şekil 26, Tablo 1). Diklofenak sodyum ve diklofenak sodyum+kolşisin gruplarında ise başlangıca göre kilo kaybının olduğu görüldü. Bu iki grup arasında kilo kayıp oranları karşılaştırıldığında diklofenak sodyum grubunda kilo kaybının diklofenak sodyum+kolşisin grubuna göre anlamlı derecede fazla olduğu görüldü ($p=0,0065$). Hem diklofenak sodyum grubu hem de diklofenak sodyum+kolşisin grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı dercede kilo kaybının olduğu görüldü. Ancak kontrol ve kolşisin grubları ile karşılaştırıldıklarında, diklofenak sodyum grubunun (K-DS ($p<0.0001$), KOL-DS ($p<0.0001$)), diklofenak sodyum+kolşisin grubuna göre (K-DS+KOL ($p=0,0002$), KOL_DS+KOL ($p=0,0403$)) kilo kayıp oranının daha fazla olduğu görüldü. Sıçanların kilo değişim yüzdelerinin karşılaştırılmaları Şekil 26, Tablo 1'de verilmiştir.



Şekil 26: Deneklerin kilo değişim yüzdelerinin karşılaştırılması

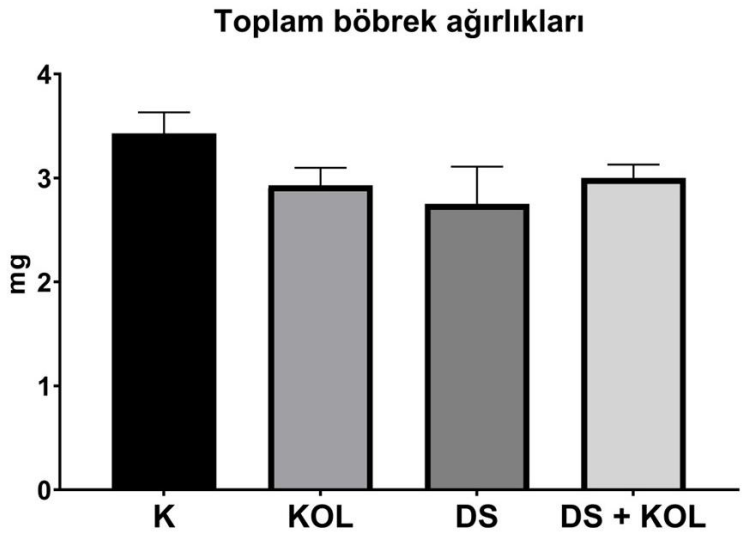
Tablo 1: Ağırlık değişimi (%) (Ortalama±Std. Hata)

Gruplar	**(p= <0,0001)**
Kontrol	7,642±1,241
Kolşisin	2,473±1,698
Diklofenak Sodyum	-12,73±0,9464
Diklofenak sodyum+Kolşisin	-4,045±2,249

4.2. Böbrek Ağırlıklarının Karşılaştırılması

Tüm gruplar arasında toplam böbrek ağırlıkları (sağ+sol böbrek) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05).

Sıçanların toplam böbrek ağırlıklarının karşılaştırılmaları Şekil 27, Tablo 2'de verilmiştir.



Şekil 27: Gruplar arası böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması

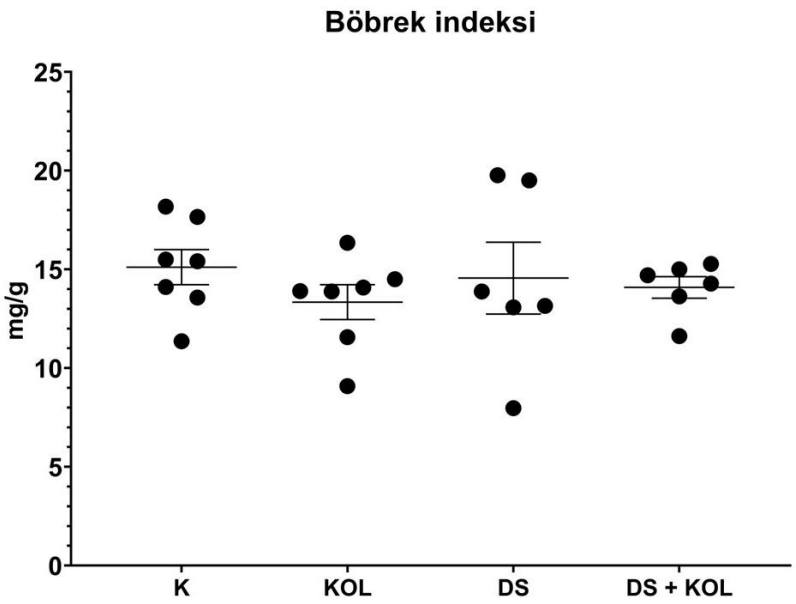
Tablo 2: Gruplar arasında toplam böbrek ağırlıkları (sağ+sol) ve böbrek indeksleri karşılaştırması (ortalama ± Std. Hata)

Gruplar	**Toplam böbrek ağırlıkları (mg) (p=0,2036)**	**Böbrek indeksi (p=0,6911)**
Kontrol	3,429±0,202	15,11±0,8945
Kolşisin	2,929±0,17	13,34±0,8831
Diklofenak Sodyum	2,75±0,3594	14,56±1,823
Diklofenak sodyum+Kolşisin	3±0,1291	14,09±0,5466

4.3. Böbrek İndeksi Değerleri Karşılaştırılması

Böbrek hasarı sürecinin makroskobik bir göstergesi olan böbrek indeksinin ölçümüdür. Bu indeks, hayvanın toplam böbrek ağırlığı vücut ağırlığına bölünerek hesaplandı.

Böbrek indeksleri karşılaştırıldığında, tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 2). Ancak diklofenak sodyum grubunda minimum ve maksimum ağırlıklar arası bireysel fark dikkat çekici olarak görülmektedir (Şekil 28).

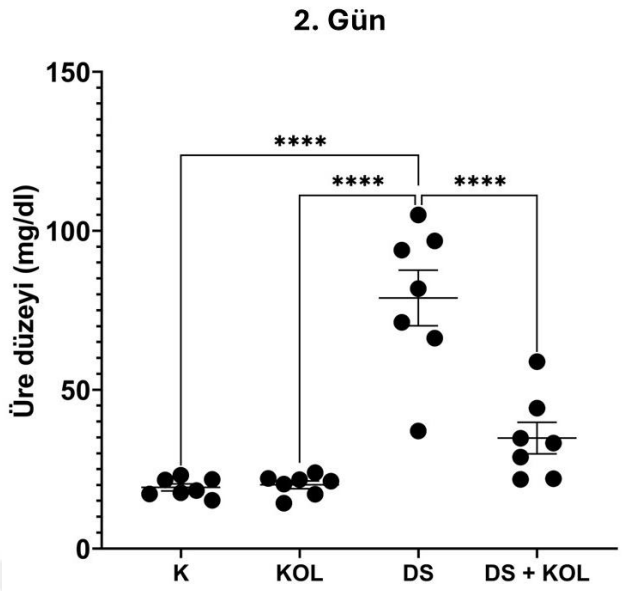


Şekil 28: Gruplar arası böbrek indekslerinin karşılaştırılması

4.4. Biyokimyasal Bulgular

4.4.1. Kan üre değerlerinin değerlendirilmesi

İlk ilaç uygulamasından 24 saat sonra (2.gün) alınan kan örneklerinden çalışılan serum üre değerleri arasında kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+ kolşisin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Diklofenak sodyum grubu ise diğer 3 grup ile karşılaştırıldığında serum üre değeri sonuçlarının diğer tüm gruplara göre anlamlı derecede artmış olduğu görüldü ($p<0,05$) (Şekil 29, Tablo 3).

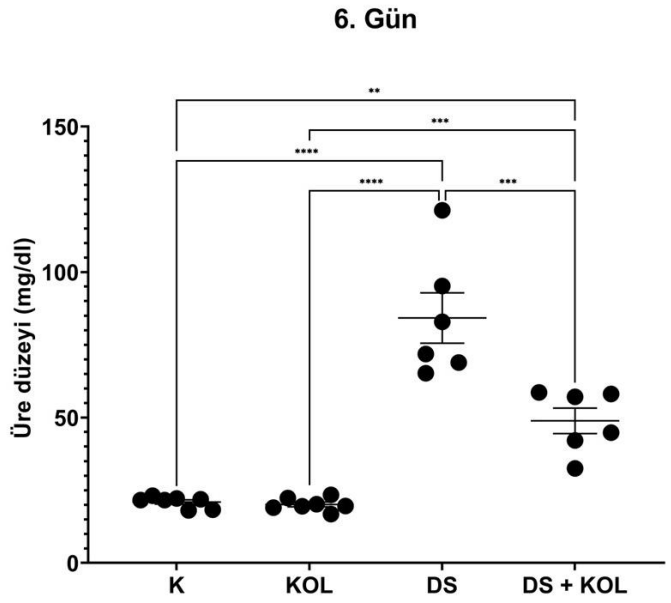


Şekil 29: 2.gün kanda üre değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 3: Kanda üre ölçümleri (ortalama ± Std. Hata)

Gruplar	**2.gün kanda üre ölçümleri (p=<0,0001)**	**6.gün kanda üre ölçümleri (p=<0,0001)**
Kontrol	19,26 ±1,103	20,97±0,7412
Kolşisin	20,09 ±1,243	20,11±0,823
Diklofenak Sodyum	78,84 ±8,744	84,2±8,642
Diklofenak Sodyum+ Kolşisin	34,79 ±4,966	48,87±4,389

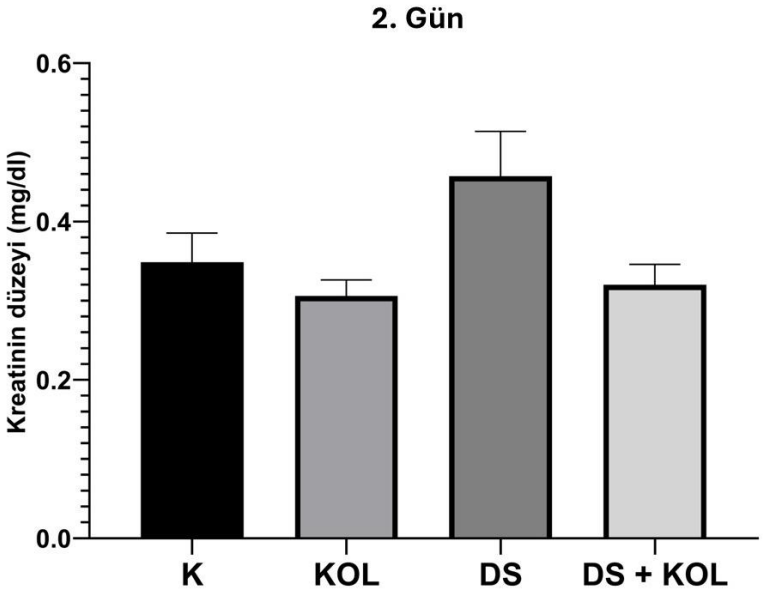
5.gün ilaç uygulamasından 24 saat sonra (6.gün) sakrifikasyonda alınan kan örneklerinden çalışılan serum üre değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve kolşisin grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Diklofenak sodyum grubu ve diklofenak sodyum+kolşisin gruplarının üre düzeyleri kontrol ve kolşisin grubuna göre anlamlı olarak artmış olarak bulundu ($p<0,05$). Diklofenak sodyum grubu ile diklofenak sodyum+kolşisin grubu karşılaştırıldığında ise diklofenak sodyum grubunu üre düzeylerinin diklofenak sodyum+kolşisin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu görüldü ($p=0,0001$). Grupların 6.gün kanda üre değerlerinin karşılaştırılmaları Şekil 30, Tablo 3'te verilmiştir.



Şekil 30: 6.gün kanda üre değerlerinin karşılaştırılması

4.4.2. Kan kreatinin değerlerinin değerlendirilmesi

İlk ilaç uygulamasından 24 saat sonra (2.gün) alınan kan örneklerinden çalışılan serum kreatinin değerleri arasında kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+ kolşisin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Diklofenak sodyum grubu ise diğer 3 grup ile karşılaştırıldığında serum kreatinin değerinin anlamlı derecede artmış olduğu görüldü ($p<0,05$) (Şekil 31, Tablo 4).

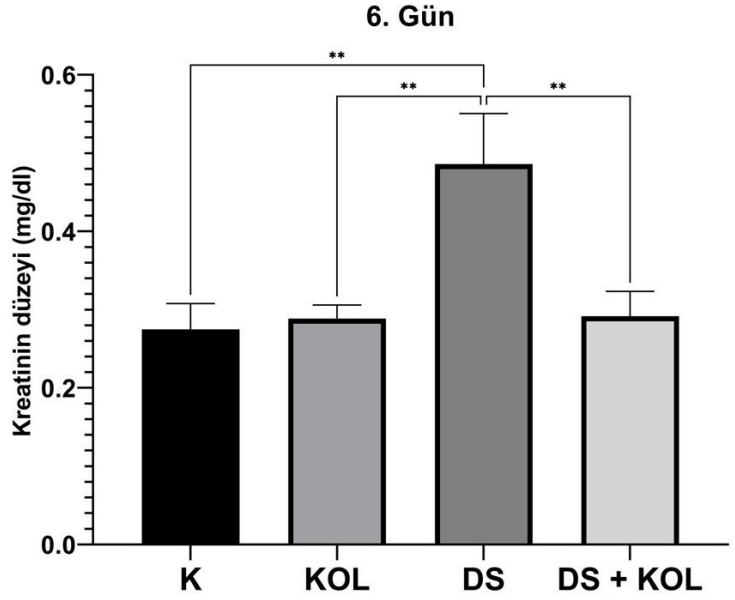


Şekil 31: Grupların 2.gün serum kreatinin değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 4: Kanda kreatinin ölçümleri (ortalama ± Std. Hata)

Gruplar	2.gün kanda kreatinin ölçümleri (p=0,0533)	6.gün kanda kreatinin ölçümleri (p=0,0025)
Kontrol	0,3486±0,03674	0,275±0,03284
Kolşisin	0,306±0,02015	0,2886±0,01738
Diklofenak Sodyum	0,4571±0,05668	0,486±0,06454
Diklofenak Sodyum+ Kolşisin	0,32±0,02582	0,2917±0,03167

5.gün ilaç uygulamasından 24 saat sonra (6.gün) sakrifikasyonda alınan kan örneklerinden çalışılan serum kreatinin değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve kolşisin grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı görüldü. Diklofenak sodyum grubu ve diklofenak sodyum+kolşisin gruplarının kreatinin düzeylerinin kontrol ve kolşisin gruplarına göre anlamlı olarak artmış olduğu bulundu ($p<0,05$). Diklofenak sodyum grubu, diklofenak sodyum+kolşisin grubu ile karşılaştırıldığında ise diklofenak sodyum grubunun kreatinin düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu görüldü (p=0,0001) (Şekil 32, Tablo 4).

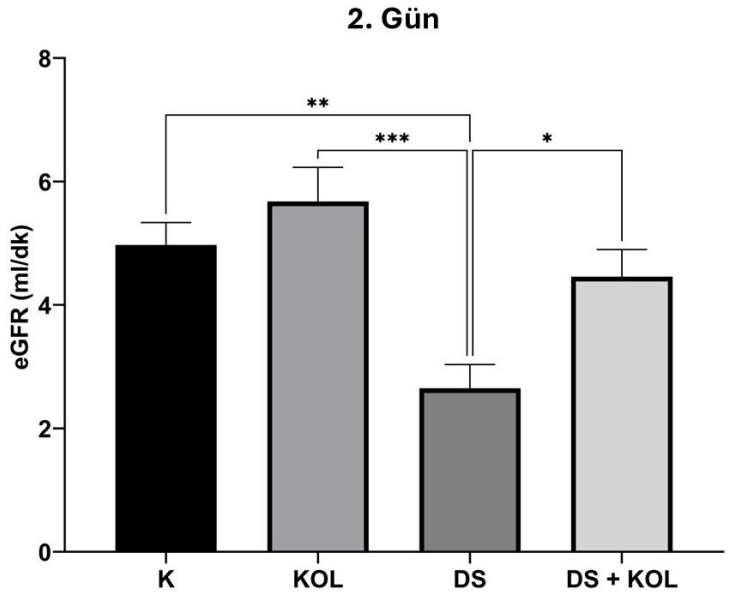


Şekil 32: Grupların 6.gün serum kreatinin değerlerinin karşılaştırılması

4.4.3. Glomerüler filtrasyon hızlarının (GFR) karşılaştırılması

Deneklerden elde edilen kan örneklerinden serumda üre ve kreatinin değerleri kullanılarak 2.gün ve 6.gün tahmini glomerüler filtrasyon hızları (eGFR) hesaplandı ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Buna göre 2.gün eGFR değerleri incelendiğinde kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+kolşisin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Diklofenak sodyum hasar grubun eGFR değerleri ise kontrol ($p=0,0033$), kolşisin ($p=0,0005$) ve diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ($p=0,0248$) göre anlamlı ölçüde azalmıştı (Şekil 33, Tablo 5).

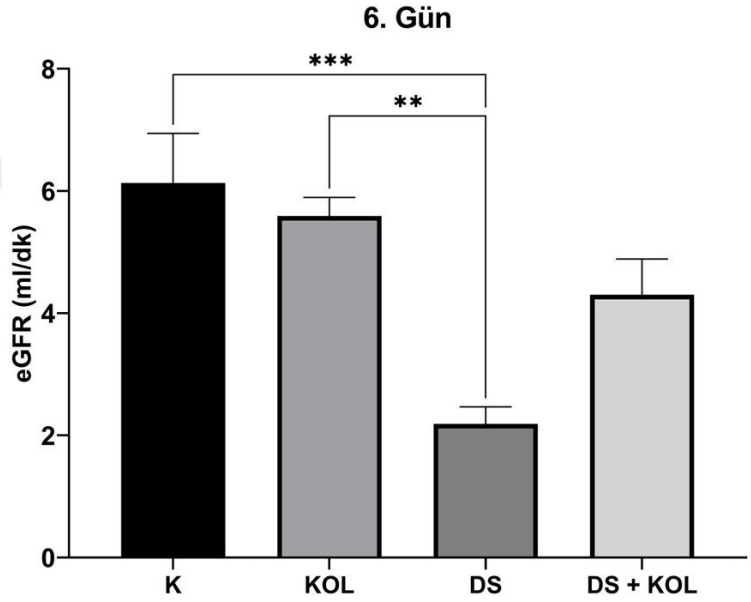


Şekil 33: Gruplar arasında 2.gün eGFR değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 5: eGFR değerleri (ortalama ± Std. Hata)

Gruplar	**2.gün eGFR değerleri (p=0,0005)**	**6.gün eGFR değerleri (p=0,0004)**
Kontrol	4,971±0,365	6,133±0,809
Kolşisin	5,68±0,5508	5,589±0,306
Diklofenak Sodyum	2,649±0,388	2,188±0,2778
Diklofenak Sodyum+ Kolşisin	4,457±0,4412	4,3±0,5854

6.gün eGFR değerleri karşılaştırıldığında kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+kolşisin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05). Diklofenak sodyum hasar grubunun eGFR değerleri ise kontrol, kolşisin gruplarına göre anlamlı ölçüde azalmıştı (p<0,05) (Şekil 34). Diklofenak sodyum grubunun eGFR'si diklofenak sodyum+kolşisin grubuna göre azalmış olsa da (Tablo 5) istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilemedi (p=0,0714) (Şekil 34).

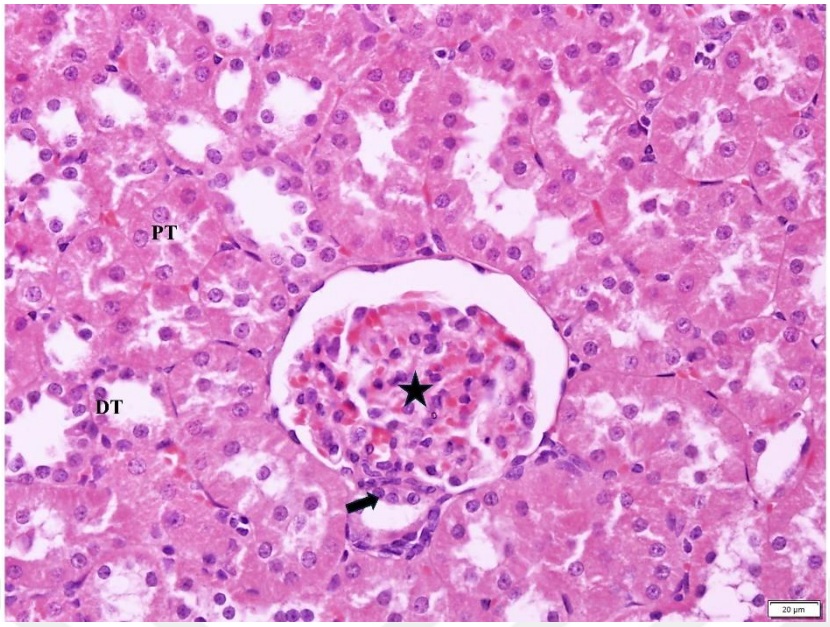


Şekil 34: Gruplar arasında 6.gün eGFR değerlerinin karşılaştırılması

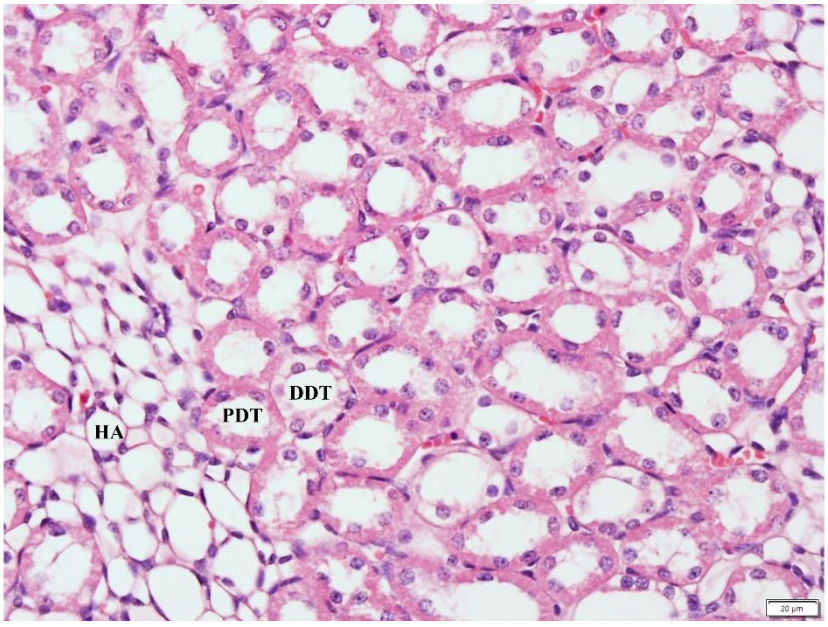
4.5. Histolojik Bulgular

4.5.1. Hematoksilen eozin (H&E) boyamaların değerlendirilmesi

Kontrol grubu deneklerinin böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri ışık mikroskobunda incelendiğinde, normal görünümlü glomerüller, proksimal tübüller ve distal tübüller, toplayıcı borular, damarlar ve normal görünümde tübülointerstisyel alanlar gözlendi. Glomerüllerde atrofi izlenmedi (Şekil 35). Proksimal tübüller piramidal şekilli, fırçamsı kenarı normal morfolojide düzenli bir görünüme sahip olan hücrelerden oluştuğu gözlendi. Distal tübüllerin izoprizmatik hücrelerle döşeli, normal çap ve morfolojide olduğu gözlendi. Tübüler epitel hücrelerinde vakuol oluşumu gözlenmedi (Şekil 35, 36).



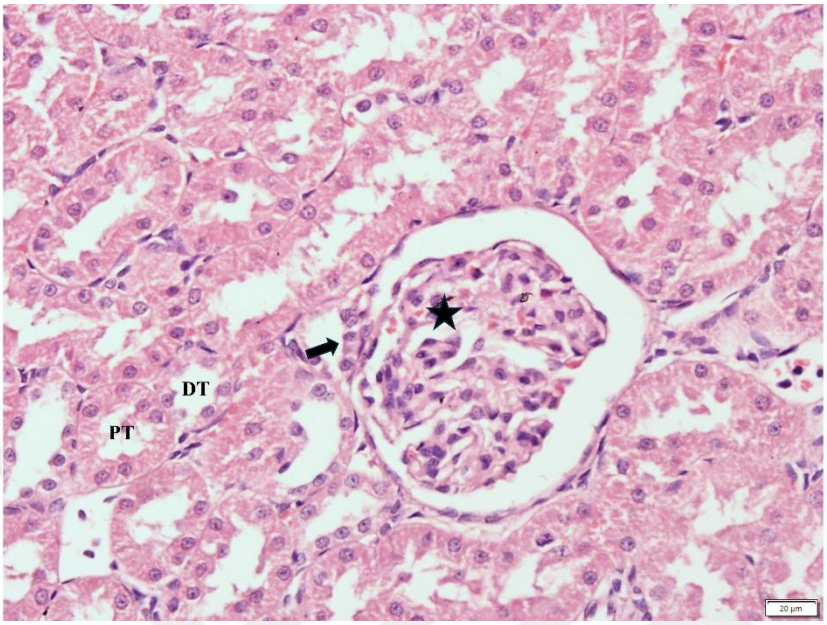
Şekil 35: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), glomerül (siyah yıldız), maküla densa (siyah ok); 20 µm.



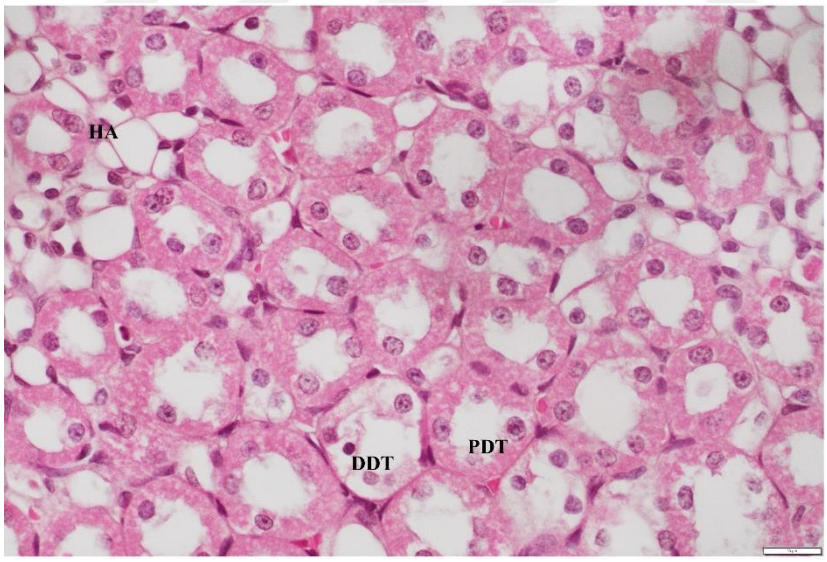
Şekil 36: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimak düz tübül (PDT), Distal düz tübül (DDT), Henle ansı (HA); 20 µm.

Kolşisin grubu deneklerinin böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; normal görünümlü Malpighi cisimciği, proksimal ve distal tübüller, toplayıcı borular ve tübülointerstisyel alanlar gözlendi. Glomerüler atrofi, tübüler epitel hücrelerde vakuol, fırça sınırında bozulma, tübüler epitel

hücrelerde hasar gözlenmedi. Kontrol grubundan farklı bir bulgu tespit edilmedi (Şekil 37, 38).



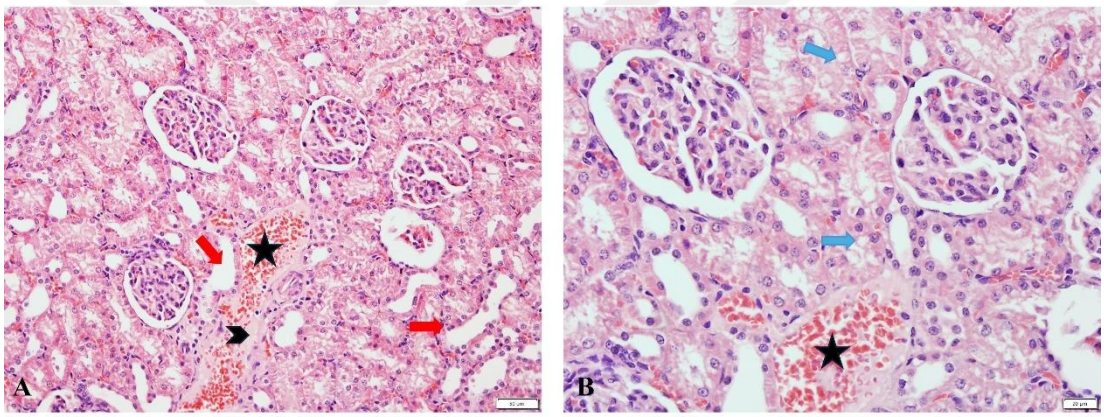
Şekil 37: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), glomerül (siyah yıldız), maküla densa (siyah ok); 20 µm.



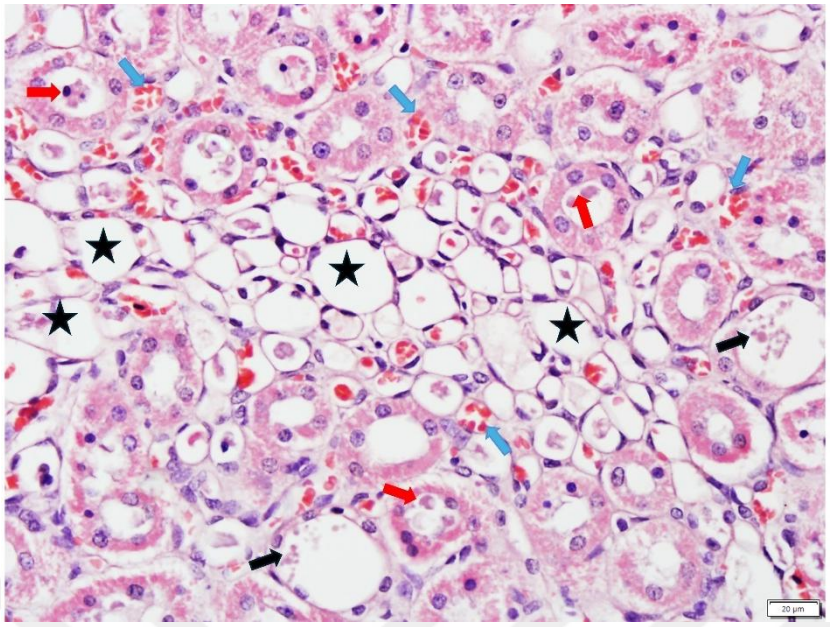
Şekil 38: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksima düz tübül (PDT), Distal düz tübül (DDT), Henle ansı (HA); 20 µm.

Diklofenak sodyum grubu deneklerinin böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; glomerüllerin bazılarının normal büyüklük ve şekillerini kaybetmiş olduğu, bazı glomerüllerin atrofik olduğu gözlendi.

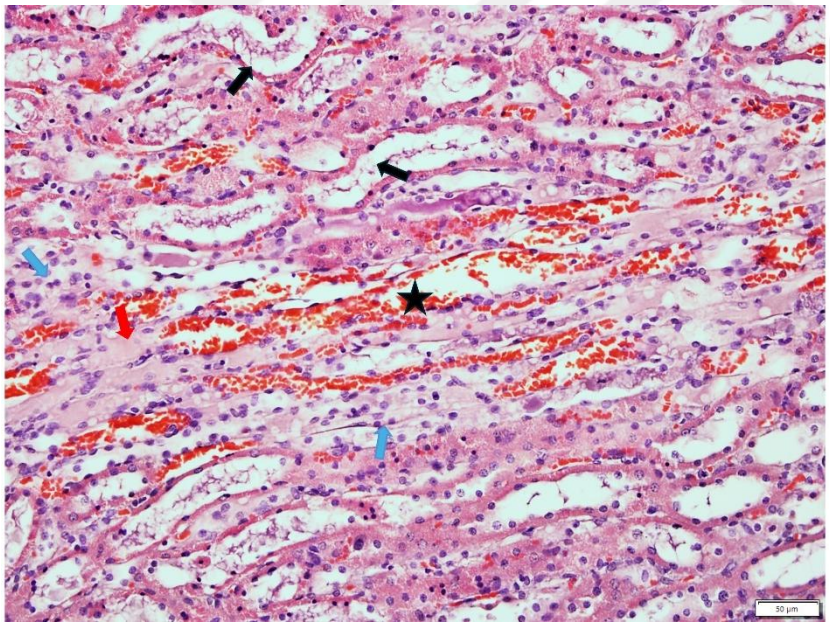
Bu bozulmalar neticesinde Bowman boşluğunun düzensizleştiğini ve genişlediği gözlemlendi (Şekil 39). Proksimal tübüllerde bazılarında lümen tamamen kapanma eğilimindeyken bazılarında tübül epitel hücrelerinde silinmeler ile lümende dilatasyon gözlendi. Henle ansının ince kolunda ve distal tübüller tübülerde genişlemeler gözlendi. Toplayıcı tübüllerde de genişlemeler görüldü. Ayrıca tübülleri döşeyen epitel ileri derecede dejeneratif değişiklikler gösterdi. Tübülleri döşeyen epitel hücrelerinde hücre içi vakuolleşmenin belirtisi olarak sitoplazmada köpüksü bir görünüm (sitoplazmik vakuolizasyon) (Şekil 39) ve fırçamsı kenarda bozulmalar, epitel hücreleride yer yer deskuamasyon (dökülme) varlığı gözlendi (Şekil 40). Korteks ve kortikomeduller intersitisyel alanda olmak üzere çok sayıda lökositik infiltrasyon alanları ve kanama alanları görüldü (Şekil 41).



Şekil 39: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. A. Kanama alanı (siyah yıldızlar), tübüler dilatasyon (kırmızı oklar), hyalin kast (siyah ok başı), hyalin kast (siyah ok başı); 50 µm. B. tübüler hücrelerde vakuolizasyon (mavi oklar), kanama alanı (siyah yıldızlar); 20 µm.



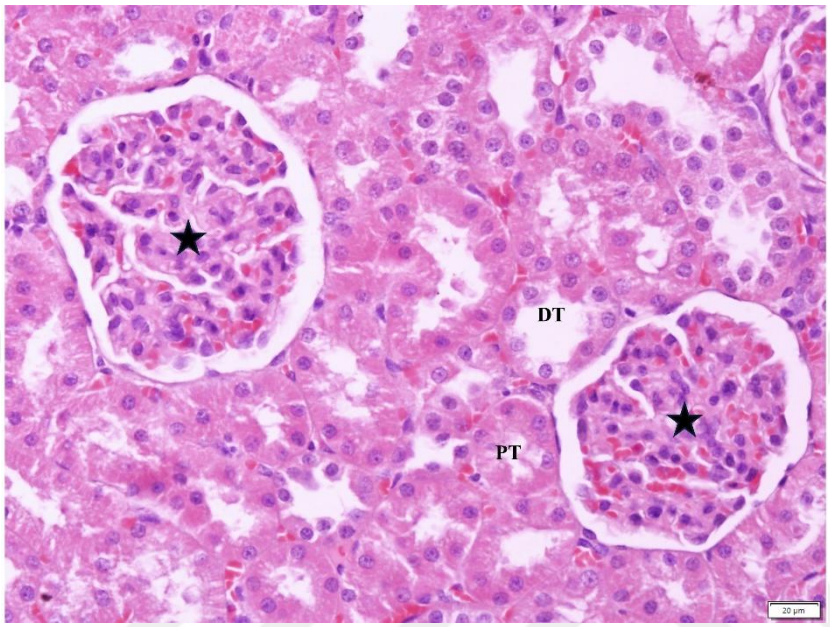
Şekil 40: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Genişlemiş Henle ansı (siyah yıldız), Proksimal düz tübül lümeninde epitel döküntüleri (kırmızı oklar), tübül lümeninde epitel döküntüleri (siyah ok), kan ekstravazasyonu (mavi oklar); 20 µm.



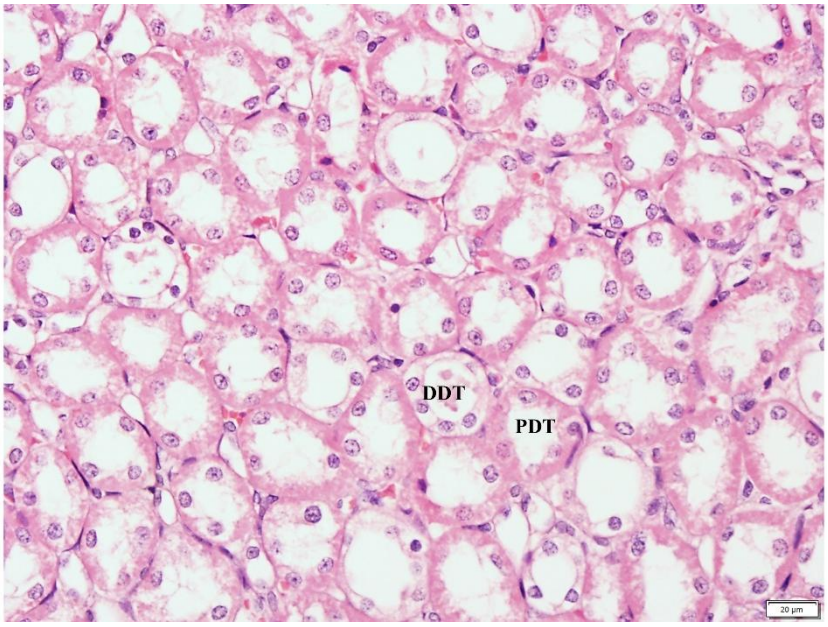
Şekil 41: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Kanama alanları (siyah yıldız), tübül epitelinde incelme, tübülde tribuşon benzeri morfolojik değişiklik (siyah oklar), mononüklear hücre infiltrasyonları (mavi oklar); 50 µm.

Diklofenak sodyum+kolşisin grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; diklofenak sodyum grubuna göre, yapının genel olarak korunduğu görüldü. Glomerül morfolojilerinin korunduğu, atrofinin olmadığı, çoğu glomerülün şekil ve yapı bakımından normale yakın olduğu gözlendi (Şekil 42). Diklofenak sodyum grubunda gözlenen, tübüler dilatasyonların

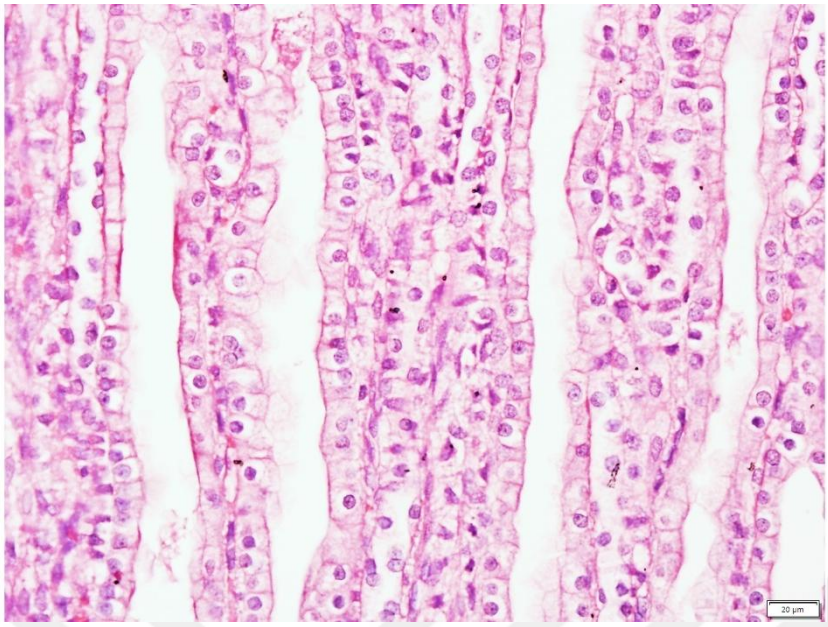
belirgin olarak azalmıştı. Diklofenak sodyum grubundaki dejenerasyonun aksine epitel hücre dejenerasyonu, epitelde deskuamasyon ve vakuolleşmenin belirgin şekilde az olduğu saptandı. Korteks ve kortikomeduller alanlardada intersitisyumdaki lökosit infiltrasyon alanları ve kanama alanları sayı olarak oldukça azdı ve alan olarak da daha küçüktü (Şekil 43,44).



Şekil 42: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, H&E boyama. Proksimal tübül (PT), distal tübül (DT), glomerül (siyah yıldız); 20 µm.

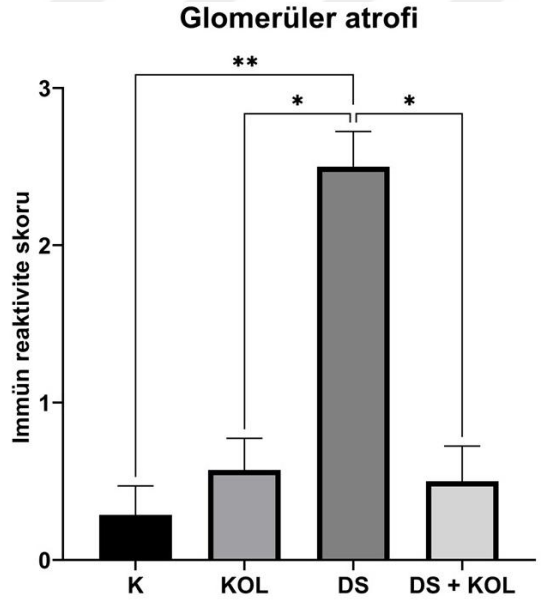


Şekil 43: Diklofenak sodyum+ koşisin grubuna ait böbrek kesiti. Proksimal düz tübül (PDT), Distal düz tübül (DDT); 20 µm.

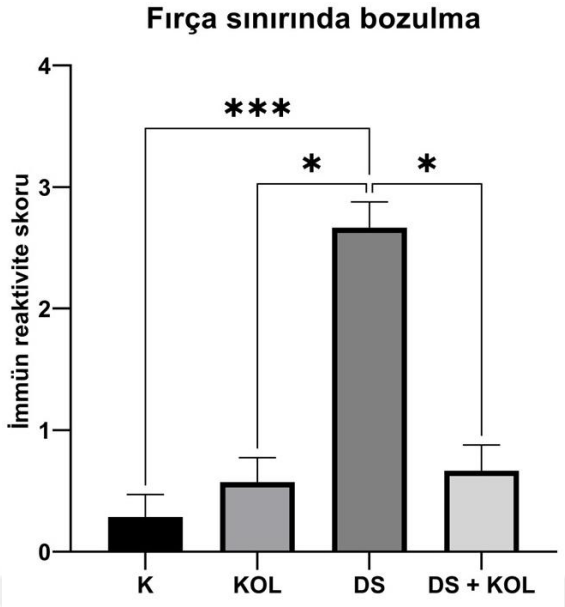


Şekil 44: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Toplama tübülleri, H&E boyama; 20 µm.

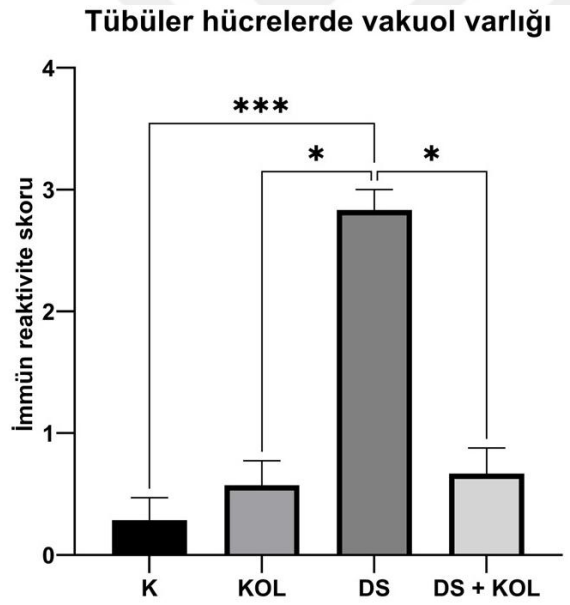
Histolojik parametrelerin gruplar arasında karşılaştırmaları Şekil 45-50 ve Tablo 6'da verilmiştir.



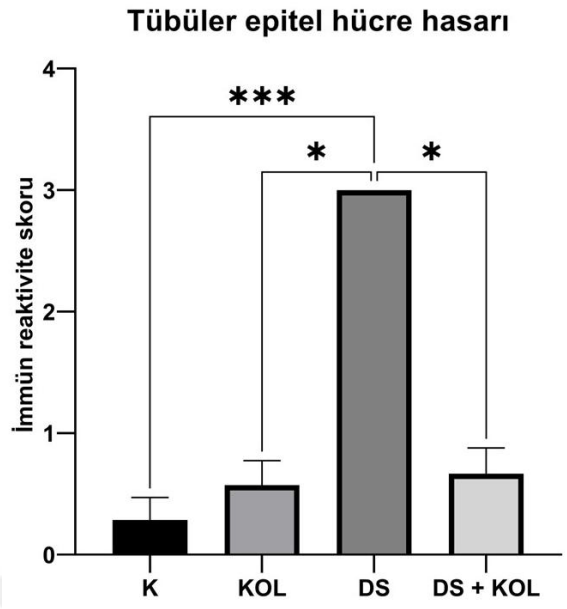
Şekil 45: Gruplar arasında glomerüler atrofinin karşılaştırılması.



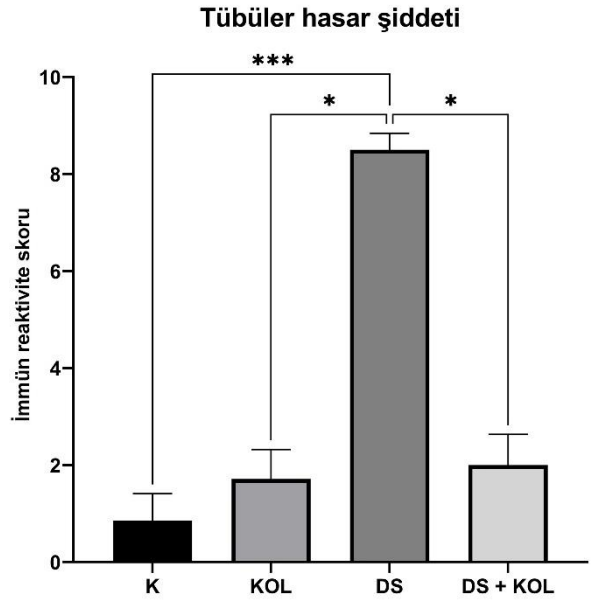
Şekil 46: Gruplar arasında fırça sınırında bozulmanın karşılaştırması.



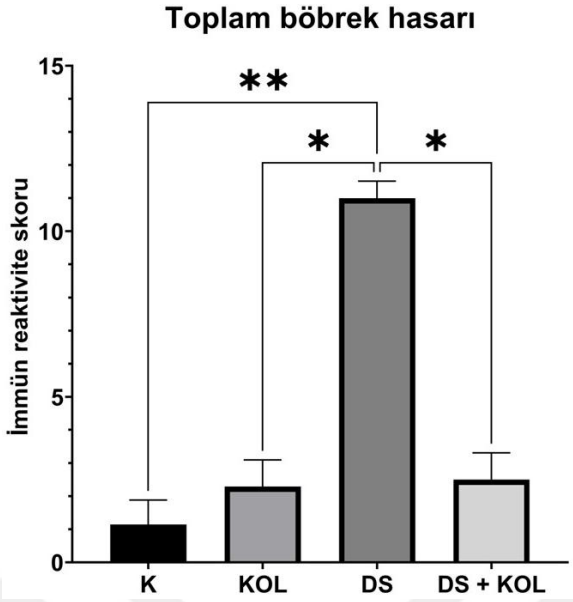
Şekil 47: Gruplar arasında tübüler hücrelerde vakuol varlığının karşılaştırılması.



Şekil 48: Gruplar arasında tübüler epitel hücre hasarının karşılaştırılması.



Şekil 49: Gruplar arasında toplam tübüler hasar şiddetinin karşılaştırılması



Şekil 50: Gruplar arasında toplam böbrek hasarının karşılaştırılması.

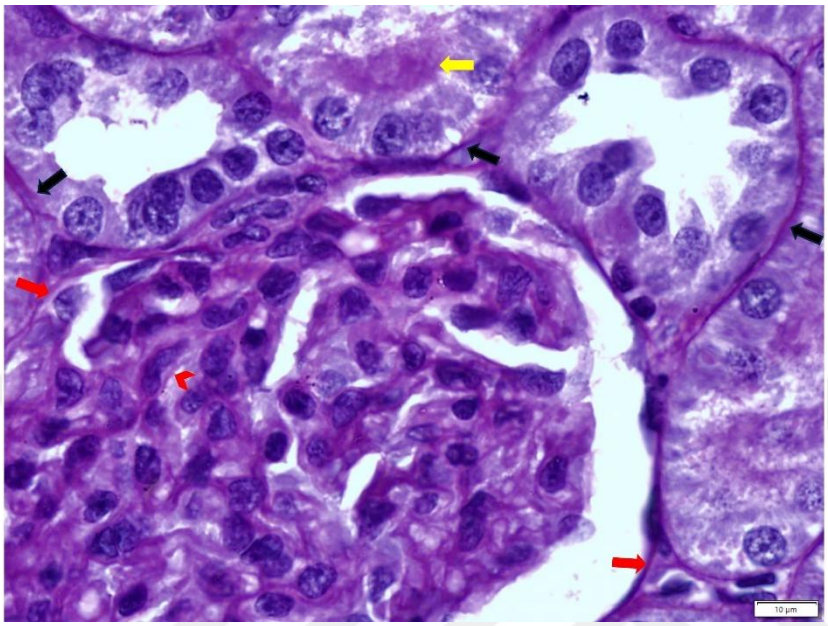
Tablo 6: Histolojik parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması; H&E boyama (Ortalama±Std. Hata)

Gruplar	Glomerüler atrofi (p=0,0013)	Fırça sınırında bozulma (p=0,0011)	Tübüler hücrelerde vakuol varlığı (p=0,0011)	Tübüler epitel hücre hasarı (p=0,001)	Tübüler hasar şiddeti (p=0,0011)	Toplam böbrek hasarı (p=0,0014)
Kontrol	0,2857± 0,184	0,2857± 0,1844	0,2857± 0,1844	0,2857± 0,1844	0,8571± 0,5533	1,143± 0,7377
Kolşisin	0,5714± 0,202	0,5714± 0,202	0,5714± 0,202	0,5714± 0,202	1,714± 0,6061	2,286± 0,8081
Diklofenak Sodyum	2,5± 0,2236	2,667± 0,2108	2,833± 0,1667	3±0	8,5± 0,3416	11± 0,5164
Diklofenak Sodyum+ Kolşisin	0,5± 0,2236	0,6667± 0,2108	0,6667± 0,2108	0,6667± 0,2108	2± 0,6325	2,5± 0,8062

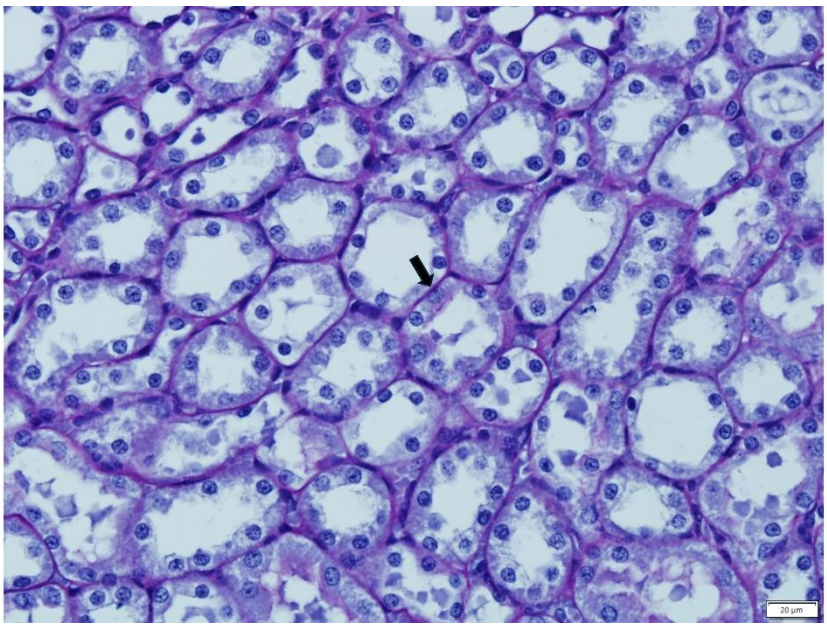
4.5.2. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyamaların Değerlendirmesi

Kontrol grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri PAS boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobunda incelendiğinde, tübül epitel hücreleri ve endotel hücrelerinin ince bir bazal membran üzerine oturduğu gözlendi. Glomerülerde filtrasyon bariyerinin yapısında katılan bazal membran ve Bowman kapsülünde bulunan bazal membran normal olarak gözlendi (Şekil 51). Ayrıca

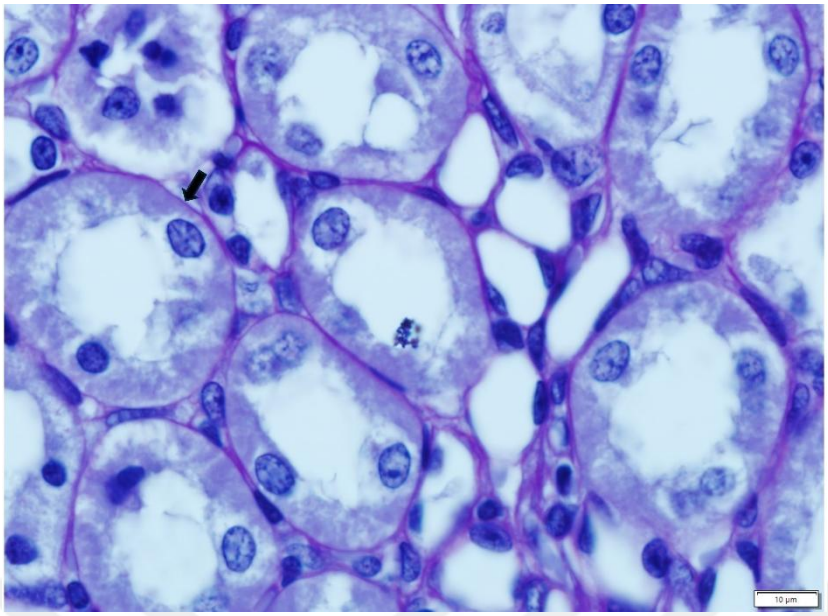
özellikle proksimal tübül lümeninde belirgin şekilde gözlemlenen apikal hücre yüzey farklılaşması olan mikrovillusların, fırçamsı kenarı oluşturarak PAS boyamasında pozitif (+) reaksiyon gösterdiği gözlendi (Şekil 52, 53).



Şekil 51: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Glomerül bazal membranı (kırmızı oklar), tübül bazal membranı (siyah oklar), fırçamsı kenar (sarı ok), glomerüler filtrasyon bariyerinin bazal membranı (kırmızı ok başı); 10 µm.

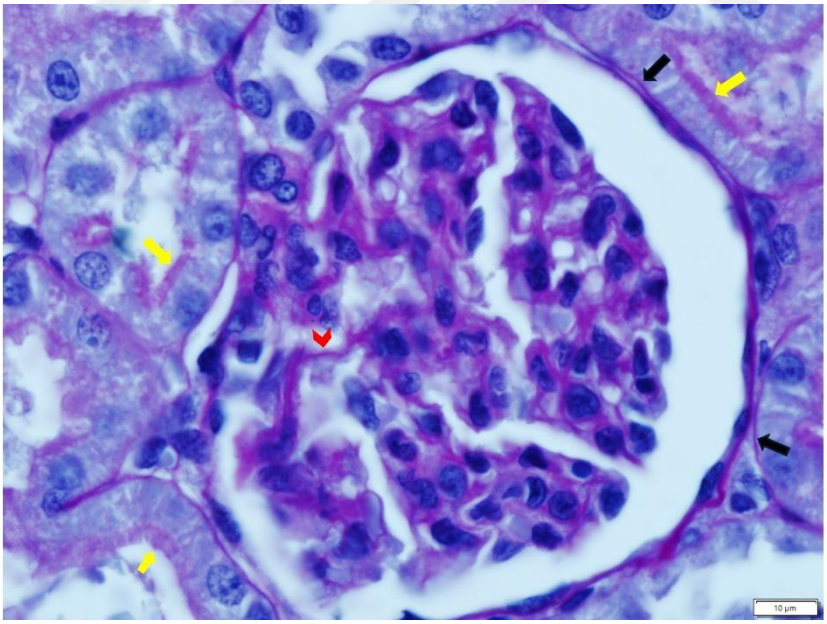


Şekil 52: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah ok); 20 µm.

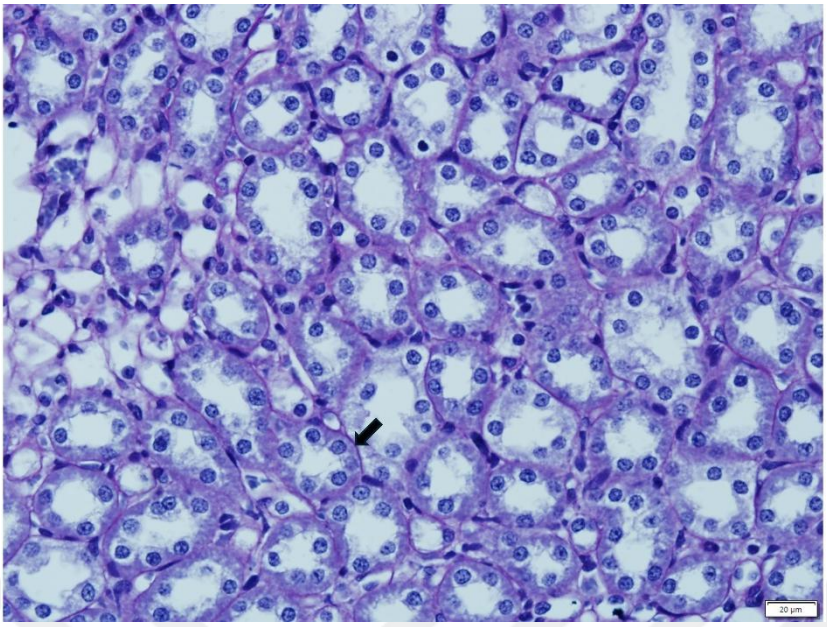


Şekil 53: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah ok); 10 µm.

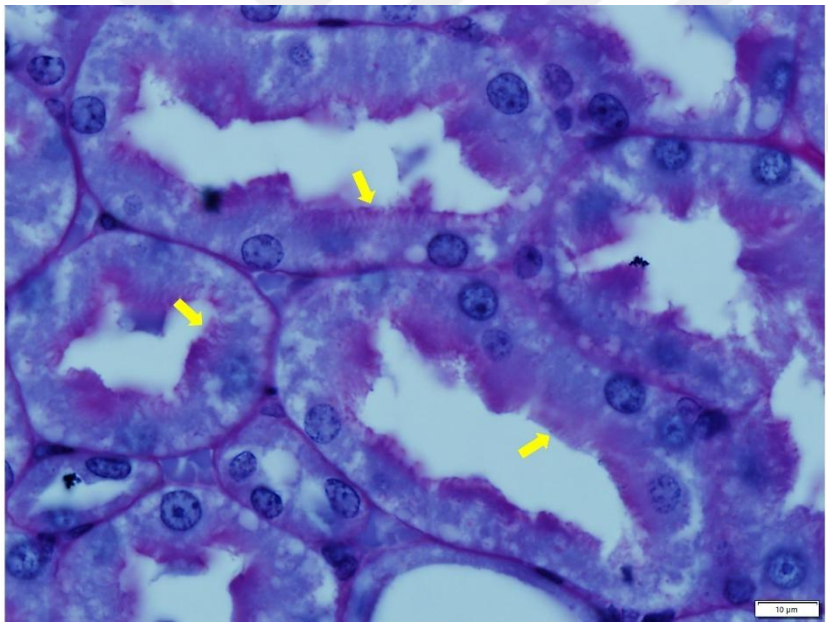
Kolşisin grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri PAS boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobunda incelendiğinde, kontrol grubuna benzer normal morfolojide böbrek dokusu gözlendi (Şekil 53-55).



Şekil 54: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah oklar), fırçamsı kenar (sarı oklar), glomerüler filtrasyon bariyerinin bazal membranı (kırmızı ok başı); 10 µm.



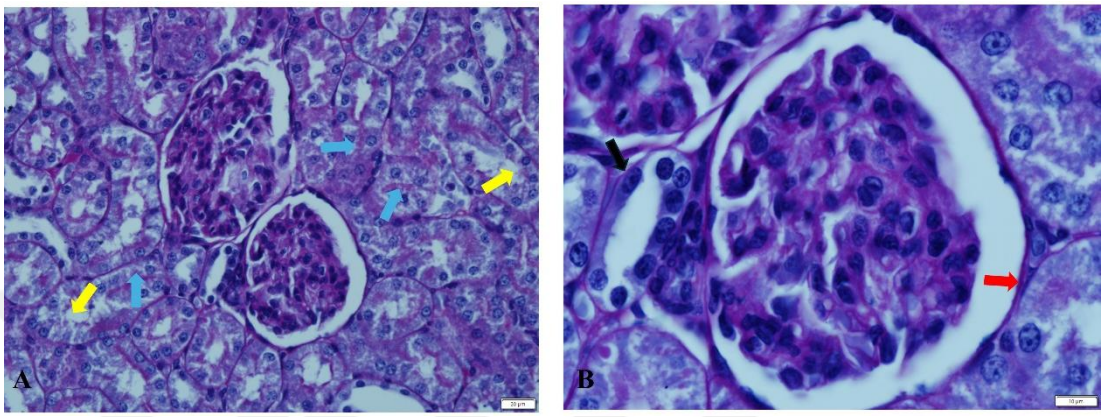
Şekil 55: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Tübül bazal membranı (siyah ok); 20 µm.



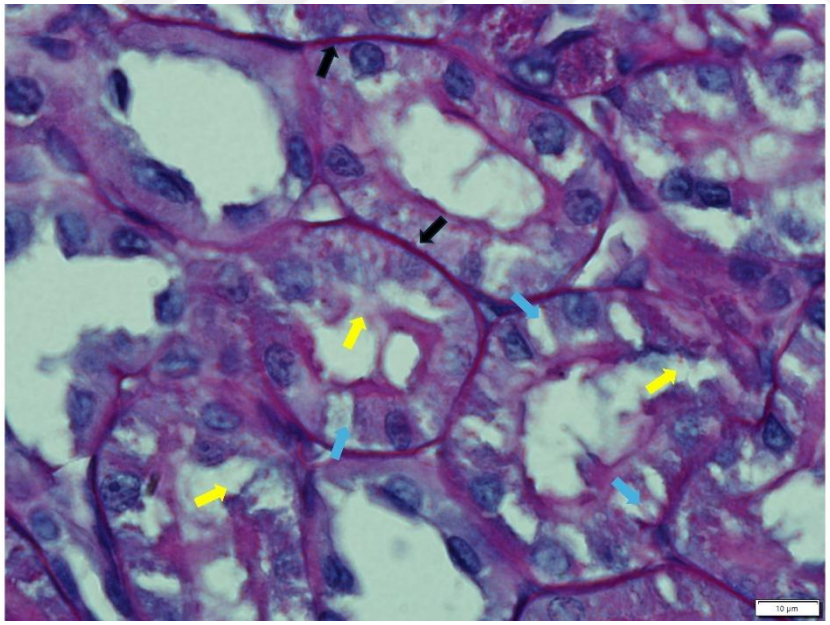
Şekil 56: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, PAS boyama. Fırçamsı kenar (sarı oklar); 10 µm.

Diklofenak sodyum grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri PAS boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobunda incelendiğinde, Glomerülde Bowman kapsülünün bazal membranı, glomerüler bazal membran ile tübüllere ait bazal membranlarda diğer gruplara göre nispeten kalınlaşmanın olduğu görüldü (Şekil 57). Tübül epitel hücrelerinde fırçamsı kenar kayıpları nedeni ile PAS

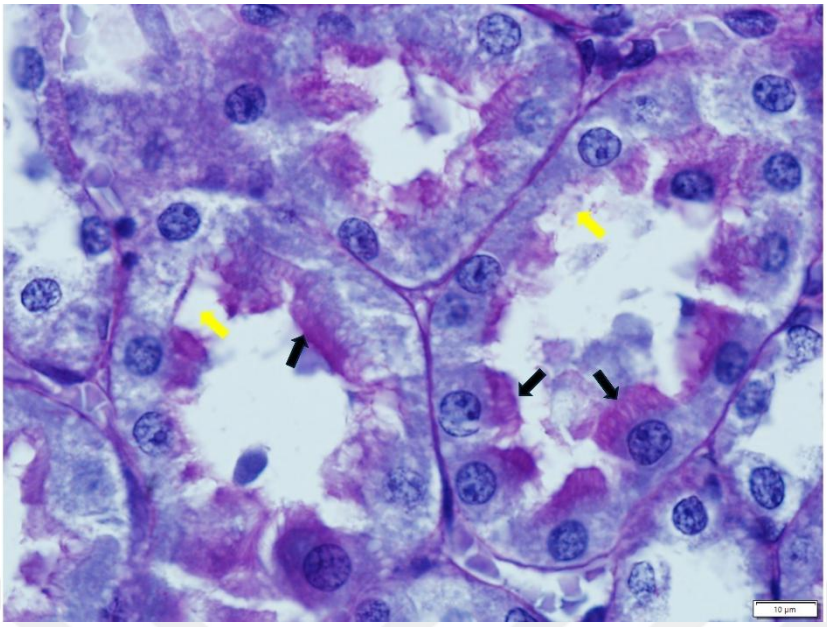
(+) görünümü azalmış veya yitirmiş olarak gözlendi. Bazı tübüllerde, dilatasyon ve epitel hücrelerinde vakuolizasyonun olduğu görüldü. Özellikle proksimal tübül epitel hücrelerinde PAS (+) inklüzyonların yoğun olarak bulunduğu gözlendi (Şekil 57-60). Bazı tübüllerin kapanarak karşılıklı iki epitelin birleştiği görüldü (61).



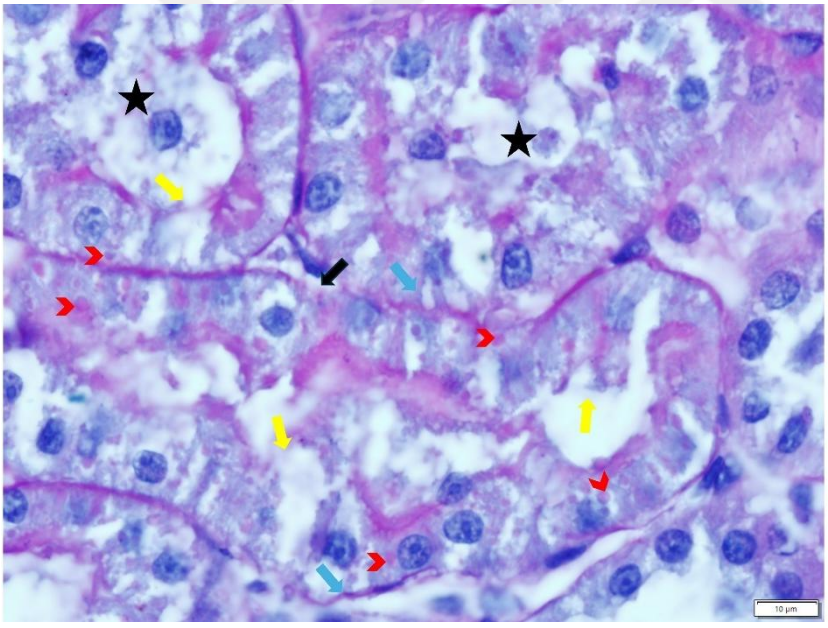
Şekil 57: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. A. Fırçamsı kenarda bozulma, mikrovilluslarda dökülme (sarı ok), tübül lümeninde kapanma (mavi ok); 20 µm. B. Tübül bazal membranı (siyah ok), Bowman kapsülü bazal membranı (kırmızı ok); 10 µm.



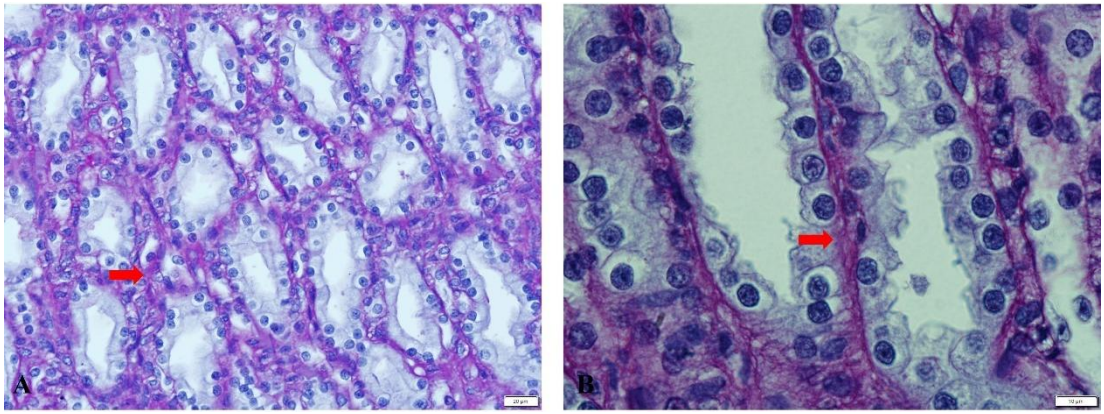
Şekil 58: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Fırçamsı kenarda bozulma, kayıp (sarı oklar), tübül bazal membranında kalınlaşma (siyah oklar), tübüler hücrelerde vakuolizasyon (mavi oklar); 10 µm.



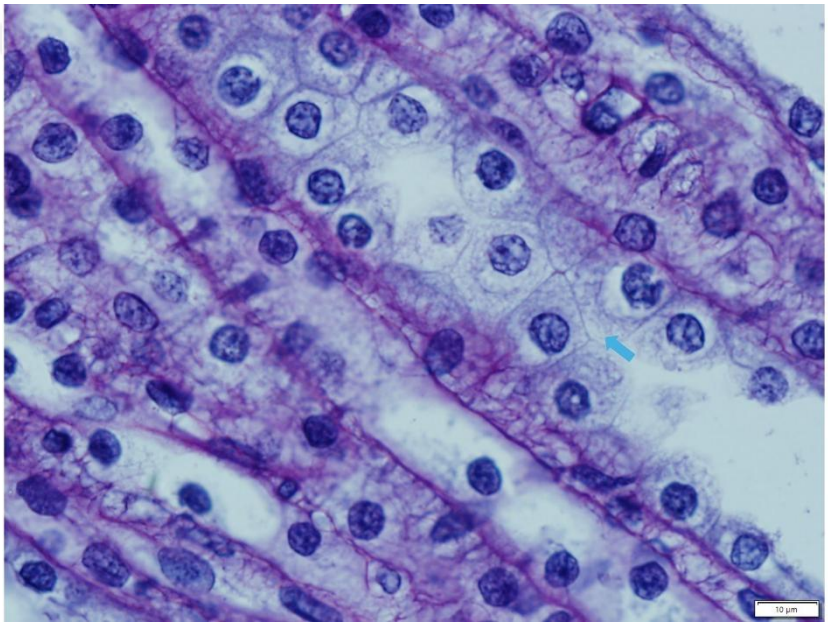
Şekil 59: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Fırçamsı kenarda bozulma, kayıp (sarı oklar), korunmuş fırçamsı kenar alanları (siyah oklar); 10 µm.



Şekil 60: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Tübül bazal membranında kayıp (siyah ok), tübül bazal mebranda ondüle görünüm (mavi ok), fırçamsı kenarda bozulma, kayıp (sarı ok), lümeni dolduran tübül epitel hücre döküntüleri (siyah yıldız), tübül epitel hücrelerinin sitoplazmalarında yer alan PAS (+) inklüzyonlar (kırmızı ok başları); 10 µm.



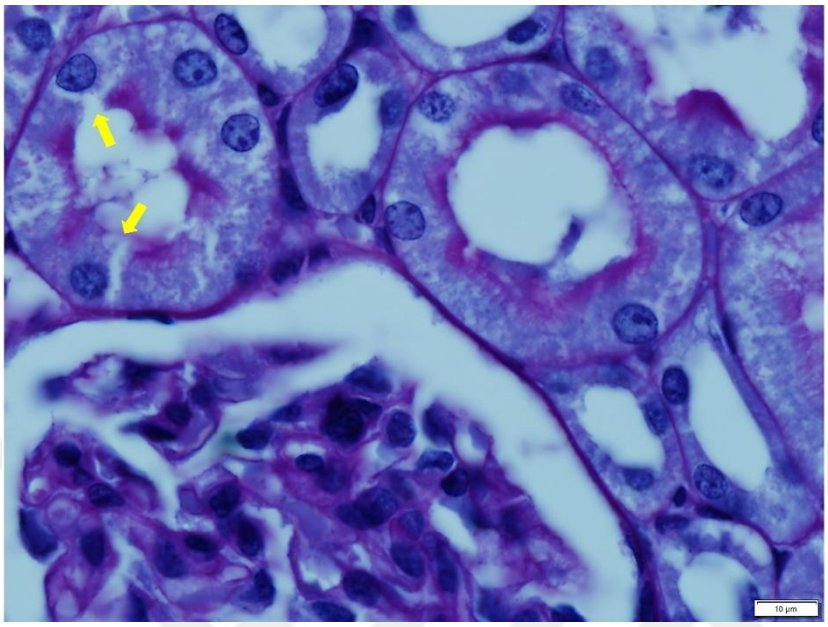
Şekil 61: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Toplayıcı tübül bazal membranında kalınlaşma (kırmızı ok); 10 µm.



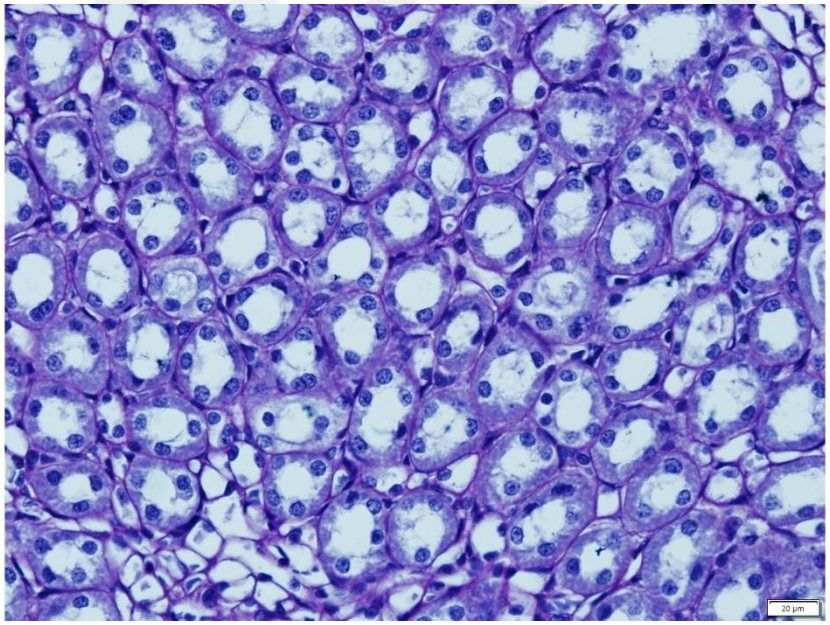
Şekil 62: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti. Tübül lümeninin kapanarak karşılıklı 2 epitelin birleşmesi (mavi ok); 10 µm.

Diklofenak sodyum+kolşisin grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyalleri PAS boyama yapıldıktan sonra ışık mikroskobunda incelendiğinde, Glomerülde Bowman kapsülünün bazal membranı, glomerüler filtrasyon bariyeri yapısına katılan bazal membran ile tübüllere ait bazal membranlarda Diklofenak sodyum grubu gibi belirgin kalınlaşma gözlenmedi (Şekil 63). Tübül epitel hücrelerinin apikal yüzlerinde yer alan fırçamsı kenarların PAS (+) boyanma gösteridiği gözlendi. Fırçamsı kenarda yer yer kayıplar olsa da diklofenak sodyum grubu ile karşılaştırıldığında bu kaybın oldukça az olduğu görüldü. Ayrıca tübül epitel

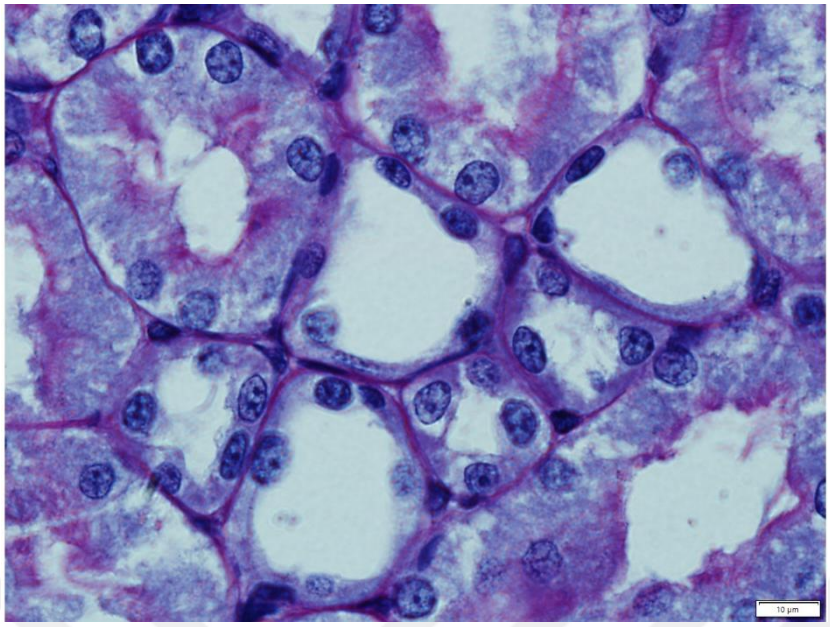
hücrelerinde vakuolizasyon ve deskuamasyonun da oldukça az olduğu değerlendirildi (Şekil 64,65).



Şekil 63: Diklofenak sodyum+kolşisin grubu böbrek kesiti, PAS boyama. Fırçamsı kenar kaybı (sarı ok); 10 µm.

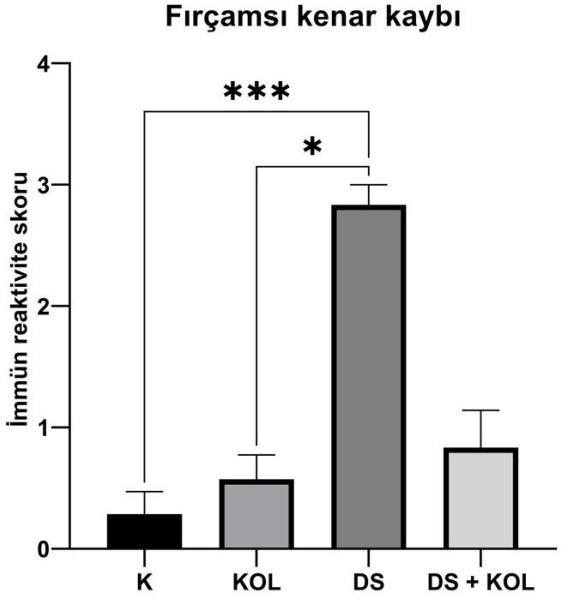


Şekil 64: Diklofenak sodyum+kolşisin grubu böbrek kesiti, PAS boyama; 20 µm.



Şekil 65: Diklofenak sodyum+kolşisin grubu böbrek kesiti, PAS boyama; 10 µm.

Fırçamsı kenar kaybı skorlarında diklofenak sodyum ile kontrol ve kolşisin grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0,05$). Aynı şekilde diklofenak sodyum+kolşisin grubu ile kolşisin grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,0641$). Diklofenak sodyum grubu kontrol ve kolşisin grubu ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 66, Tablo7).



Şekil 66: Fırçamsı kenar kaybı

Tablo 7: Fırçamsı kenar kaybının gruplar arasında karşılaştırılması; PAS boyama (Ortalama±Std. Hata)

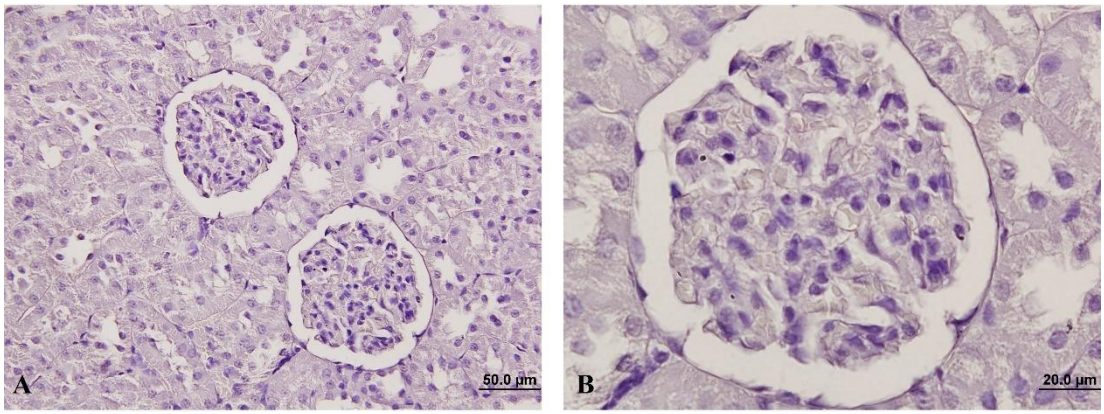
Gruplar	Fırçamsı kenar kaybı (0,0012)
Kontrol	0,2857±0,1844
Kolşisin	0,5714±0,202
Diklofenak Sodyum	2,833±0,1667
Diklofenak Sodyum+ Kolşisin	0,8333±0,3073

4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular

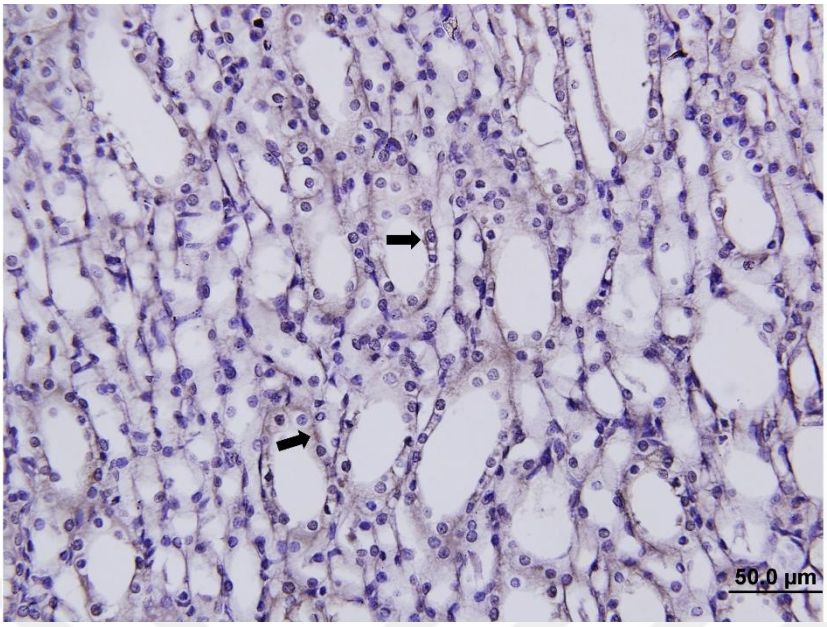
Tüm gruplara ait deneklerinin böbrek dokularında yapılan NLRP3, Aktif Kaspaz-1, İnterlökin 1- β (İL 1- β) antikorlarının immünoreaktivitesi semikantitatif olarak değerlendirilmiştir.

4.6.1. NLRP3 immünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi

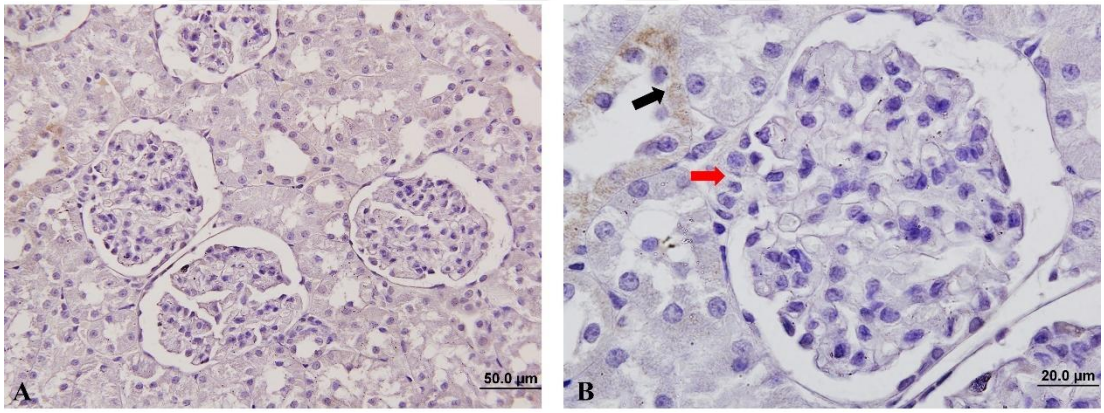
Kontrol ve kolşisin grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyallerinin NLRP3 immünoreaktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol (Şekil 67, 68) ve kolşisin (Şekil 69, 70) grubunda immünreaktivite yok (0) veya zayıf immünoreaktivite (1(+)) görüldü. Bu iki grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05).



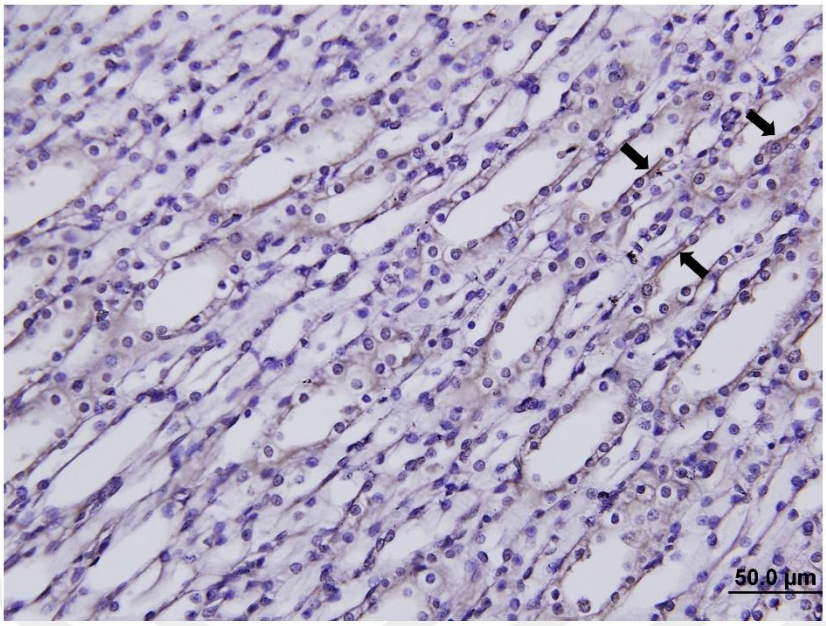
Şekil 67: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. A. 50 µm, B. 10 µm.



Şekil 68: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Zayıf immünoreaktivite (1(+)) gösteren tübül epitel hücreleri (siyah oklar); 50 µm.

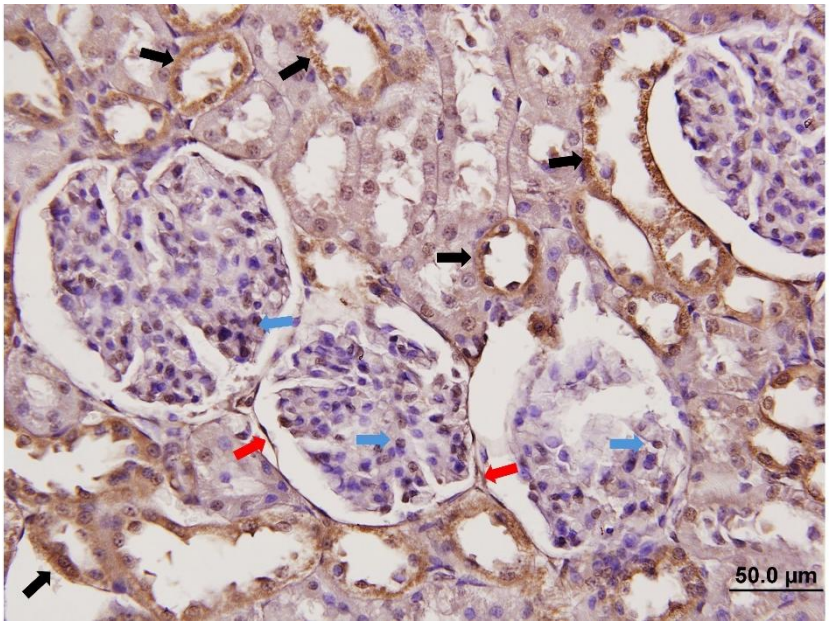


Şekil 69: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. A. 50 µm. B. Zayıf immünoreaktivite (1(+)) gösteren bir tübül (siyah ok), maküla densa (kırmızı ok); 20 µm.

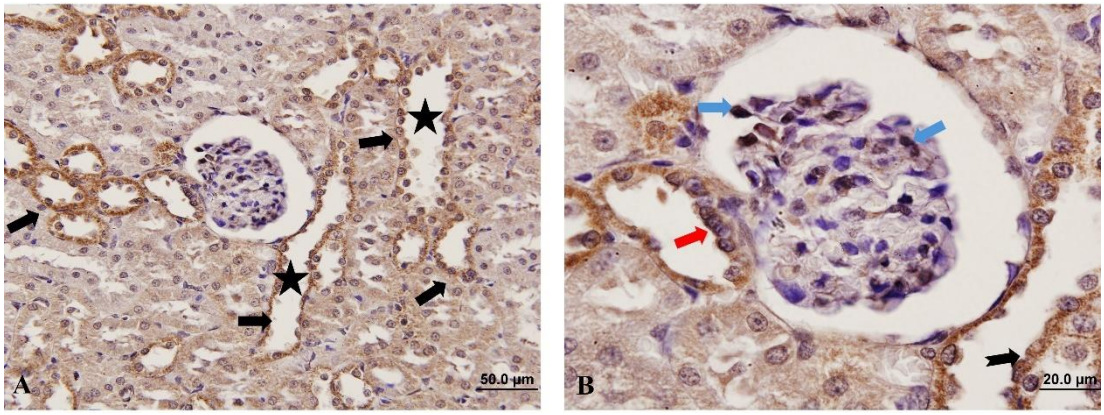


Şekil 70: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Zayıf immünoreaktivite (1(+)) gösteren bir tübüller (siyah oklar); 50 µm.

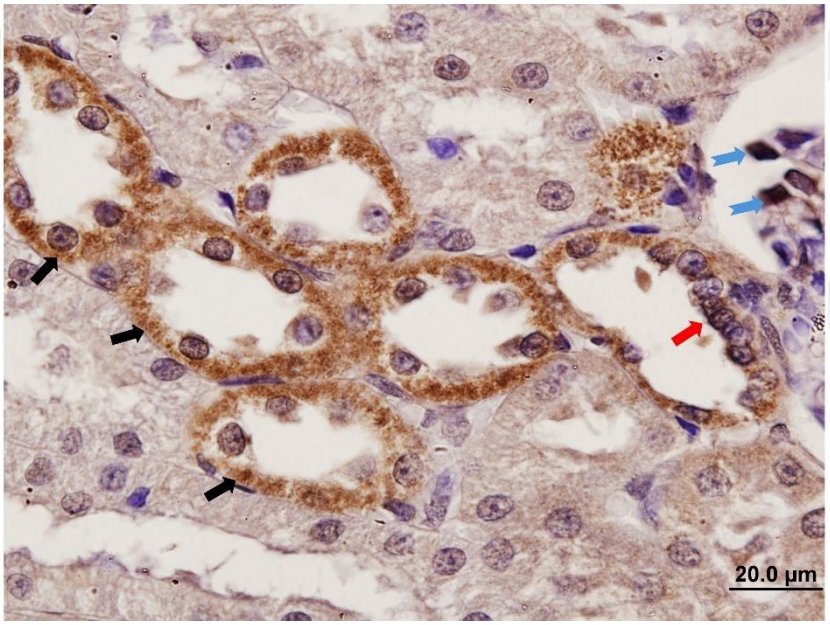
Diklofenak sodyum grubu incelendiğinde, NLRP3 immünoreaktivitesi kuvvetli pozitif (3(+)) olarak izlendi. Boyanmanın distal tübüllerde yoğun olarak mevcuttu. Maküla densa hücrelerinde de boyanma yoğun boyanma mevcuttu. Boyanma sitoplazmikti ancak yer yer bazı nükleuslarda da boyanma vardı (Şekil 71-76).



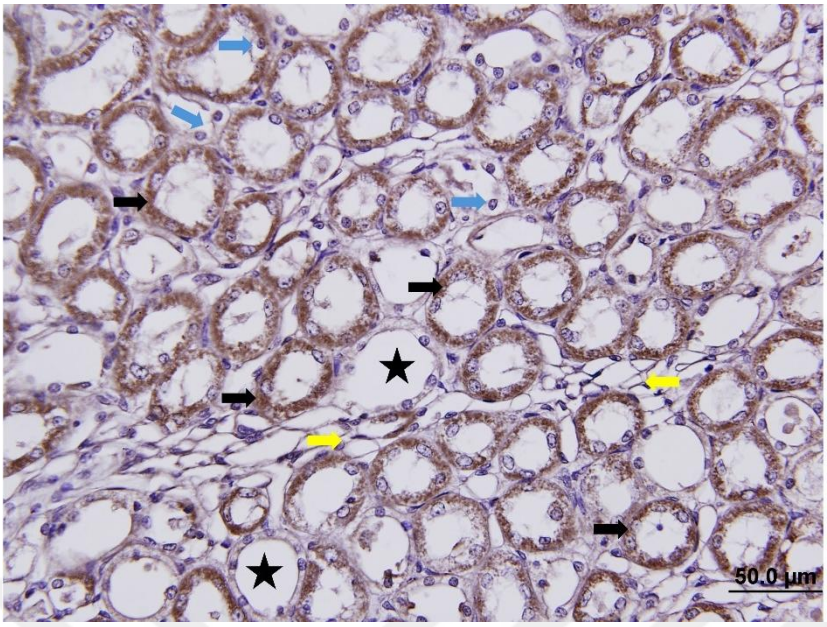
Şekil 71: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), Bowmnan kapsülünde pozitif boyanma (kırmızı oklar), pozitif boyanmış nükleuslar (mavi oklar); 50 µm.



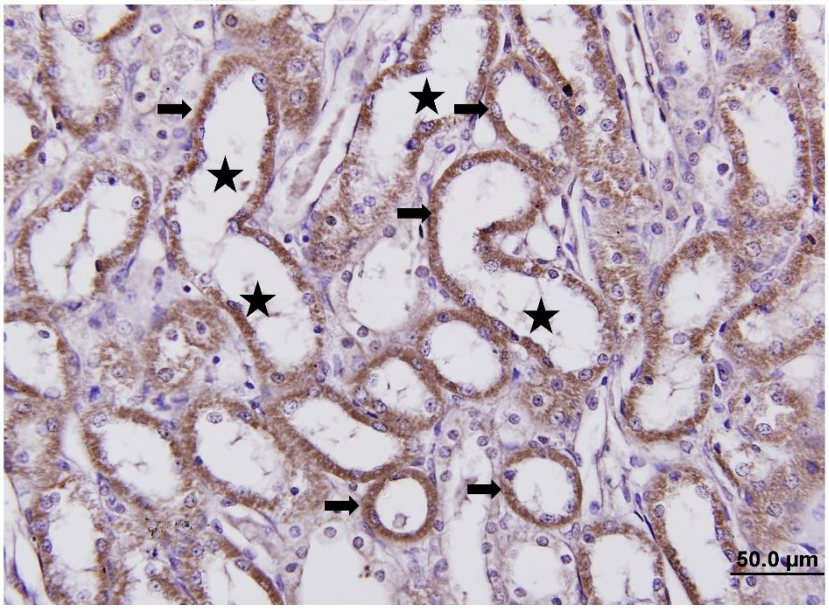
Şekil 72: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. A. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), Distal tübülde dilatasyon (siyah yıldız); 50 µm. B. pozitif boyanmış maküla densa (kırmızı ok), pozitif boyanmış glomerüler hücre nükleusları (mavi ok); 20 µm.



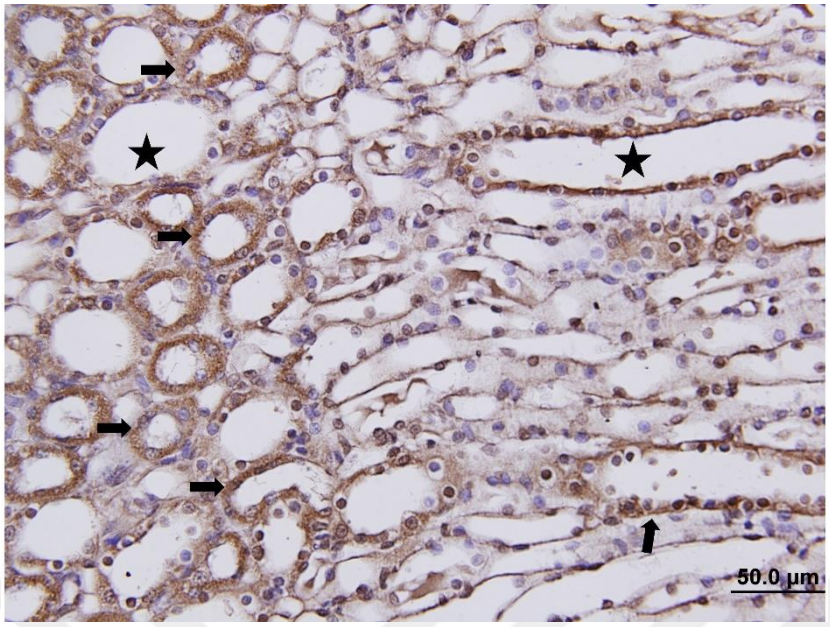
Şekil 73: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), pozitif boyanmış maküla densa (kırmızı ok); 20 µm.



Şekil 74: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış hücreler (siyah ok), tübüler dilatasyon (siyah yıldız), pozitif boyanan henle ansı (sarı ok), ödemli görünümde tübül epitel hücreleri (mavi oklar); 50 µm.

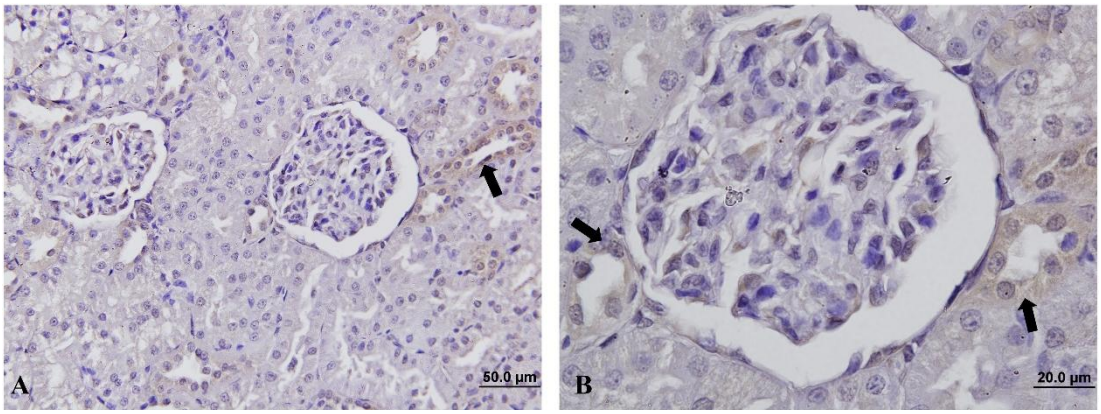


Şekil 75: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), tübüler dilatasyon (siyah yıldızlar); 50 µm.

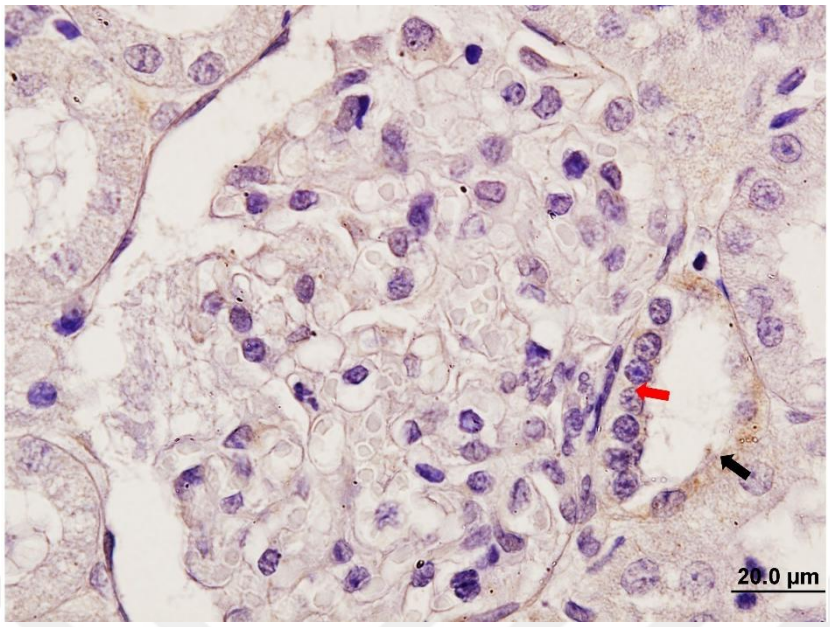


Şekil 76: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah ok), tübüler dilatasyon (siyah yıldızlar); 50 µm.

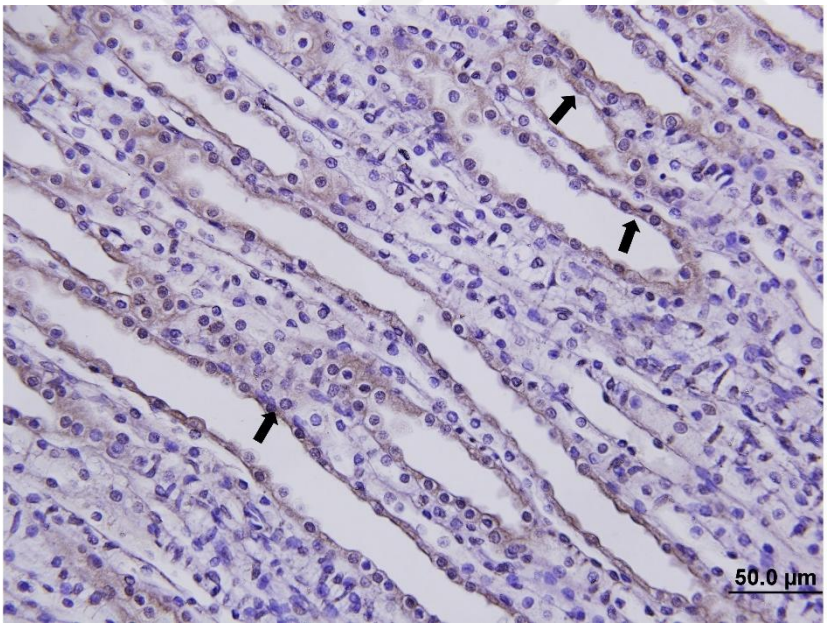
Diklofenak sodyum+kolşisin grubu incelendiğinde, NLRP3 immünreaktivitesi belirgin oranda azalmıştı ve immünreaktivite şiddeti zayıf pozitif ya da pozitif olarak gözlendi (Şekil 77-79).



Şekil 77: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Pozitif immünreaktivite gösteren tübüller (siyah oklar) A. 50 µm, B. 20 µm.



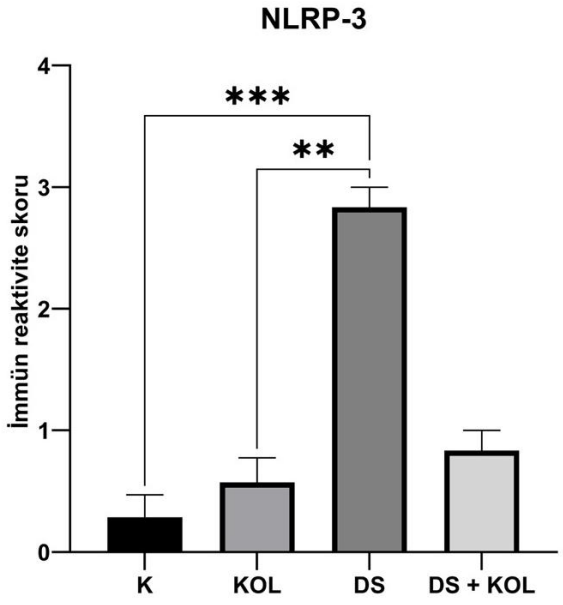
Şekil 78: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Pozitif boyanmış distal tübül (siyah ok) ve maküla densa (kırmızı ok); 20 µm.



Şekil 79: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, NLRP3 boyaması. Pozitif boyanmış tübüller (siyah ok); 20 µm.

Tüm grupların immünoreaktivitesi karşılaştırıldığında, diklofenak sodyum grubundaki, NLRP3 immünoreaktivitesi kontrol ve kolşisin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı (kuvvetli pozitif) ($p<0,05$) görüldü. Diklofenak sodyum+kolşisin grubunda ise mikroskobik olarak kontrol ve kolşisin grubuna daha yakın görünümde olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı

(p>0,05). Yine diklofenak sodyum ve diklofenak sodyum+kolşisin grupları karşılaştırıldığında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p>0,05) (Şekil 80, Tablo 8).



Şekil 80: Gruplar arasında NLRP3 immünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması.

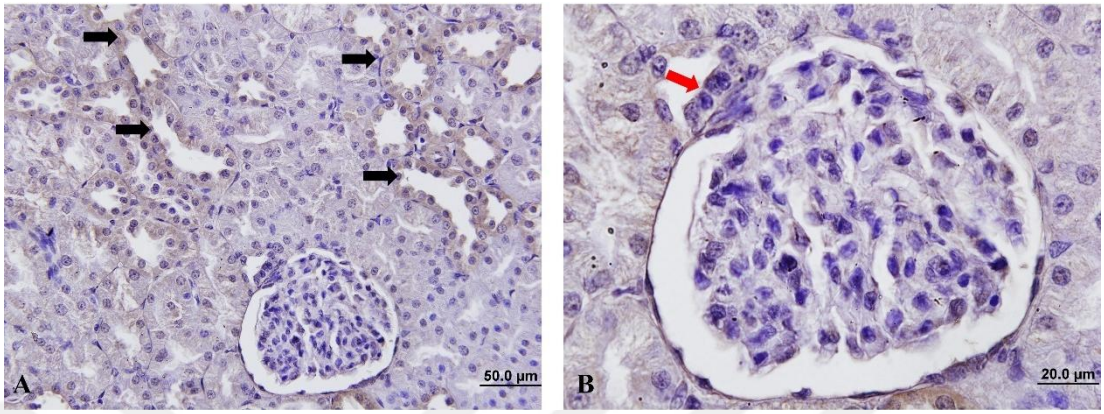
Tablo 8: Histolojik parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması; NLRP3, Kaspaz 1, İL-1 β boyama (Ortalama±Std. Hata)

Gruplar	NLRP3 (p=0,0007)	Kapaz 1 (p=0,001)	İL-1 β (p=0,0008)
Kontrol	0,2857±0,1844	0,2857±0,1844	0,2857±0,1844
Kolşisin	0,5714±0,202	0,5714±0,202	0,7143±0,1844
Diklofenak Sodyum	2,833±0,1667	3±0	2,833±0,1667
Diklofenak Sodyum+ Kolşisin	0,8333±0,1667	0,6667±0,2108	0,6667±0,2108

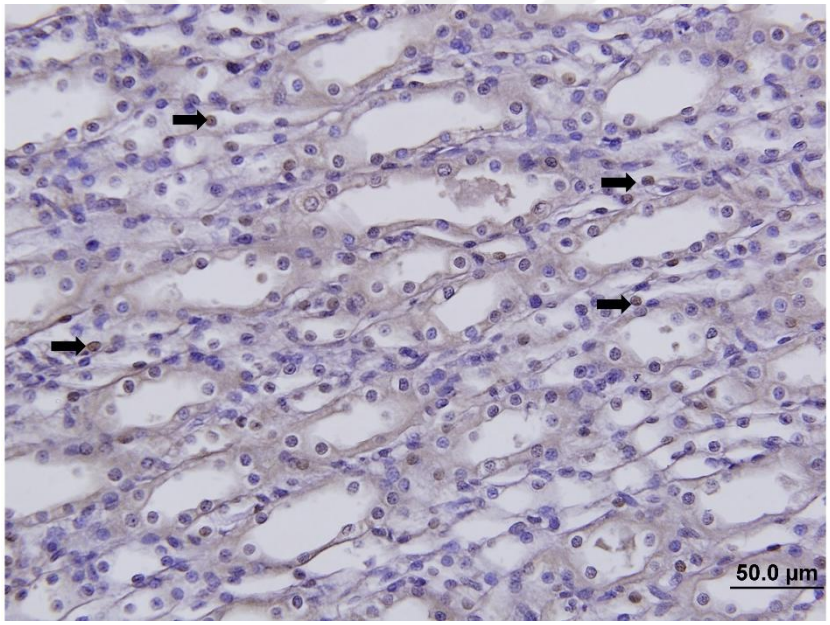
4.6.2. Aktif kaspaz-1 immünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi

Kontrol ve kolşisin grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyallerinin aktif kaspaz 1 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde, kontrol (Şekil 81, 82) ve kolşisin (Şekil 83, 84) grubunda immünreaktivite yok (0) veya zayıf

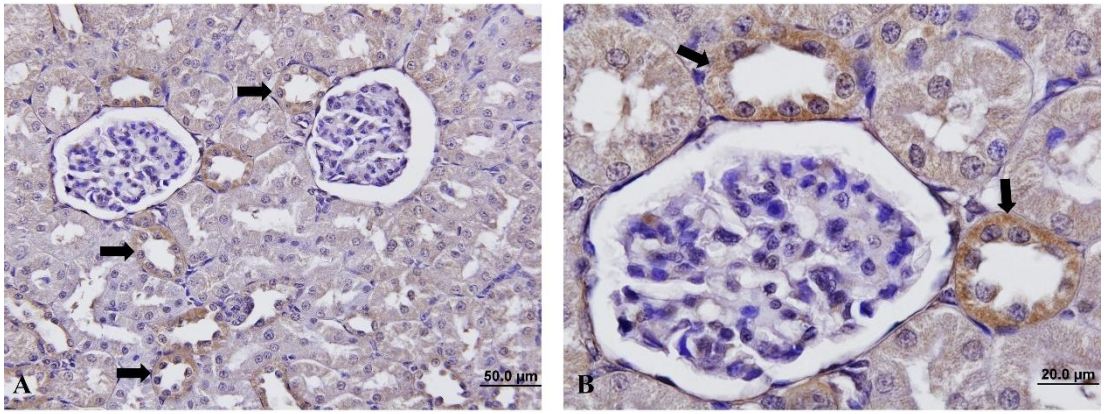
immünoreaktivite (1(+)) görüldü. Bu iki grup istatistiksel olarak karşılaştırıldığında aralarında anlamlı bir fark görülmedi (p>0,05).



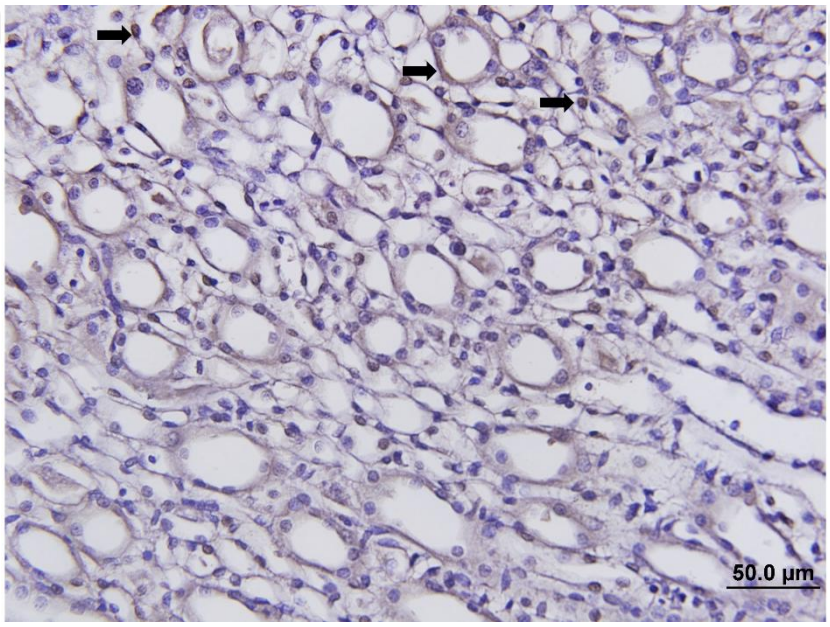
Şekil 81: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. A. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm. B. Maküla densa (kırmızı ok); 20 µm.



Şekil 82: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Pozitif boyanmış nükleuslar; 50 µm.

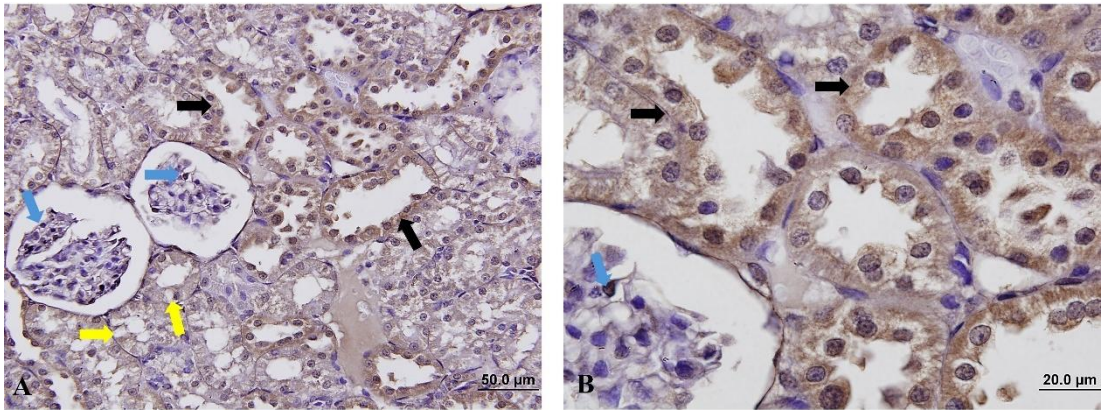


Şekil 83: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller A. 50 µm. B. 20 µm.

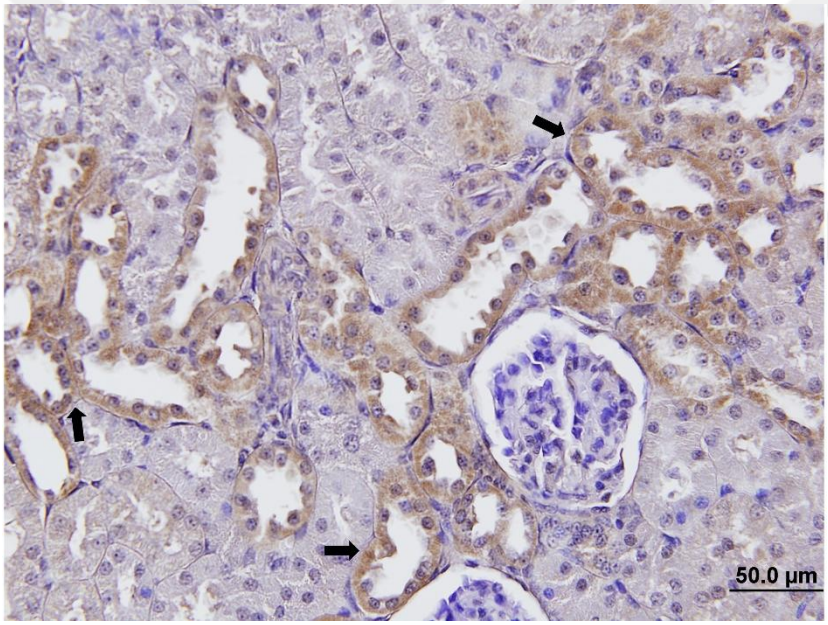


Şekil 84: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Pozitif boyanmış nükleuslar (siyah oklar); 50 µm.

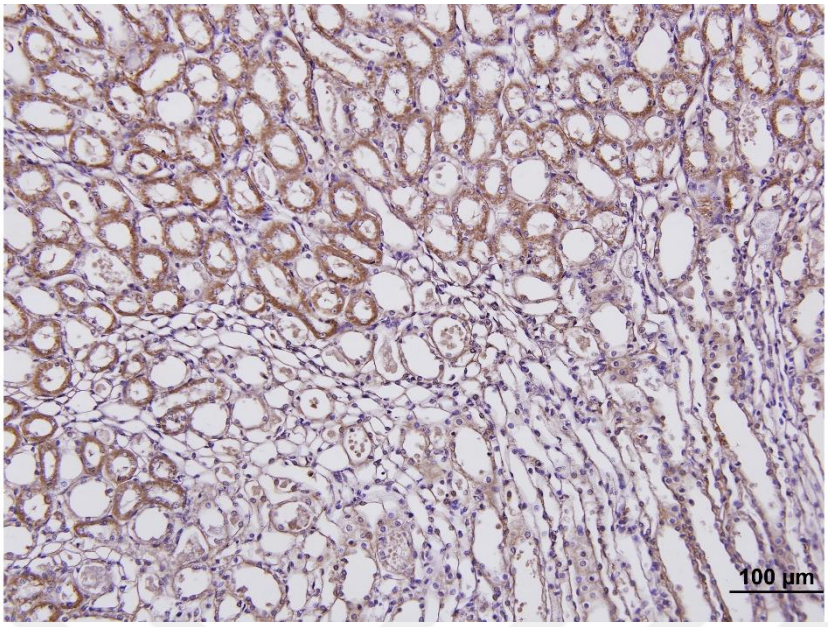
Diklofenak sodyum grubu incelendiğinde, kaspaz 1 immünoreaktivitesi kuvvetli pozitif (3(+)) olarak izlendi. Boyanmanın distal tübüllerde daha yoğun olarak mevcuttu. Boyanma sitoplazmikti ancak yer yer bazı nükleuslarda da boyanma vardı (Şekil 85-88).



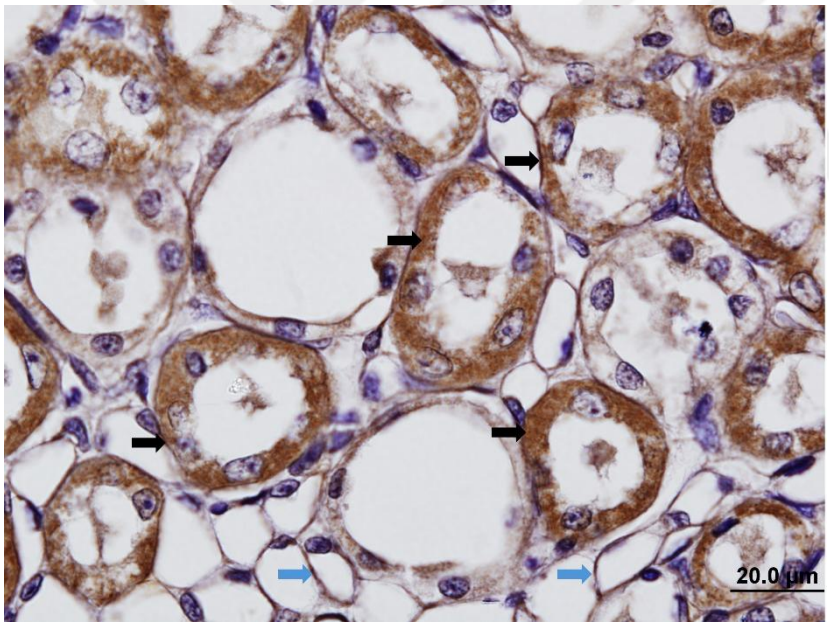
Şekil 85: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. A. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış glomerüler hücrelere ait nükleuslar, tübüler epitel hücrelerde vakuol (sarı oklar); 50 µm. B. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış glomerüler hücrelere ait nükleuslar; 20 µm.



Şekil 86: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm.

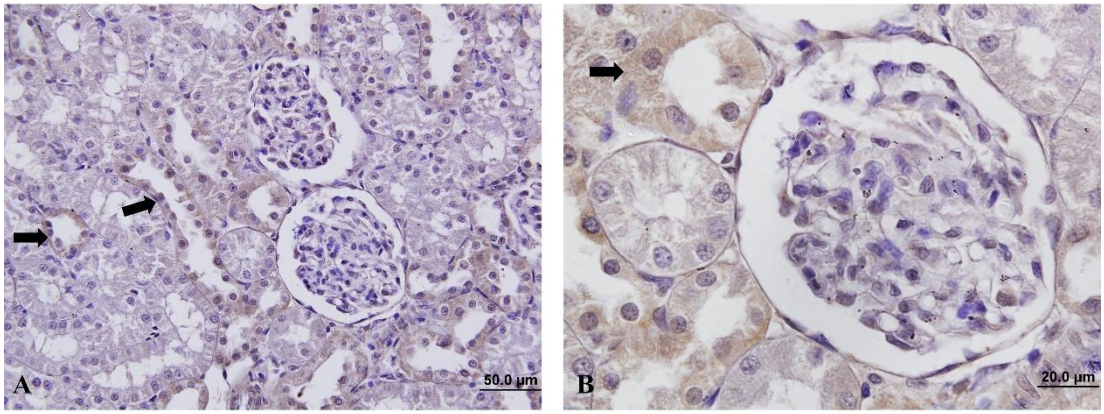


Şekil 87: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama; 100 µm.

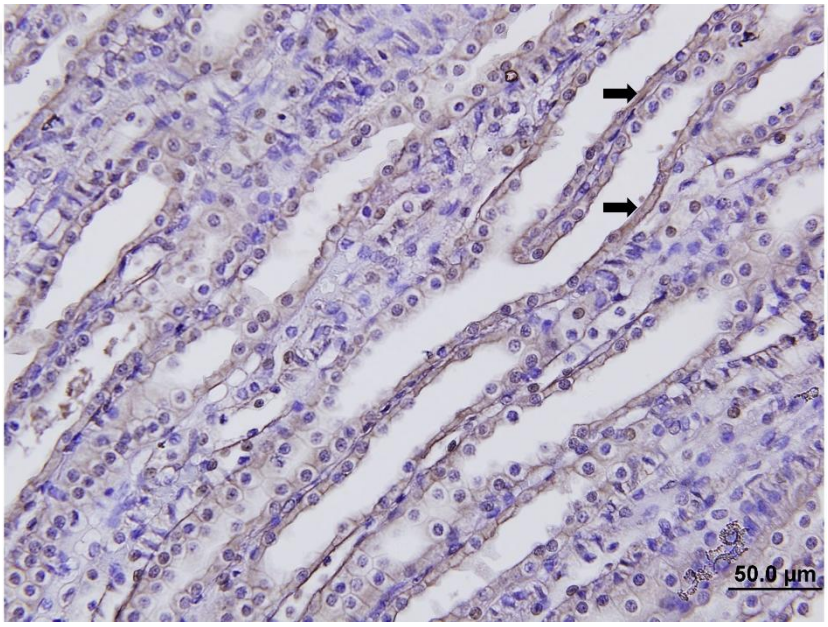


Şekil 88: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış henle ansı (mavi oklar); 20 µm.

Diklofenak sodyum+kolşisin grubu incelendiğinde, Kaspaz 1 immünoreaktivitesi belirgin oranda daha azdı ve immünreaktivite şiddeti zayıf pozitif ya da pozitif olarak gözlendi (Şekil 89, 90).

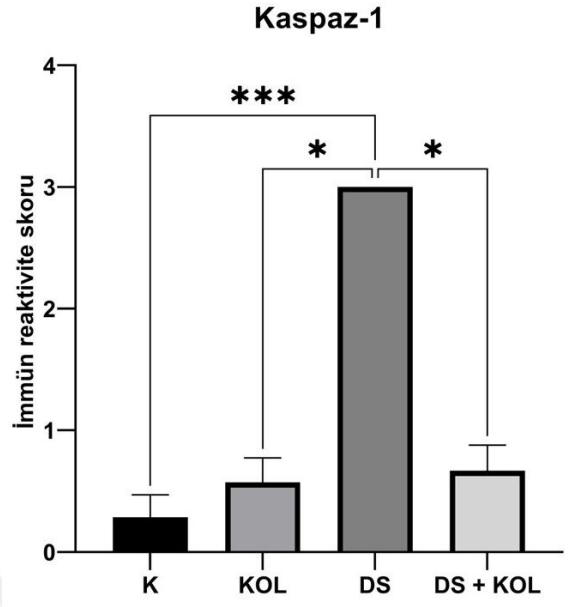


Şekil 89: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller. A. 50 µm. B. 20 µm.



Şekil 90: Diklofenak sodyum+kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, Kaspaz 1 boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller; 50 µm.

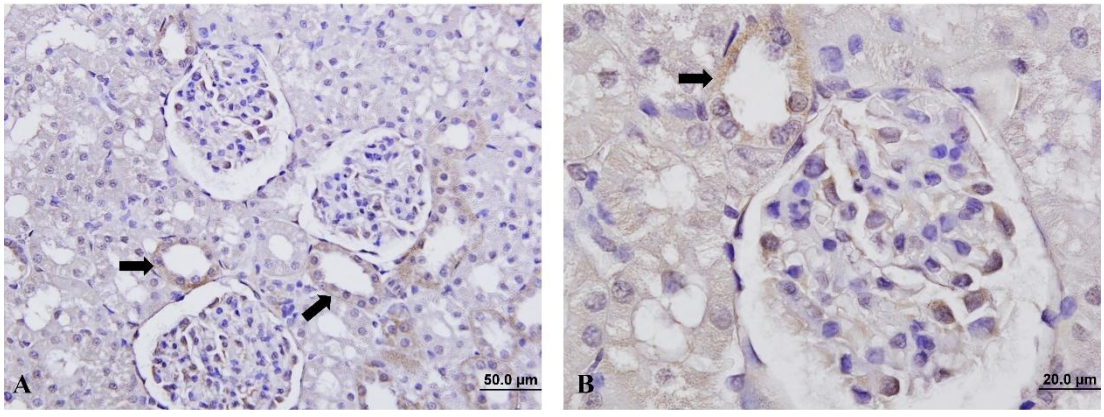
Tüm grupların immünoreaktivitesi incelendiğinde, diklofenak sodyum grubundaki aktif kaspaz-1 immünoreaktivitesinin kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+kolşisin gruplarına göre anlamlı derecede arttığı (kuvvetli pozitif), diklofenak sodyum+kolşisin grubunda ise diklofenak sodyum grubu ile karşılaştırıldığında ise immünreaktivite şiddetinin anlamlı derecede azaldığı (zayıf pozitif) görüldü. Diklofenak sodyum+kolşisin grubunda kontrol ve kolşisin grubuna göre immüreaktivitenin şiddetinin bir miktar fazla olduğu görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 91, Tablo 8).



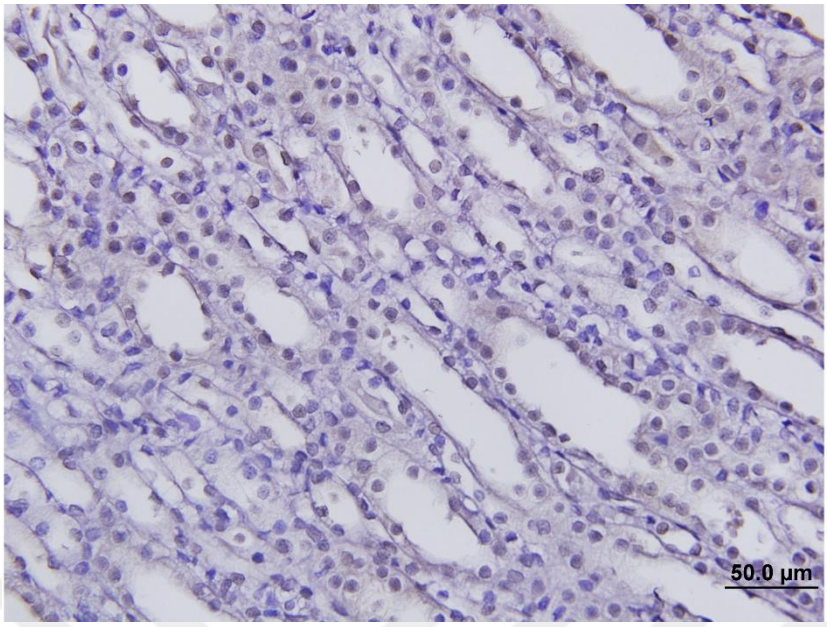
Şekil 91: Gruplar arasında Kaspaz 1 immünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması.

4.6.3. İnterlökin 1- β (İL 1- β) immünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi

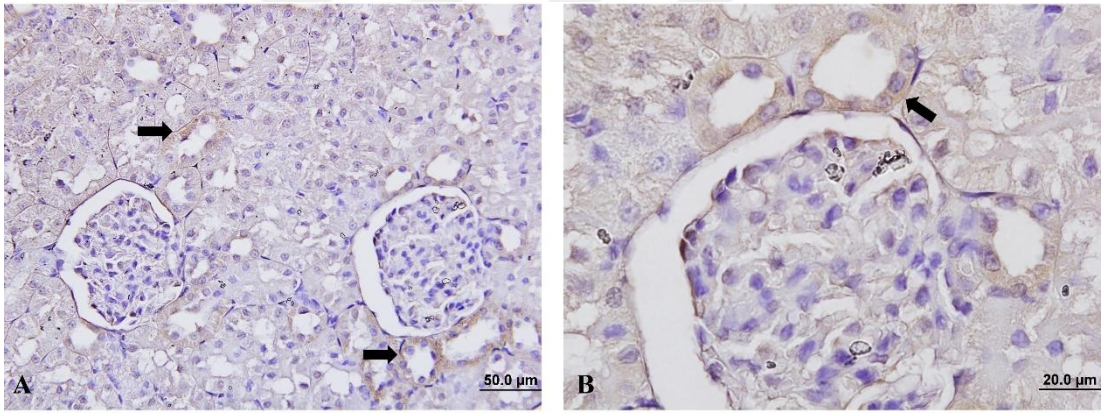
Kontrol (Şekil 92, 93) ve kolşisin (Şekil 94, 95) grubu deneklerine ait böbrek dokusu korteks ve medulla materyallerinin aktif kaspaz 1 immünreaktivitesi değerlendirildiğinde, zayıf immünreaktivite vardı.



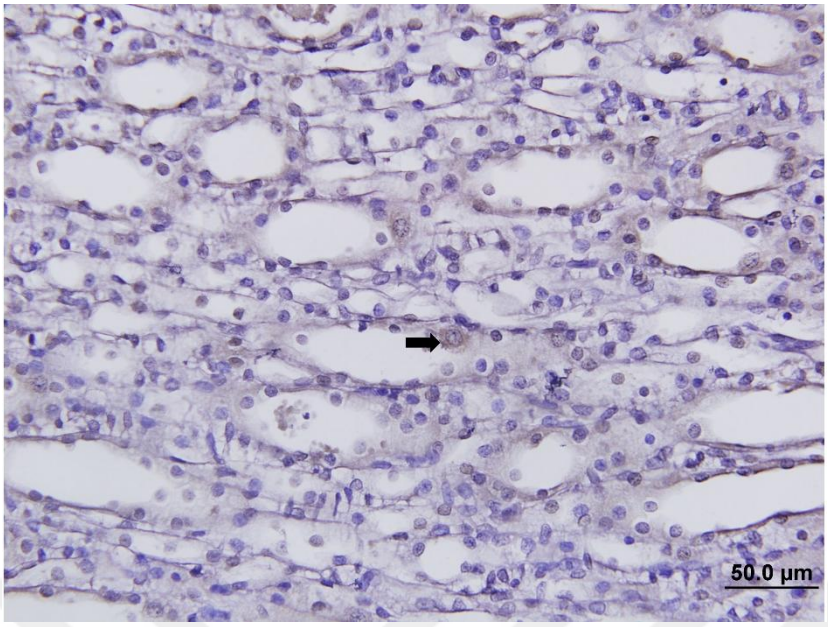
Şekil 92: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar). A. 50 µm. B. 20 µm.



Şekil 93: Kontrol grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama; 50 µm.

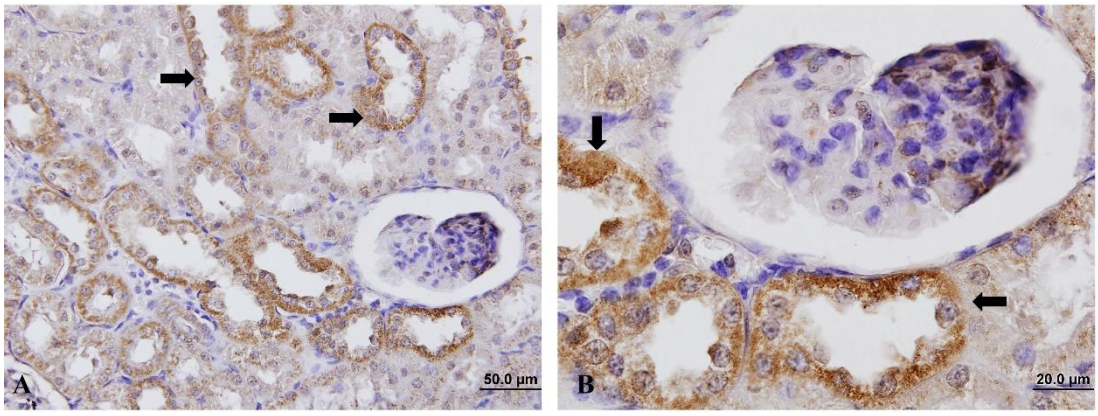


Şekil 94: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar) A. 50 µm. B. 20 µm.

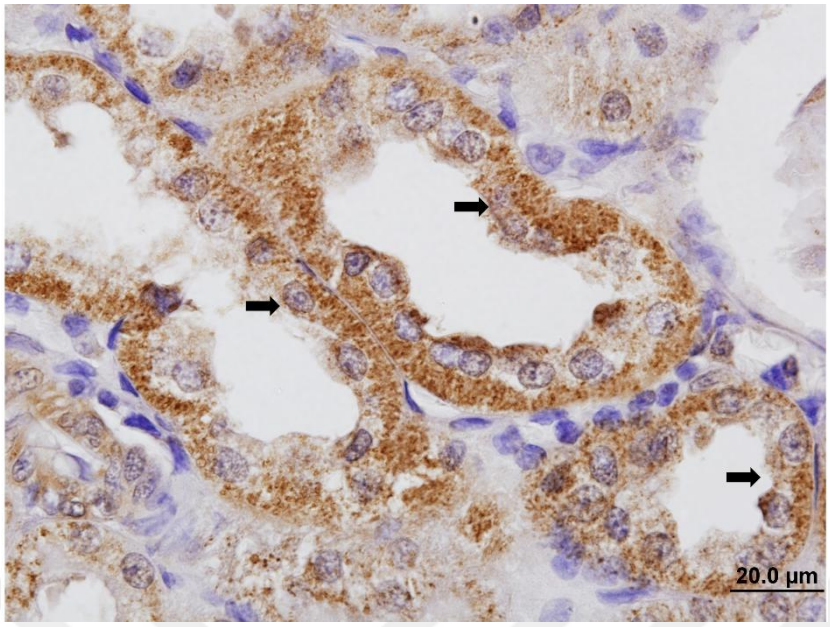


Şekil 95: Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Pozitif boyanmış tübül epitel hücresi (siyah ok); 50 µm.

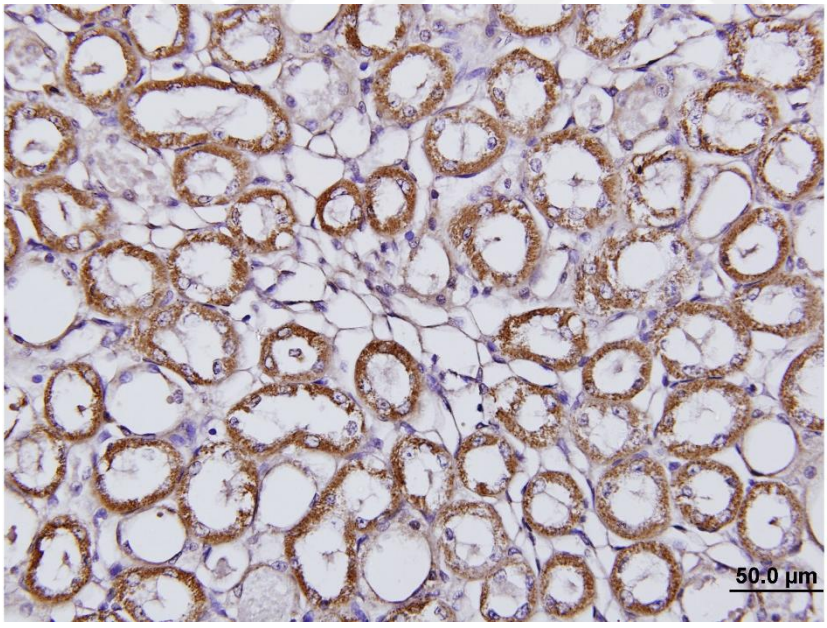
Diklofenak sodyum grubunda ise, İnterlökin 1- β (İL 1- β) immünoreaktivitesi, kuvvetli pozitif (3(+)) olarak izlenmiştir. Distal tübüllerde yoğun boyanma olduğu dikkat çekti. Henle ansında da pozitif boyanma görüldü. Boyanma sitoplazmik ve granüler görünümlüydü (Şekil 96-100).



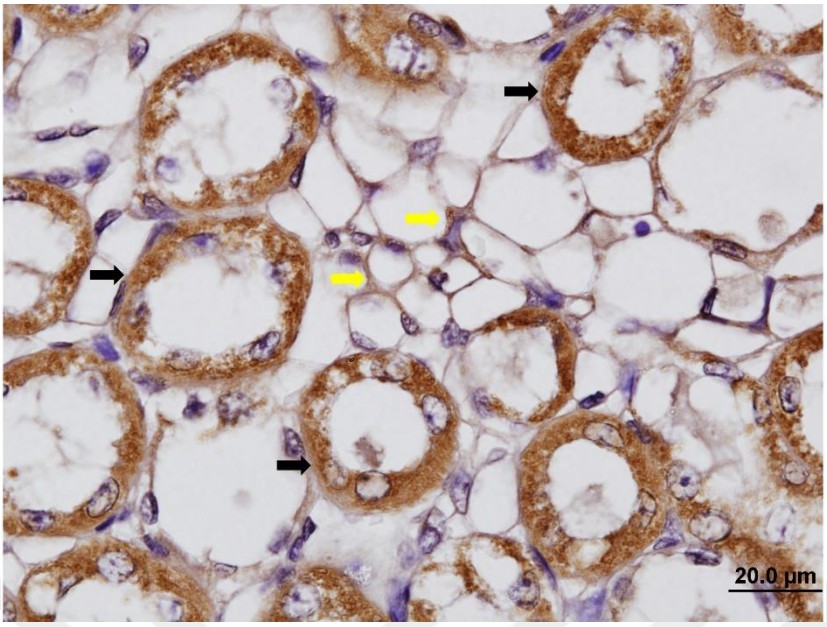
Şekil 96: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller. A. 50 µm. B. 20 µm.



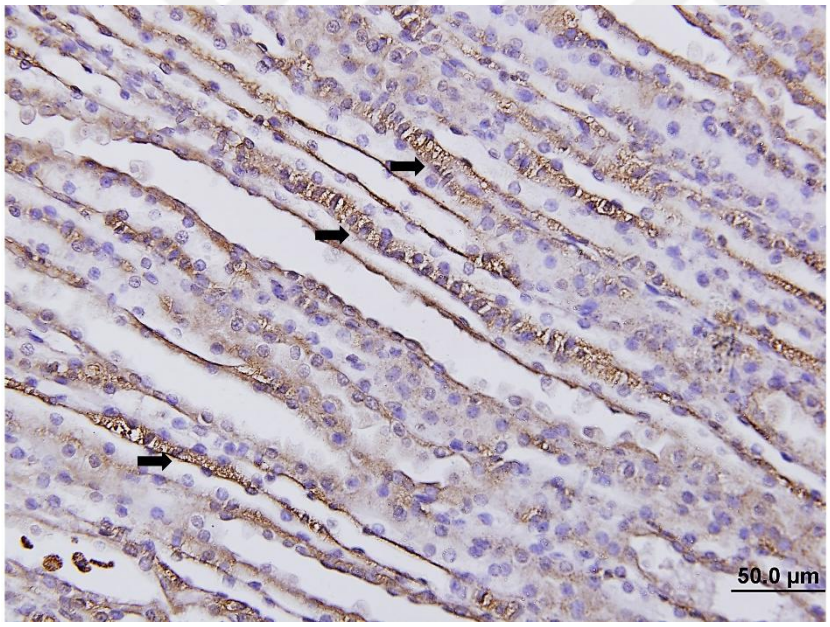
Şekil 97: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 20 µm.



Şekil 98: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama; 50 µm.

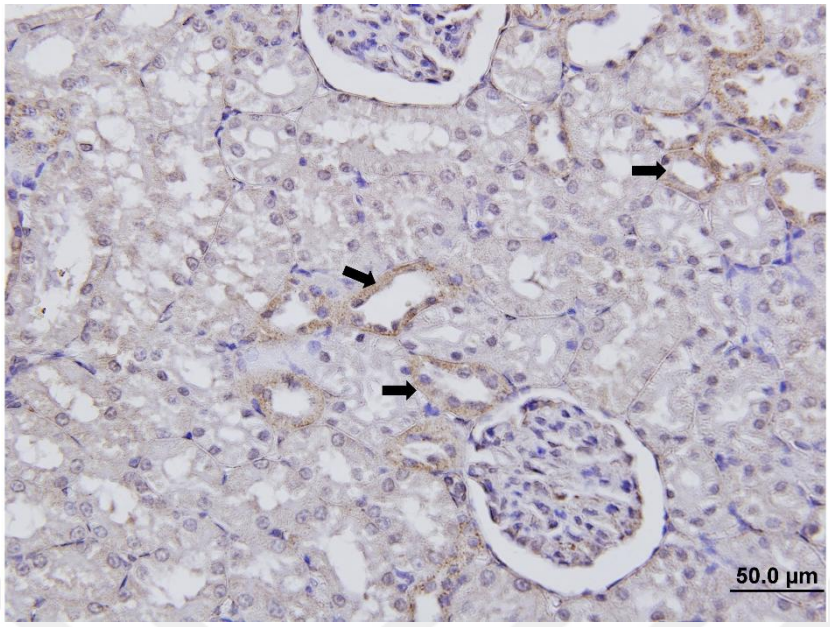


Şekil 99: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar), pozitif boyanmış henle ansı (sarı oklar); 20 µm.

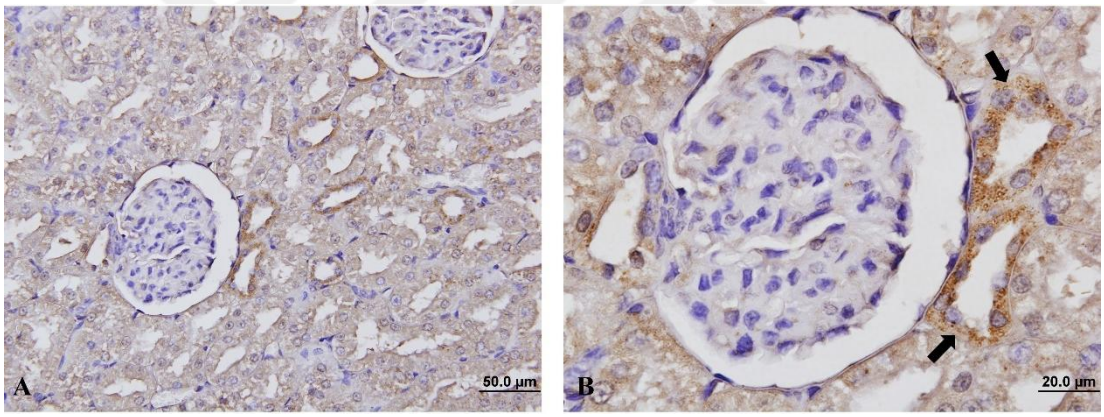


Şekil 100: Diklofenak sodyum grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Yoğun pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm.

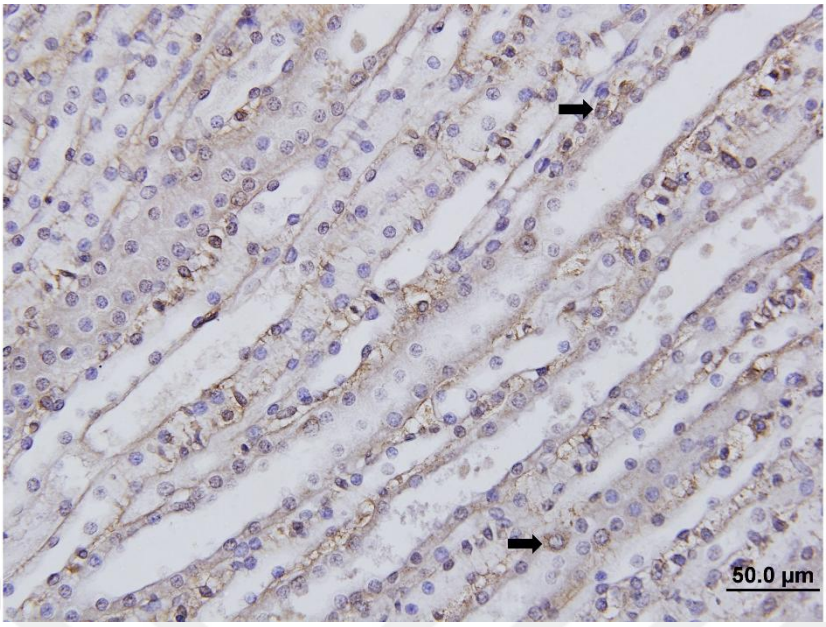
Diklofenak sodyum+kolşisin grubu incelendiğinde, İnterlökin 1- β (İL 1- β) immünoreaktivitesi belirgin oranda azalmış ve zayıf pozitif ya da pozitif olarak gözlenmiştir. Bazı tübüllerde aralarda tek tek hücrelerin pozitif boyandığı görüldü (Şekil 101-103).



Şekil 101: Diklofenak sodyum+Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Zayıf pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 50 µm.

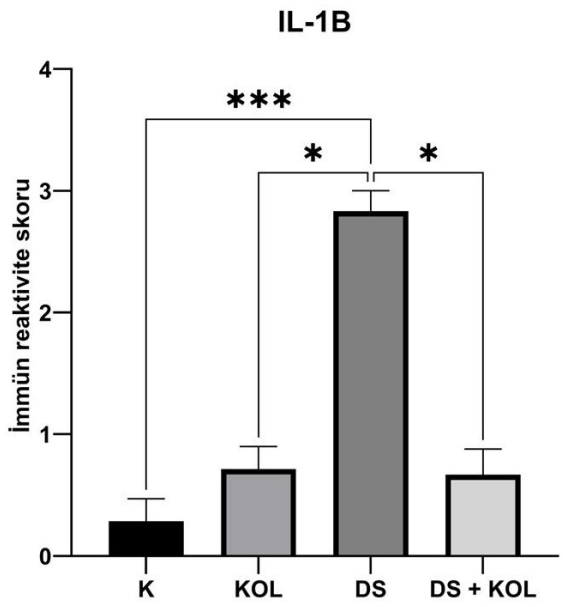


Şekil 102: Diklofenak sodyum+Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. A. 50 µm. B. Pozitif boyanmış tübüller (siyah oklar); 20 µm.



Şekil 103: Diklofenak sodyum+Kolşisin grubuna ait böbrek kesiti, İL-1 β boyama. Pozitif boyanmış tübül epitel hücreleri (siyah oklar); 50 µm.

Tüm grupların immünoreaktivitesi incelendiğinde, diklofenak sodyum grubundaki İL 1- β immünoreaktivitesinin kontrol ve kolşisin grubuna göre anlamlı derecede arttığı (kuvvetli pozitif), diklofenak sodyum+kolşisin grubunda ise diklofenak sodyum grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede azaldığı (zayıf pozitif) saptanmıştır (Şekil 104, Tablo 8).



Şekil 104: Gruplar arasında İL 1- β immünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Akut böbrek hasarı (ABH), dünya çapında milyonlarca hastayı etkileyen, böbrek fonksiyonlarında kısa sürede azalma ile karakterize bir sağlık sorunudur. Glomerüler filtrasyon hızında (GFR) düşüş, kan üre ve kreatininde artış ile karakterizedir. ABH için etkili bir tedavi yoktur ve yeni tedavilere ihtiyaç vardır (1).

Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler), klinik tıpta analjezik, ateş düşürücü ve anti-inflamatuvar ajanlar olarak yaygın şekilde kullanılmakta olup sık görülen yan etkilerinden biri nefrotoksisitedir ve NSAİİ'a bağlı ABH sıkça görülmektedir (5).

Kolşisin, anti-inflamatuvar etkinliği olan günümüzde akut gut alevlenmeleri ve Ailesel Akdeniz Ateşi'nin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ajandır. Tübülin polimerizasyonunu inhibe ederek, hücre iskeletini ve mitoz, hücre içi taşıma ve fagositoz dahil olmak üzere çeşitli süreçleri bozarak etki eder (14).

Çeşitli etyolojilerden (iskemi reperfüzyon hasarı, adenin diyeti, diyabetik nefropati, siklosporin nefrotoksisitesi vs. gibi) yola çıkarak oluşturulan böbrek hasarı modelleri ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda kolşisin kullanımın inflamasyon, hasar (1,20,85,86,88) ve fibroz üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (20,85).

Literatürde NSAİİ'a bağlı gelişen akut böbrek hasarında düşük doz kolşisin kullanımının ve NLRP3 yolağına ilişkin bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu nedenle biz de çalışmamızda NSAİİ kullanımına bağlı oluşan ABH'nda düşük doz kolşisin kullanımının etkilerini NLRP3 inflamatuvar yolağı üzerinden incelemeyi hedefledik.

Literatürde daha önce yapılan NSAİİ nefrotoksisite çalışmalarında diklofenak sodyum kullanılmıştır. Sıçanlarda diklofenak sodyumun ortalama letal dozunun (LD50), intramüsküler (i.m.) yolla uygulandığında 196,2 mg/kg olduğu bildirilmektedir. Aynı zamanda LD50 değerinin %25'i oranında doz uygulanması, serum üre ve kreatinin değerlerini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde artırdığı belirlenmiştir. (95) 50 mg/kg/gün (i.m) (LD50'nin ~%25'i) diklofenak sodyum ile oluşturulan ABH modellerinde, histolojik olarak da böbrek hasarı belirlenmiştir (18,96–98). LD50 değerinin %25, %50'si ve %75'i oranındaki dozlar ile kurulan modellerde 5, 7, 10 günlük çalışmalar mevcuttur. Yüksek doz ile yapılan toksisite çalışması (250 mg/kg/gün) 24 saatle sınırlandırılmaktadır (99). Çalışmamızda hasar

modeli olarak 5 gün boyunca 50 mg/kg/gün (LD50 değerinin %25'i) diklofenak sodyum I.M uygulandık.

Kolşinin insanda 1,5-1,8 mg/gün dozu ve altında kullanımı düşük doz kabul edilmektedir (100). Düşük doz 1,5 mg ve bir erişkin insan 60 kg kabul edilirse vücut yüzey alanı normalleştirme yöntemine göre hesaplama yapılırsa sıçanlarda ~0,2 mg/kg'a eşdeğer kabul edilir (101). Deneysel bir çalışmada sıçanlarda terapötik doz 0,8 mg/kg olarak belirtilmiştir (102). Bu nedenle çalışmamızda düşük doz kolşisin 0,2 mg/kg olarak kullanıldı. Kolşisin %0,9 NaCl solüsyonu içinde çözdürülerek 0,2 mg/kg/1 ml'de olarak oral gavaj ile uygulandık (67,82,103–105). NSAİİ + kolşisin grubunda (4. Grup) NSAİİ uygulamasından 1 saat sonra kolşisin uygulamasının tercih edilmesi Diklofenak sodyumun zirve plazma konsantrasyonuna 1.6 ± 0.9 saatte ulaşmasına bağlı olarak seçildi.

Çalışmamızda 4. günde diklofenak sodyum ve diklofenak sodyum+kolşisin grubundan 1'er olmak üzere toplam 2 sıçan ölü bulundu. Ölüm nedenlerinin akut böbrek yetmezliğine bağlı olduğu düşünüldü.

Aycan ve ark. yaptıkları çalışmada 5 gün boyunca günde iki kez 9 mg/kg diklofenak sodyum im yolla uygulandıkları erkek Wistar sıçanlarda vücut ağırlığında anlamlı bir azalma görüldüler (106).

Al-Kuraishy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erkek Sprague-Dawley sıçanlarına intraperitoneal diklofenak (15 mg/kg) verdikleri grupta vücut kitle indeksinin (VKİ) kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde artmış (107).

El Agaty ve arkadaşlarının çalışmasında 2 gün 50 mg/kg intraperitoneal diklofenak uygulanan sıçanlarda diklofenak grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında plazma üre, kreatinin seviyelerinde artış görülmüş (108).

Biz de çalışmamızda kontrol ve kolşisin gruplarında kilo alımı olmasına karşın diklofenak sodyum ve diklofenak sodyum+kolşisin grubunda kilo kaybının olduğunu gördük. Bu kilo kaybını yüzde değişim olarak hesaplayarak değerlendirdiğimizde ise diklofenak sodyum grubu diğer gruplar ile karşılaştırıldığında önemli oranda kilo kaybı olduğunu gördük. Diklofenak sodyum+kolşisin grubunda ise kilo kaybı olduğunu ancak diklofenak sodyum grubuna göre daha az bir kayıp olduğunu değerlendirdik.

Toplam böbrek ağırlıkları ve böbrek indeksleri arasında gruplar arası anlamlı bir fark bulunmadı.

ABY glomerüler filtrasyon hızında [glomerular filtration rate (GFR)] hızlı bir düşüş olarak tanımlanır ve başta kreatinin ve kan üre nitrojeni olmak üzere nitrojenli atıkların tutularak serum üre ve kreatinin değerlerinin artmasına neden olur (5). Serum üre ve kreatinin ölçümlerinin artışı, bu atık ürünlerin azalan klirensinin göstergesi olan azalan böbrek fonksiyonunun göstergesi olarak kullanılırlar (3).

El-Maadawy ve ark. erkek Sprague-Dawley sıçanları ile yaptıkları çalışmada, 10 gün boyunca 50 mg/kg/gün diklofenak intramüsküler enjeksiyonu uygulamışlar. Bir gruba ise diklofenak enjesiyonundan 1 saat önce değişen dozlarda 6-paradol oral gavaj ile verip etkilerini incelemişler. Diklofenak grubunda normal sıçanlarla karşılaştırıldığında üre, kreatinin serum seviyelerinde belirgin bir yükselmeye neden olduğu tespit edilmiş (18).

Rasheed ve arkadaşlarının, Sprague Dawley erkek sıçanlara 5 gün boyunca 15 mg/kg/gün diklofenak ip uygulayarak oluşturdukları ABH'da Vücut Kitle İndeksi (g/ cm^2), serum kreatinin(mg/dL), serum üre (mg/dL) değerlerinde diğer gruplara göre anlamlı bir artış tespit etmişler. Schwartz formülüyle hesapladıkları Tahmini glomerüler filtrasyon hızında (eGFR) (ml/dak/1,73) ise diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde bir azalış tespit etmişler (109).

Aycan ve ark. yaptıkları çalışmada 5 gün boyunca günde iki kez 9 mg/kg diklofenak sodyum im yolla uygulandıkları erkek Wistar sıçanlarda serum kreatinin ve serum üre azotu önemli ölçüde artmıştı (106).

Al-Kuraishy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada erkek Sprague-Dawley sıçanlarına intraperitoneal diklofenak (15 mg/kg) verdikleri grupta serumda üre ve kreatinin düzeyi diklofenak grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttı. Schwartz formülüyle hesapladıkları eGFR, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında diklofenak grubunda azaldı (107).

Nouri ve Heidarian'ın erkek Wistar sıçanlara 50 mg/kg diklofenak vererek yaptıkları çalışmada da serum(Nouri & Heidarian, 2019)t değerleri artmıştı (98).

Alorabi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Sprague Dawley erkek sıçan 150 mg/kg diklofenak ip uygulanmış ve bu grupta kontrol grubuna kıyasla serum üre ve kreatinin değerlerinde artış tespit edilmiş. Schwartz denklemine göre hesaplanan eGFR, diklofenak ile tedavi edilen sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azaldı (110).

Biz de çalışmamızda ilk ilaç uygulamasından 24 saat sonra (2.gün) aldığımız kanda çalıştığımız üre değerlerinde diklofenak sodyum grubu diğer gruplar ile karşılaştığında anlamlı derecede artış olduğunu gördük. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. 2.gün kreatinin değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası anlamlı bir fark görülmedi. Ancak 2.gün eGFR'ler karşılaştırıldığında diklofenak sodyum grubunda diğer gruplara göre anlamlı oranda azalma tespit edildi.

Deney sonunda son ilaç uygulamasından 24 saat sonra alınan kanda da üre, kreatinin değerleri çalışıldı ve eGFR değerleri hesaplandı. 6.gün serum üre değerleri karşılaştırıldığında kontrol ve kolşisin grupları arasında anlamlı bir fark yoktu. Ancak diklofenak sodyum ve diklofenak sodyum+kolşisin gruplarının 6.gün serum üre değerlerinde diğer gruplarla aralarında fark oluşturan bir artış olduğu görüldü. Diklofenak sodyum grubunun 6.gün üre artışı diklofenak sodyum+kolşisin grubuna göre daha fazlaydı ve bu iki grup arasında da anlamlı fark vardı. 6.gün serum kreatinin değerleri karşılaştırıldığında diklofenak sodyum grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir artış görüldü. Kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+kolşisin grupları arasında ise anlamlı fark yoktu.

Diklofenak sodyum grubunda 6.gün eGFR değerinde kontrol ve kolşisin grubuna göre anlamlı bir azalma vardı. Diklofenak sodyum+kolşisin grubu ile diklofenak sodyum grubu arasında anlamlı fark olmamasına rağmen diklofenak sodyum+kolşisin grubunun kontrol ve kolşisin grubu ile de arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Dolayısıyla diklofenak sodyum+kolşisin grubunda üre ve eGFR değerleri göz önüne alındığında diklofenak sodyum grubuna göre böbrek foksiyonlarının bir miktar bozulma olsa da diklofenak sodyum grubuna göre nispeten korunmuş olduğu görüldü.

Aycan ve ark. yaptıkları çalışmada 5 gün boyunca günde iki kez 9 mg/kg diklofenak sodyum im yolla uygulandıkları erkek Wistar sıçanların böbrek

dokularında yaptıkları H&E boyamada diklofenak tedavisi, tübüler genişleme, tübüler atrofi, vakuolizasyon, tübüler epitel hücrelerinin dejenerasyonu ve dökülmesi veya tübüler bazal membranın kalınlaşması olarak tanımlanan tübüler hasarı önemli ölçüde indüklemiş olduğunu tespit ettiler (106).

El-Shafei ve Saleh'in yaptığı deneysel çalışmada diklofenak sodyum (50 mg/kg, IM) uygulanan sıçanların böbrek dokusunun H&E boyamasında renal tübüllerde bulanık dejenerasyon ve birkaç proksimal kıvrımlı tübülde çok sayıda nekrotik hücre saptanırken serum üre ve kreatinin değerlerinin de artmış olduğunu gördüler (97).

El Agaty ve arkadaşlarının çalışmasında 2 gün 50 mg/kg intraperitoneal diklofenak uygulanan sıçanlarda diklofenak uygulanan gruba ait böbrek dokusunun H&E boyamasında, Bowman boşluğunun genişlemesiyle büzülmüş ve dejenere olmuş renal glomerüller, lümende asidofilik artıklar içeren genişlemiş renal tübüller görülmüş. Bazı renal tübüllerin lümeninde piknotik çekirdeklere ve dökülmüş tübüler hücrelere rastlanmış dolayısıyla bazı tübüllerde, lümende epitel örtünün dökülmesiyle yüzeyin çıplak kaldığı görülmüş. Yer yer interstisyel hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu da görülmüş. Diklofenak grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde tübüler hasar, glomerüler hasar, vasküler konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonu skoruna sahip olduğu belirlenmiş. PAS boyamasında ise diklofenak grubunda glomerüler bazal membranın ve bazı böbrek tübüler hücrelerinin bazal membranının kalınlaştığı, bazılarında ise bazal membranda bozulma görülmüş. Ayrıca, bazı tübüler hücrelerin PAS pozitif fırçamsı kenarlarında fokal kayıp tespit edilmiş (108).

Alorabi ve arkadaşlarının Sprague Dawley erkek sıçan 150 mg/kg diklofenak ip uyguladıkları çalışmada H&E boyama histopatolojik değişiklikler açısından değerlendirilmiş diklofenak grubunda, tübüler nekroz (renal tübüler epitelin dökülmesi, tübüllerin genişlemesi ve tübüllerin içinde proteinli döküntü oluşumu) görülmüş (110).

Biz de çalışmamızda deney gruplarına ait böbrek dokusu H&E boyama yapılarak ışık mikroskobunda incelendiğinde kontrol ve kolşisin grubunda böbreğin normal morfolojisi izlendi. Diklofenak sodyum verilen grupta glomerüllerde atrofi,

tübüler epitel hücrelerde vakuolizasyon, hasar, tübüler epitelde dökülme, lümende konjesyon, tübüllerde dilatasyon görüldü. Tübül lümeninin dilate olduğu, bazı tübüllerin kapandığı, fırçası kenarda dökülme ile tübüllerin silinmesi veya kapanmasıyla fırça sınırında bozulma olduğu tespit edildi. Yer yer kanama odakları ve mononükleer hücre infiltrasyonları belirlendi. Glomerüler atrofi, fırça sınırında bozulma, tübüler hücrelerde vakuol varlığı, tübüler epitel hücre hasarı ve toplam böbrek hasarı skorlandığında diklofenak grubunda diğer gruplara göre önemli ölçüde bozulmanın olduğu tespit edildi. Diklofenak sodyum+kolşisin grubunda bir miktar patolojik değişikliklerin olduğu ancak kontrol ve kolşisin grubuna daha yakın morfolojide böbrek alanları görüldü. Diklofenak sodyum+kolşisin grubunda histomorfolojik skorlamada diklofenak sodyum grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü.

Yabuki ve arkadaşları dişi farelerde, PAS boyamasında küçük ve dev granülleri olduğunu tanımlamışlardır. Önceki elektron mikroskobik araştırmalarında, PAS pozitif küçük ve dev granüllerin asit fosfataz aktivitesi gösteren elektron yoğun multi lamellar yapılar olduğunu gösterdiklerini ve bu granüllerin lizozomlar olduğunu varsaydıklarını belirtmişler (111).

Hellal ve arkadaşlarının yaptıkları çalışamda, erkek Sprague Dawley sıçanlara 3 gün boyunca oral gavaj yoluyla (40 mg/kg/gün) dozda Diklofenak vermişler. Diklofenak verilen grupta PAS boyamada, intratübüler PAS pozitif silindirler olduğunu ve glomerüler ve tübüler bazal membranların kalınlaşması fark ettiler. Ayrıca hücre içi PAS pozitif granülleri gösterdiler (112).

Sanai ve arkadaşlarının, Lewis erkek sıçanlarda germanyum dioksit (GeO2) subakut nefrotoksisitesini incelemek için yaptıkları çalışmada, hasar grubu sıçanlara ait böbrek dokularında Işık mikroskobu ile, şişmiş mitokondrilerdeki elektron mikroskobik yoğun granüllere karşılık gelen vakuoller ve PAS boyalı partikül birikimleri distal tübüler epitelde baskın olarak gözlendiklerini bildirdiler (113).

Biz de çalışmamızda, deney gruplarına ait böbrek dokusu PAS boyama yapılarak ışık mikroskobunda incelendiğinde diklofenak sodyum grubunda ise proksimal tübüllerde fırçamsı kenarda kayıp olduğu ve tübüler bazal membranlar ile glomerül ve Bowman kapsülü bazal membranlarının kalınlaşmış olduğu seçildi.

Diklofenak sodyum grubunun kontrol ve kolşisin grubuna göre fırçamsı kenar kaybının daha fazla olduğu görüldü. Diklofenak sodyum grubuna ait prokismal tübül epitelinde fazlaca PAS (+) inklüzyonların bulunduğunu da gördük.

Histomorfolojik değişikliklere bakılarak diklofenak sodyumun akut böbrek hasarına neden olduğu, kolşisin tedavisinin ise bu hasarı önemli ölçüde bu hasara karşı iyileştirici olduğunu söyleyebiliriz.

El-Maadawy ve arkadaşlarının sıçanlara 50 mg/kg, im diklofenak sodyum vererek oluşturdukları akut böbrek hasarı modelinde diklofenak sodyumun böbrek dokularında İL-1β seviyelerinde belirgin bir artışla ilişkili olan NLRP3, ASC ve kaspaz-1 mRNA ifadelerini önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (18).

Mansoure ve arkadaşlarının 3 gün 50 mg/kg diklofenak verdikleri sıçanlarda NLRP3, İL-1β ve İL-18 protein ekspresyon seviyelerinin kontrollere göre artmış olduğunu gösterdiler. Western blott analiz yapıldığında diklofenak grubunda kaspaz 1'in anlamlı oranda arttığını tespit ettiler (114).

El Agaty ve arkadaşlarının çalışmasında 2 gün 50 mg/kg intraperitoneal diklofenak uygulanan sıçanlarda NLPR3 ve Kaspaz-1'in böbrek düzeylerinin eliza ile kantitatif ölçümünde sonuçların diklofenak grubunda kontrol sıçanlarına kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğunu gösterilmiştir (108).

Biz de çalışmamızda immünohistokimyasal işaretlemeyle diklofenak sodyum grubunda NLRP3, kaspaz 1 ve İL-1 β ifadesinin arttığını gösterdik. Semikantitatif skorlama yapıldığında NLRP3, kaspaz-1 ve İL-1 β skorunun diklofenak sodyum grubunda kontrol ve kolşisin grubuna göre anlamlı yüksek olduğu görüldü. Diklofenak sodyum ve diklofenak sodyum+kolşisin grupları karşılaştırıldığında ise kaspaz1 ve İL-1 β'da iki grup arasında anlamlı fark olduğu, diklofenak sodyum grubunda pozitifliğin daha fazla olduğu görüldü. NLRP3 skoru bakıldığında anlamlı bir fark görülmese de (p=0,0837) mikroskobik bakıda diklofenak sodyum+kolşisin grubunda pozitifliğin diklofenak grubuna göre daha az olduğunu gördük.

Günümüzde kolşisin yeni bir endikasyon olarak kardiyovasküler hastalıklarda (perikardit, miyokard enfarktüsü vs. gibi) düşük dozda kullanılmaya başlanmıştır. Bu da kolşisinin farklı hastalıklarda düşük dozda kullanımı konusunu gündeme

getirmiştir. Kolşisinin düşük dozda yeni endikasyonlarla kullanımı, doza bağlı etkileriyle ilgili çalışmaları popüler yapılmaktadır (65,69–74).

Otani ve arkadaşları yaptıkları çalışmada C57BL/6 erkek farelere, NSAİİ olan indometazin (10 mg/kg,po) vererek oluşturdukları ince bağırsak hasarında kolşisinin (1 veya 3 mg/kg, po) etkisini incelemişler. İnce bağırsakta Evans mavisi ile boyanan lezyonlar, indometazin uygulamasından 24 saat sonra kolşisinle tedavi edilen farelerde sham grubu farelere göre daha küçük olduğunu görmüşler. Histolojik inceleme kolşisinle tedavi edilen farelerde sham grubuna göre daha az mukozal inflamasyon, ülserasyon, lezyonların boyutunda ve sayısında, lezyon indeksinde azalma olduğunu göstermişler. İndometazin gubunda İnce bağırsaktaki NLRP3, İL-1β ve kaspaz-1'in mRNA düzeyleri önemli ölçüde artmıştı ve indometazin uygulamasından 6 saat sonra zirveye ulaştığını tespit ettiler. Western blot analiz ile kolşisin tedavisinin indometazin uygulamasından 6 saat sonra olgun İL-1β (p17) ve parçalanmış kaspaz-1 (p10) protein ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir (17).

Çeşitli böbrek hasarı modellerinde de kolşisin ile yapılan çalışmalar mevcuttur.

Donoso ve Bailie'nin yaptığı çalışmada Sprague-Dawley sıçanlara 3 gün her kolşisin (0,2, 0,4; 0,8 mg/kg/ip) uygulamışlar. 0,2 mg/kg kolşisin uygulanan grupta kilo değişiminin olmadığı, dehidratasyon ve diyare gibi yan etkileri görmediklerini ancak diğer 2 doz uygulamasının yapıldığı gruplarda kilo kaybının olduğu ve dehidratasyon ve diyarenin görüldüğünü belirtmişler (115).

Li ve arkadaşları çalışmalarında sıçanlara 65 mg/kg,ip streptozotosin (STZ) uygulayarak deneysel diyabetik nefropati modeli oluşturmuşlardır. 30 µg/kg/gün, ip kolşisin ile tedavi edilen hayvanlarda diyabetiklere göre kilo artışı daha az bulunmuş. Kan üre ve kreatinin değerleri de daha düşük bulunmuş. kolşisin tedavisi DM sıçanlarında albüminüriyi önemli ölçüde azaltmış olarak görülmü (86).

Landau ve arkadaşları C57BL/6J farelerine adenin diyeti uygulanarak böbrek hasarı oluşturmuşlar. 3 hafta boyunca kolşisin (30 µg/kg) etmişler. Hasar grubu ile karşılaştırıldığında kolşisin ile tedavi grubunda serum kreatinin seviyelerinin ve kaspaz-1 protein ekspresyonlarının daha az olduğunu ve histolojik olarak kolşisinin böbrek dokusundaki inflamasyonu ve fibrozu hafiflettiğini görmüşler (20).

El-Rashid ve arkadaşlarının erkek C57BL/6 fareleri ile yaptıkları çalışmada, renal iskemi reperfüzyon hasarı modeli oluşturarak kolşisin (0,4 mg/kg) ve metformin (0,25 mg/kg) verilerek etkilerini incelemişler ve her iki farmakolojik ajan da daha düşük serum kreatinin ve daha az kilo kaybı ile ABH'na karşı koruma sağladığı görmüşler (1).

Biz de yaptığımız çalışmada kontrol ve kolşisin grupları karşılaştırıldığından denek ağırlıklarının yüzde değişimleri, toplam böbrek ağırlıkları ve böbrek indeksi, 1. ve 6.gün serum üre, kreatinin değerleri ile eGFR değerleri arasında anlamlı bir fark görülmedi. Böbrek dokusunun H&E ve PAS boyamaları değerlendirildiğinde kolşisin grubunda normal böbrek morfolojisi görüldü. NLRP3, kaspaz1 ve İL-1β immünohistokimya boyamalarında yine kontrol ve kolşisin grubu arasında anlamlı fark görülmedi.

Diklofenak sodyum+kolşisin tedavisi uyguladığımız deney grubunu incelediğimizde deneklerde kilo kaybının olduğu görüldü. Ancak bu kilo kaybı oranının sadece diklofenak sodyum verilen gruba göre anlamlı oranda azdı. Toplam böbrek ağırlıklarında gruplar arası fark yoktu.

Biyokimyasal veriler karşılaştırıldığında diklofenak sodyum+kolşisin grubunda 2.gün üre değerlerinde bir miktar artış vardı. Ancak bu artış kontrol ve kolşisin grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değildi. Öte yandan diklofenak sodyum grubu anlamlı olarak tedavi grubundan aralarında anlamlı fark vardı. 2.gün kreatinin değerlerinde gruplar arasında fark yokken 2.gün eGFR değerlerinin diklofenak sodyum+kolşisin grubunun kontrol ve kolşisin grubuna benzer, diklofenak sodyum grubuyla anlamlı fark oluşturan sonuçları vardı.

6.gün üre değerlerinde diklofenak sodyum+kolşisin grubunun değerlerinin daha düşük olmasına rağmen diklofenak grubu ile arasında anlamlı fark bulunmazken, 6.gün kreatinin değerleri arasında anlamlı fark vardı. Yine eGFR değerleri arasında da bu iki grupta istatistiksel anlamlı fark tespit edilemezken diklofenak sodyum+kolşisin grubunda eGFR sayısal değerlerinin daha yüksek olduğu görüldü. Biyokimyasal verilere göre diklofenak ile oluşturulmuş hasarda kolşisin tedavisi bu model için bir miktar değerlerde bozulmalar olsa da sadece diklofenak sodyum uygulamasına göre böbrek fonksiyonunu korumuş olarak değerlendirdik.

Histolojik olarak böbrek dokuları incelendiğinde, H&E boyamada diklofenak sodyum+kolşisin grubunda böbrek dokusunun korunduğu, glomerüler atrofi, tübüler epitel hücrelerinde hasar ve vakuolleşmenin az olduğu, Fırça sınırında hücrelerde bir miktar hasar ve fırçamsı kenar olarak adlandırılan hücre yüzey özelleşmelerinde yer yer azalma görüldü. Ancak kolşisin grubu ve diklofenak sodyum+kolşisin grubunun kontrol grubu ile aralarında istatistiksel olarak fark oluşmadı. Total böbrek hasarı skorunda da kontrol, kolşisin ve diklofenak sodyum+kolşisin grubu aralarında fark bulunmadı. PAS boyamada ise fırçamsı kenar kaybı tespit edildi. Bu fark diklofenak sodyum+kolşisin grubu ile kontrol ve kolşisin grupları arasında anlamlı değilken diklofenak sodyum+kolşisin grubu ile diklofenak sodyum grubu arasında da istatistiksel anlamlı bulunmadı. Ancak mikroskobisinde diklofenak sodyum+kolşisin grubunda fırçamsı kenarın korunmuş olduğu değerlendirildi.

Bu sonuçlara bakarak da histoloji olarak diklofenak sodyumun böbrek hasarına karşı kolşisinin sadece diklofenak sodyum uygulamasına göre böbrek dokusunu koruduğu sonucu çıkarıldı.

Bu çalışmada NLRP3 inflamazom yolağının etkinliğinin değerlendirilmesi için yapılan NLRP3, kaspaz 1 ve İL-1β immünohistokimyasal boyamalarından NLRP3 boyamasında immünreaktivite diklofenak sodyum+kolşisin grubu daha az olarak değerlendirilmesine rağmen diklofenak sodyum grubu arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı. Kaspaz 1 ve İL-1β boyamalarında ise bu iki grup arasında anlamlı fark vardı.

Bu verilere göre diklofenak sodyum böbrekte akut hasar oluşturmakta ve bu hasarda NLRP3 inflamazom yolağı rol oynamaktadır. Kolşisin tedavisi ise uygulan doz ve gün için bu modelde diklofenak sodyumun oluşturduğu hasarı tamamen yok etmese de biyokimyasa verilerle gösterilen böbrek fonksiyonlarını ile histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle gösterildiği gibi böbrek dokusunu koruyucu rol oynamıştır sonucuna vardık. Kolşisin bu rolü NLRP3 enflomozom yolağı üzerinden incelenmiş ve enflomozom yolağını baskıladığını gördük.

Çalışmamız literatürde NSAİİ'a bağlı ABH'nda kolşisinin etkilerini gösteren ilk çalışmadır. Bu etkileri göstermede NLRP3 inflamazom yolağı kullandık. Böylelikle diklofenak sodyuma bağlı ABH modelinde hem kolşisin kullanımı hem de

NLRP3 inflamazom yolağı literatürde ilk defa gösterildi. Bu amaçla NSAİİ ile ABH modeli oluşturarak meydana gelen hasarı ve bu hasara kolşisinin olası etkilerini biyokimyasal (BUN, Kreatinin, GFR), histokimyasal (Hematoksilen Eosin, Periyodik Asit Schiff) ve immünohistokimyasal (NLRP 3, Kaspaz -1 ve İL-1β) olarak inceledik.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

NSAİİ'a bağlı akut böbrek hasarı klinikte sık rastlanan ve spesifik tedavisi olmayan bir durumdur. Yeni ilaç geliştirme, test etme ve klinik deneyler yüksek bütçeli olduğu için, farmakodinamiği ve farmokinetiği daha iyi bilinen bir ilacın yeniden kullanılması daha güvenli ve uygun maliyetlidir. Bu nedenle diklofenak sodyum kaynaklı akut böbrek hasarında kolşisin kullanımının etkilerini NLRP3, aktif kaspaz 1, İL-1β inflamazom yolağı üzerinden inceledik.

Deneysel çalışmamız sonucunda kolşisinin diklofenak sodyum kaynaklı akut böbrek hasarı üzerinde olumlu değişikler yaptığını gözlemledik. Çalışmamızda diklofenak sodyumun sıçan vücut ağırlıklarının yüzde değişimleri üzerinde diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalmaya yol açtığı gösterildi. Böbrek ağırlıkları ve böbrek indeksi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişimin olmadığı görüldü.

Yapılan biyokimyasal değerlendirmelerde, Diklofenak sodyum grubunun üre, kreatinin değerlerinin diğer gruplara göre anlamlı şekilde arttığı, tahmini GFR (eGFR) değerinin ise anlamlı şekilde azaldığı görüldü.

Yapılan histolojik değerlendirmelerde, diklofenak sodyumun böbrek dokusunda glomerüllerde atrofi, tübül epitelinde hücrelerde vakuolizasyon, fırçamsı kenar kaybı, tübül lümenlerinde dilatasyona neden olduğu gözlemlendi. Diklofenak sodyum ile kolşisin tedavisi verilen grupta ise glomerüllerde atrofinin, tübül epitelinde hücrelerde vakuolizasyonun, fırçamsı kenar kaybının, tübül lümenlerinde belirgin olarak azaldığı gözlendi. Aynı zamanda yaptığımız immünohistokimyasal boyamalar ile elde ettiğimiz sonuçlarda NLRP3, Aktif Kaspaz 1, İL-1β immünreaktivitesinin kolşisin tedavisi verilen grupta Diklofenak sodyum grubuna göre anlamlı şekilde azaldığını tespit edildi. Kolşisin kullanımının böbrek üzerindeki olumlu etkilerini

NLRP3, aktif kaspaz-1, İL-1β'yi azaltarak inflamazom aktivasyonunu azaltarak yapabileceği düşünüldü ve bunu immünohistokimyasal boyamalar ile gösterildi.

NSAİİ ve kolşisin, bazı hastalıklarda (perikardit vs.) tedaviye eklenebilecek seçeneklerdir ve birlikte kullanılmaktadırlar. Ayrıca klinikte hastalar, bu iki ilacın birlikte kullanımını gerektiren bağımsız hastalıklardan (Romatoid Artrit ve Ailesel Akdeniz Ateşi gibi) eş zamanlı olarak muzdarip olabilmektedirler. Çalışmamızla birlikte NSAİİ kaynaklı ABH'da kolşisinin kullanımının *in-vivo* deneysel etkilerinin gözlemlenmesi, klinikte bu ilaçların beraber kullanılması gereken durumda ortaya çıkabilecek akut böbrek hasarı için bakış açısı sağlamaktadır.

Diklofenak sodyuma bağlı gelişebilecek olan akut böbrek hasarının şiddetinin azaltılması için diklofenak sodyum ile kolşisin kullanımının yararlı olabileceği ve aynı zamanda diklofenak sodyum nefrotiksisitesinin azaltılması ya da tamamen ortadan kaldırılmasına yönelik yapılacak olan çalışmalarda yaptığımız araştırmanın literatüre katkısı olacağını düşünüyoruz.

Klinikte anti-inflamatuvar ajan olarak yaygın kullanılan bir ilaç olan diklofenak sodyumun en yaygın yan etkilerinden biri olan akut böbrek hasarının azaltılması amacıyla kolşisin kullanılması hem diklofenak sodyum hem de kolşisinin etki mekanizmalarının tam olarak anlaşılması gereklidir. Kolşisinin bu etki mekanizmalarının anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmanın yapılması gereklidir.

7. KAYNAKLAR

1. El-Rashid M, Nguyen-Ngo D, Minhas N, Meijles DN, Li J, Ghimire K, vd. Repurposing of metformin and colchicine reveals differential modulation of acute and chronic kidney injury. Sci Rep. 01 Aralık 2020;10(1).

2. Wang Q, Qi G, Zhou H, Cheng F, Yang X, Liu X, vd. Protective effect of thymol on glycerol-induced acute kidney injury. Ren Fail. 31 Aralık 2023;45(1).

3. Basile DP, Anderson MD, Sutton TA. Pathophysiology of acute kidney injury. Compr Physiol. Nisan 2012;2(2):1303-53.

4. Sharma V, Singh TG. Drug induced nephrotoxicity- A mechanistic approach. Mol Biol Rep. 28 Ağustos 2023;

5. Lucas GNC, Leitão ACC, Alencar RL, Xavier RMF, Daher EDF, Silva Junior GB da. Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. C. 41, Jornal brasileiro de nefrologia : 'orgao oficial de Sociedades Brasileira e Latino-Americana de Nefrologia. NLM (Medline); 2019. s. 124-30.

6. Basivireddy J, Jacob M, Pulimood AB, Balasubramanian KA. Indomethacin-induced renal damage: Role of oxygen free radicals. Biochem Pharmacol. 01 Şubat 2004;67(3):587-99.

7. Higashimori A, Watanabe T, Nadatani Y, Takeda S, Otani K, Tanigawa T, vd. Mechanisms of NLRP3 inflammasome activation and its role in NSAID-induced enteropathy. Mucosal Immunol. 01 Mayıs 2016;9(3):659-68.

8. Kim YG, Kim SM, Kim KP, Lee SH, Moon JY. The role of inflammasome-dependent and inflammasome-independent nlrp3 in the kidney. C. 8, Cells. MDPI; 2019.

9. Shahzad K, Bock F, Dong W, Wang H, Kopf S, Kohli S, vd. Nlrp3-inflammasome activation in non-myeloid-derived cells aggravates diabetic nephropathy. Kidney Int. Ocak 2015;87(1):74-84.

10. Agostini L, Martinon F, Burns K, McDermott MF, Hawkins PN, Tschopp J. NALP3 Forms an IL-1β-Processing Inflammasome with Increased Activity in Muckle-Wells Autoinflammatory Disorder. Immunity. Mart 2004;20(3):319-25.

11. Shigeoka AA, Mueller JL, Kambo A, Mathison JC, King AJ, Hall WF, vd. An Inflammasome-Independent Role for Epithelial-Expressed Nlrp3 in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. The Journal of Immunology. 15 Kasım 2010;185(10):6277-85.

12. Speer T, Dimmeler S, Schunk SJ, Fliser D, Ridker PM. Targeting innate immunity-driven inflammation in CKD and cardiovascular disease. C. 18, Nature Reviews Nephrology. Nature Research; 2022. s. 762-78.

13. Xiang H, Zhu F, Xu Z, Xiong J. Role of Inflammasomes in Kidney Diseases via Both Canonical and Non-canonical Pathways. C. 8, Frontiers in Cell and Developmental Biology. Frontiers Media S.A.; 2020.

14. González L, Bulnes JF, Orellana MP, Venturelli PM, Rodriguez GM. The Role of Colchicine in Atherosclerosis: From Bench to Bedside. C. 14, Pharmaceutics. MDPI; 2022.

15. Asako H, Kubes P, Baethge BA, Wolf RE, Granger DN. Colchicine and methotrexate reduce leukocyte adherence and emigration in rat mesenteric venules. Inflammation. Şubat 1992;16(1):45-56.

16. Angelidis C, Kotsialou Z, Kossyvakis C, Vrettou AR, Zacharoulis A, Kolokathis F, vd. Colchicine Pharmacokinetics and Mechanism of Action. Curr Pharm Des. 10 Mayıs 2018;24(6):659-63.

17. Otani K, Watanabe T, Shimada S, Takeda S, Itani S, Higashimori A, vd. Colchicine prevents NSAID-induced small intestinal injury by inhibiting activation of the NLRP3 inflammasome. Sci Rep. 02 Eylül 2016;6(1):32587.

18. El-Maadawy WH, Hassan M, Abdou RM, El-Dine RS, Aboushousha T, El-Tanbouly ND, vd. 6-Paradol alleviates Diclofenac-induced acute kidney injury via autophagy enhancement-mediated by AMPK/AKT/mTOR and NLRP3 inflammasome pathways. Environ Toxicol Pharmacol. 01 Nisan 2022;91.

19. Deftereos SG, Beerkens FJ, Shah B, Giannopoulos G, Vrachatis DA, Giotaki SG, vd. Colchicine in Cardiovascular Disease: In-Depth Review. C. 145, Circulation. Lippincott Williams and Wilkins; 2022. s. 61-78.

20. Landau D, Shukri N, Arazi E, Tobar A, Segev Y. Beneficiary Effects of Colchicine on Inflammation and Fibrosis in a Mouse Model of Kidney Injury. Nephron. 2023;147(11):693-700.

21. Richard Drake, A. Wayne Vogl, Adam W. M. Mitchell. Richard Drake PhD, A. Wayne Vogl PhD, Adam W. M. Mitchell MB BS FRCS FRCR - Gray's Basic Anatomy-Elsevier (2022). 2022;

22. Mahadevan V. Anatomy of the kidney and ureter. 2019.

23. Dalley AF, Agur AMR. Clinically Oriented Anatomy Ninth Edition. 2023.

24. Moinuddin Z, Dhanda R. Anatomy of the kidney and ureter. 2015.

25. Fogo A, Agnes B, Cohen AH, Colvin RB, Charles J, Charles J, vd. Fundamentals of Renal Pathology. 2014.

26. Ozan H. Ozan Anatomi. Ankara: Nobel Tıp Kitabevi; 2014.

27. F. Paulsen, J. Waschke. Sobotta Atlas of Anatomy, Vol. 2, 16th ed., English_Latin_ Internal Organs. 16. bs. Elsevier; 2017.

28. Pawlina Wojciech. Ninth Edition Histology a Text And Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology. 9. bs. Wolters Kluwer; 2024.

29. Netter FH. Netter atlas of human anatomy : classic regional approach. Elsevier; 2023.

30. Schoenwolf GC., Larsen WJ. Larsen's human embryology. 4. bs. Churchill Livingstone/Elsevier; 2009. 687 s.

31. Sadler TW (Thomas W). Langman's Medical Embryology. 12. bs. 2012.

32. Keith L. Moore, T.V.N. (VID) Persaud+, Mark G. Torchia. Keith L. Moore The Developing Human_ Clinically Oriented Embryology, 10e-Elsevier,. 2016.

33. William K. Ovalle, Patrick C. Nahirney. Netter's Essential Histology. 2. bs. Philadelphia: Elsevier; 2013.

34. Carlson BM. Human Embryology and Developmental Biology Fifth Edition. 5. bs. 2014.

35. Paker Ş. histoloji. Uludağ Üniversitesi Basımevi; 1993.

36. Meltem Kuruş, editör. Histoloji Teknikler-Hücre-Doku-Sistemler Moleküller-Laboratuar-Klinik Yönleriyle Yaklaşımlar. Akademisyen Kitabevi A.Ş.; 2020.

37. Radi ZA. Kidney Pathophysiology, Toxicology, and Drug-Induced Injury in Drug Development. C. 38, International Journal of Toxicology. Sage Publications Inc.; 2019. s. 215-27.

38. Abraham L. Kierszenbaum, Laura L. Tres. Histology And Cell Biology An Introduction to Pathology Fourth Edition. 4. bs. 2016.

39. luız Carlos Junqueira, José Carneiro. Temel Histoloji. Yener Aytekin, Seyhun Solakoğlu, editörler. 2006.

40. Mescher A l. Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas. 14. bs. 2019.

41. Victor P. Eroschenko. diFIORE'nin Histoloji Atlası Fonksiyonel ilişkileriyle. 2013.

42. Eric W, Raff H, Strang K. Vander' Human Phisiology. 2021.

43. Bright R. Reports of Medical Cases, Selected with a View of Illustrating the Symptoms and Cure of Diseases, by a Reference to Morbid Anatomy. Med Chir Rev. 1831;15(30):289-330.

44. Bywaters EGL, Beall D. Crush Injuries with Impairment of Renal Function. BMJ. 22 Mart 1941;1(4185):427-32.

45. Gozukara KH, Ozcan O, Ozgur T, Kaya YS, Tutuk O. Protective Effects of Colchicine on Testicular Torsion/Detorsion-Induced Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. Urol J. 01 Mayıs 2020;17(3):294-300.

46. Muaddi L, Ledgerwood C, Sheridan R, Dumont T, Nashar K. Acute Renal Failure and Its Complications, Indications for Emergent Dialysis, and Dialysis Modalities. Crit Care Nurs Q. Temmuz 2022;45(3):258-65.

47. Wang Z, Wang Q, Gong X. Unveiling the Mysteries of Contrast-Induced Acute Kidney Injury: New Horizons in Pathogenesis and Prevention. Toxics. 22 Ağustos 2024;12(8):620.

48. James MT, Levey AS, Tonelli M, Tan Z, Barry R, Pannu N, vd. Incidence and Prognosis of Acute Kidney Diseases and Disorders Using an Integrated Approach to Laboratory Measurements in a Universal Health Care System. JAMA Netw Open. 05 Nisan 2019;2(4):e191795.

49. Peng Q, Zhang L, Ai Y, Zhang L. Epidemiology of acute kidney injury in intensive care septic patients based on the KDIGO guidelines. Chin Med J (Engl). 20 Mayıs 2014;127(10):1820-6.

50. Lameire N, Biesen WV, Vanholder R. Acute renal failure. C. 365, The Lancet. 2005.

51. Yoon SY, Kim JS, Jeong KH, Kim SK. Acute Kidney Injury: Biomarker-Guided Diagnosis and Management. Medicina (B Aires). 23 Şubat 2022;58(3):340.

52. Altman R, Bosch B, Brune K, Patrignani P, Young C. Advances in NSAID Development: Evolution of Diclofenac Products Using Pharmaceutical Technology. Drugs. 12 Mayıs 2015;75(8):859-77.

53. Klomjit N, Ungprasert P. Acute kidney injury associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. Eur J Intern Med. Temmuz 2022;101:21-8.

54. LaForge JM, Urso K, Day JM, Bourgeois CW, Ross MM, Ahmadzadeh S, vd. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Clinical Implications, Renal Impairment Risks, and AKI. C. 40, Advances in Therapy. Adis; 2023. s. 2082-96.

55. Störmer J, Gwinner W, Derlin K, Immenschuh S, Rong S, Jang MS, vd. A Single Oral Dose of Diclofenac Causes Transition of Experimental Subclinical Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease. Biomedicines. 22 Mayıs 2022;10(5):1198.

56. Todd PA, Sorkin EM. Diclofenac Sodium. Drugs. Mart 1988;35(3):244-85.

57. Komada T, Muruve DA. The role of inflammasomes in kidney disease. Nat Rev Nephrol. 04 Ağustos 2019;15(8):501-20.

58. Shigeoka AA, Mueller JL, Kambo A, Mathison JC, King AJ, Hall WF, vd. An Inflammasome-Independent Role for Epithelial-Expressed Nlrp3 in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. The Journal of Immunology. 15 Kasım 2010;185(10):6277-85.

59. Casey A, Quinn S, McAdam B, Kennedy M, Sheahan R. Colchicine—regeneration of an old drug. Irish Journal of Medical Science (1971 -). 01 Şubat 2023;192(1):115-23.

60. Huber SM, Navarini A, Brandt O, Müller S. Colchicine – Renaissance of an "ancient" drug. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. 09 Mart 2023;21(3):239-43.

61. Cocco G, Chu DCC, Pandolfi S. Colchicine in clinical medicine. A guide for internists. Eur J Intern Med. Aralık 2010;21(6):503-8.

62. Ghawanmeh AA, Chong KF, Sarkar SM, Bakar MA, Othaman R, Khalid RM. Colchicine prodrugs and codrugs: Chemistry and bioactivities. Eur J Med Chem. Ocak 2018;144:229-42.

63. Niel E, Scherrmann JM. Colchicine today. Joint Bone Spine. Aralık 2006;73(6):672-8.

64. Mullins ME, Mullins M, Carrico EA, Horowitz BZ. Fatal Cardiovascular Collapse Following Acute Colchicine Ingestion. J Toxicol Clin Toxicol. 23 Ocak 2000;38(1):51-4.

65. Nidorf SM. Seeing Colchicine in a New Light: Repurposing Low-dose Colchicine for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease. Clin Ther. Kasım 2023;45(11):1029-33.

66. Wiesenfeld PL, Garthoff LH, Sobotka TJ, Suagee JK, Barton CN. Oral Toxicity Of Colchicine İn Male And Female Rats 421 Acute oral toxicity of colchicine in rats: effects of gender, vehicle matrix and pre-exposure to lipopolysaccharide. Journal Of Applied Toxıcology J Appl Toxicol [Internet]. 2007;27:421-33. Erişim adresi: www.interscience.wiley.com

67. Al Nebaihi HM, Le TS, Davies NM, Brocks DR. Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometric Analytical Method for Study of Colchicine in Rats Given Low Doses. Processes. 10 Kasım 2021;9(11):2007.

68. Andreis A, Imazio M, Avondo S, Casula M, Paneva E, Piroli F, vd. Adverse events of colchicine for cardiovascular diseases: a comprehensive meta-analysis of 14188 patients from 21 randomized controlled trials. Journal of Cardiovascular Medicine. Ağustos 2021;22(8):637-44.

69. Sun M, Dubé MP, Hennessy T, Schultz CJ, Barhdadi A, Rhainds D, vd. Low-dose colchicine and high-sensitivity C-reactive protein after myocardial infarction: A combined analysis using individual patient data from the COLCOT and LoDoCo-MI studies. Int J Cardiol. Eylül 2022;363:20-2.

70. van Broekhoven A, Mohammadnia N, Silvis MJM, Los J, Fiolet ATL, Opstal TSJ, vd. The Effect of Years-Long Exposure to Low-Dose Colchicine on Renal and Liver Function and Blood Creatine Kinase Levels: Safety Insights from the

Low-Dose Colchicine 2 (LoDoCo2) Trial. Clin Drug Investig. 08 Kasım 2022;42(11):977-85.

71. Schwarz N, Fernando S, Chen Y, Salagaras T, Rao SR, Liyanage S, vd. Colchicine exerts anti-atherosclerotic and -plaque-stabilizing effects targeting foam cell formation. The FASEB Journal. Nisan 2023;37(4).

72. Shi Y, Li J, Yang P, Niu Z, Wei L, Chen L, vd. Colchicine increases intestinal permeability, suppresses inflammatory responses, and alters gut microbiota in mice. Toxicol Lett. 01 Kasım 2020;334:66-77.

73. Opstal TSJ, Nidorf SM, Fiolet ATL, Eikelboom JW, Mosterd A, Bax WA, vd. Drivers of mortality in patients with chronic coronary disease in the low-dose colchicine 2 trial. Int J Cardiol. Şubat 2023;372:1-5.

74. Miwa Y, Mutoh A, Morimoto T, Ikehara Y, Yasu T, Koba S, vd. Effects of Low-Dose Colchicine on Serum High-Sensitivity C-Reactive Protein Level in Coronary Artery Disease Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Enhanced Inflammatory Response Protocol for a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Phase 2, Dose-Finding Study. Biomed Hub. 05 Aralık 2022;7(3):156-64.

75. Nidorf SM, Eikelboom JW, Budgeon CA, Thompson PL. Low-Dose Colchicine for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease. J Am Coll Cardiol. Ocak 2013;61(4):404-10.

76. Food and Drug Administration (FDA) "Full Prescribing Information". https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2023/215727s000lbl.pdf. 2023.

77. Horioka K, Tanaka H, Isozaki S, Konishi H, Fujiya M, Okuda K, vd. Acute Colchicine Poisoning Causes Endotoxemia via the Destruction of Intestinal Barrier Function: The Curative Effect of Endotoxin Prevention in a Murine Model. Dig Dis Sci. 17 Ocak 2020;65(1):132-40.

78. Robinson PC, Terkeltaub R, Pillinger MH, Shah B, Karalis V, Karatza E, vd. Consensus Statement Regarding the Efficacy and Safety of Long-Term Low-Dose Colchicine in Gout and Cardiovascular Disease. Am J Med. Ocak 2022;135(1):32-8.

79. Kenig A, Keidar-Haran T, Azmanov H, Kessler A, Kolben Y, Tayri-Wilk T, vd. Low-Dose Colchicine Attenuates Sepsis-Induced Liver Injury: A Novel Method for Alleviating Systemic Inflammation. Inflammation. 01 Haziran 2023;46(3):963-74.

80. Okumura T, Nozu T, Ishioh M, Igarashi S, Kumei S, Ohhira M. Centrally administered butyrate improves gut barrier function, visceral sensation and septic lethality in rats. J Pharmacol Sci. Ağustos 2021;146(4):183-91.

81. Shu JC, He YJ, Lv X, Ye GR, Wang LX. Curcumin prevents liver fibrosis by inducing apoptosis and suppressing activation of hepatic stellate cells. J Nat Med. 25 Ekim 2009;63(4):415-20.

82. Kurt RK, Pinar N, Karateke A, Okyay AG, Silfeler DB, Albayrak A, vd. Protective Effects of Colchicine in an Experimental Rat Endometriosis Model: Histopathological Evaluation and Assessment of TNF-α Levels. Reproductive Sciences. 30 Şubat 2015;22(2):258-63.

83. Liu Y, Yang H, Zhu F, Ouyang Y, Pan P. Inhibition of STAT3 phosphorylation by colchicine regulates NLRP3 activation to alleviate sepsis-induced acute lung injury. Inflammopharmacology. 28 Ağustos 2023;31(4):2007-21.

84. Chen HW, Chen KC, Chen JS. Colchicine and NSAID combination causing acute kidney injury. J Coll Physicians Surg Pak. Kasım 2012;22(11):737-9.

85. Solak Y, Siriopol D, Yildiz A, Yilmaz MI, Ortiz A, Covic A, vd. Colchicine in Renal Medicine: New Virtues of an Ancient Friend. C. 43, Blood Purification. S. Karger AG; 2017. s. 125-35.

86. Li JJ, Lee SH, Kim DK, Jin R, Jung DS, Kwak SJ, vd. Colchicine attenuates inflammatory cell infiltration and extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy. American Journal of Physiology-Renal Physiology. Temmuz 2009;297(1):F200-9.

87. Wang Y, Peng X, Hu J, Luo T, Wang Z, Cheng Q, vd. Low-dose colchicine in type 2 diabetes with microalbuminuria: A double-blind randomized clinical trial. J Diabetes. 21 Ekim 2021;13(10):827-36.

88. Sabry A, El-Husseini A, Sheashaa H, Abdel-Shafy E, El-Dahshan K, Abdel-Rahim M, vd. Colchicine vs. Omega-3 Fatty Acids for Prevention of Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity in Sprague Dawley Rats: An Experimental Animal Model. Arch Med Res. Kasım 2006;37(8):933-40.

89. Pérez-Villalobos M, Barba-González A, García-Carrillo N, Muñoz-Ortega M, Sánchez-Alemán E, Ávila-Blanco M, vd. Nephroprotective effect of pioglitazone in a Wistar rat model of adenine-induced chronic kidney disease. Exp Ther Med. 07 Ağustos 2024;28(4):392.

90. Wood RC, Wyatt JE, Bullins KW, Hanley A V., Hanley GA, Denham JW, vd. Effects of rebamipide on nephrotoxicity associated with selected NSAIDs in rats. Eur J Pharmacol. Kasım 2013;720(1-3):138-46.

91. Borghi SM, Fattori V, Ruiz-Miyazawa KW, Bertozzi MM, Lourenco-Gonzalez Y, Tatakihara RI, vd. Pyrrolidine dithiocarbamate inhibits mouse acute kidney injury induced by diclofenac by targeting oxidative damage, cytokines and NF-κB activity. Life Sci. 01 Eylül 2018;208:221-31.

92. Sharawy MH, Serrya MS. Pirfenidone attenuates gentamicin-induced acute kidney injury by inhibiting inflammasome-dependent NLRP3 pathway in rats. Life Sci. Kasım 2020;260:118454.

93. Besseling PJ, Pieters TT, Nguyen ITN, de Bree PM, Willekes N, Dijk AH, vd. A plasma creatinine- and urea-based equation to estimate glomerular filtration rate in rats. American Journal of Physiology-Renal Physiology. 01 Mart 2021;320(3):F518-24.

94. Kaur A, Kumar R. Comparative analysis of parametric and non-parametric tests. Journal of computer and mathematical sciences. 2015;6(6), 336-342.

95. Orinya OA, Adenkola AY, Ogbe RJ. Haematological and biochemical studies on the effect of diclofenac sodium on Wistar <i>Rattus norvegicus</i> Int J Biol Chem Sci. 28 Mart 2017;10(5):2231.

96. Abdou RM, El-Maadawy WH, Hassan M, El-Dine RS, Aboushousha T, El-Tanbouly ND, vd. Nephroprotective activity of Aframomum melegueta seeds extract against diclofenac-induced acute kidney injury: A mechanistic study. J Ethnopharmacol. Haziran 2021;273:113939.

97. El-Shafei RA, Saleh RM. Pharmacological effects of Vitamin C & E on Diclofenac Sodium intoxicated Rats. Biomedicine and Pharmacotherapy. 01 Aralık 2016;84:314-22.

98. Nouri A, Heidarian E. Ameliorative effects of *N* -acetyl cysteine on diclofenac-induced renal injury in male rats based on serum biochemical parameters, oxidative biomarkers, and histopathological study. J Food Biochem. 18 Ağustos 2019;43(8).

99. Naya Y, Hata N, Kobayash M, Thuyuki M, Koyama Y, Ogihara K. Pathological study of proximal tubule mitochondria in diclofenac-induced acute kidney injury model mice. Tissue Cell. Ekim 2023;84:102188.

100. Mandell BF. Low-dose and high-dose colchicine have comparable efficacy in the treatment of acute gout, but high dose carries significantly greater risk of adverse effects. Evid Based Med. 01 Aralık 2010;15(6):170-1.

101. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. The FASEB Journal. 17 Mart 2008;22(3):659-61.

102. Yue H, Liang W, Zhan Y, Zhang Z, Qin X, Bian L, vd. Colchicine: Emerging therapeutic effects on atrial fibrillation by alleviating myocardial fibrosis in a rat model. Biomedicine & Pharmacotherapy. Ekim 2022;154:113573.

103. Bakhta O, Blanchard S, Guihot AL, Tamareille S, Mirebeau-Prunier D, Jeannin P, vd. Cardioprotective Role of Colchicine Against Inflammatory Injury in a Rat Model of Acute Myocardial Infarction. J Cardiovasc Pharmacol Ther. 15 Eylül 2018;23(5):446-55.

104. Huet F, Fauconnier J, Legall M, Sicard P, Lozza C, Lacampagne A, vd. Low-dose colchicine prevents sympathetic denervation after myocardial ischemia-reperfusion: a new potential protective mechanism. Future Sci OA. 23 Kasım 2020;7(2):FSO656.

105. Qiao TX, Tang CL, Qiu L, Zhao DD, Wu MJ, An HY, vd. [Cathepsin-B involved in effect of electroacupuncture by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome in rats with acute gouty arthritis]. Zhen Ci Yan Jiu. 25 Nisan 2021;46(4):295-300.

106. Aycan İÖ, Elpek Ö, Akkaya B, Kıraç E, Tuzcu H, Kaya S, vd. Diclofenac induced gastrointestinal and renal toxicity is alleviated by thymoquinone treatment. Food and Chemical Toxicology. Ağustos 2018;118:795-804.

107. Al-Kuraishy H, Al-Gareeb A, Hussien N. Synergistic effect of berberine and pentoxifylline in attenuation of acute kidney injury. Int J Crit Illn Inj Sci. 2019;9(2):69.

108. El Agaty SM, Khedr S, Mostafa DKM, Wanis NA, Abou-Bakr DA. Protective role of melatonin against diclofenac-induced acute kidney injury. Life Sci. Eylül 2024;353:122936.

109. Rasheed H, Al-Naimi M, Hussien N, Al-Harchan N, Al-Kuraishy H, Al-Gareeb A. New insight into the effect of lycopene on the oxidative stress in acute kidney injury. Int J Crit Illn Inj Sci. 2020;10(5):11.

110. Alorabi M, Cavalu S, Al-kuraishy HM, Al-Gareeb AI, Mostafa-Hedeab G, Negm WA, vd. Pentoxifylline and berberine mitigate diclofenac-induced acute nephrotoxicity in male rats via modulation of inflammation and oxidative stress. Biomedicine and Pharmacotherapy. 01 Ağustos 2022;152.

111. Yabuki A, Suzuki S, MATSUMOTO M, KUROHMARU M, HAYASHI Y, NISHINAKAGAWA H. Staining Pattern of the Brush Border and Detection of Cytoplasmic Granules in the Uriniferous Tubules of Female DBA/2Cr Mouse Kidney: Comparison among Various Fixations and Stains. Journal of Veterinary Medical Science. 2001;63(12):1339-42.

112. Hellal D, El-Khalik SRA, Arakeep HM, Radwan DA, Abo Safia HS, Farrag EAE. Activation of sirtuin 3 and maintenance of mitochondrial homeostasis by artemisinin protect against diclofenac-induced kidney injury in rats. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 23 Kasım 2024;

113. Sanai T, Oochi N, Okuda S, Osata S. Subacute nephrotoxicity of germanium dioxide in the experimental animal. Toxicol Appl Pharmacol. Nisan 1990;103(2):345-53.

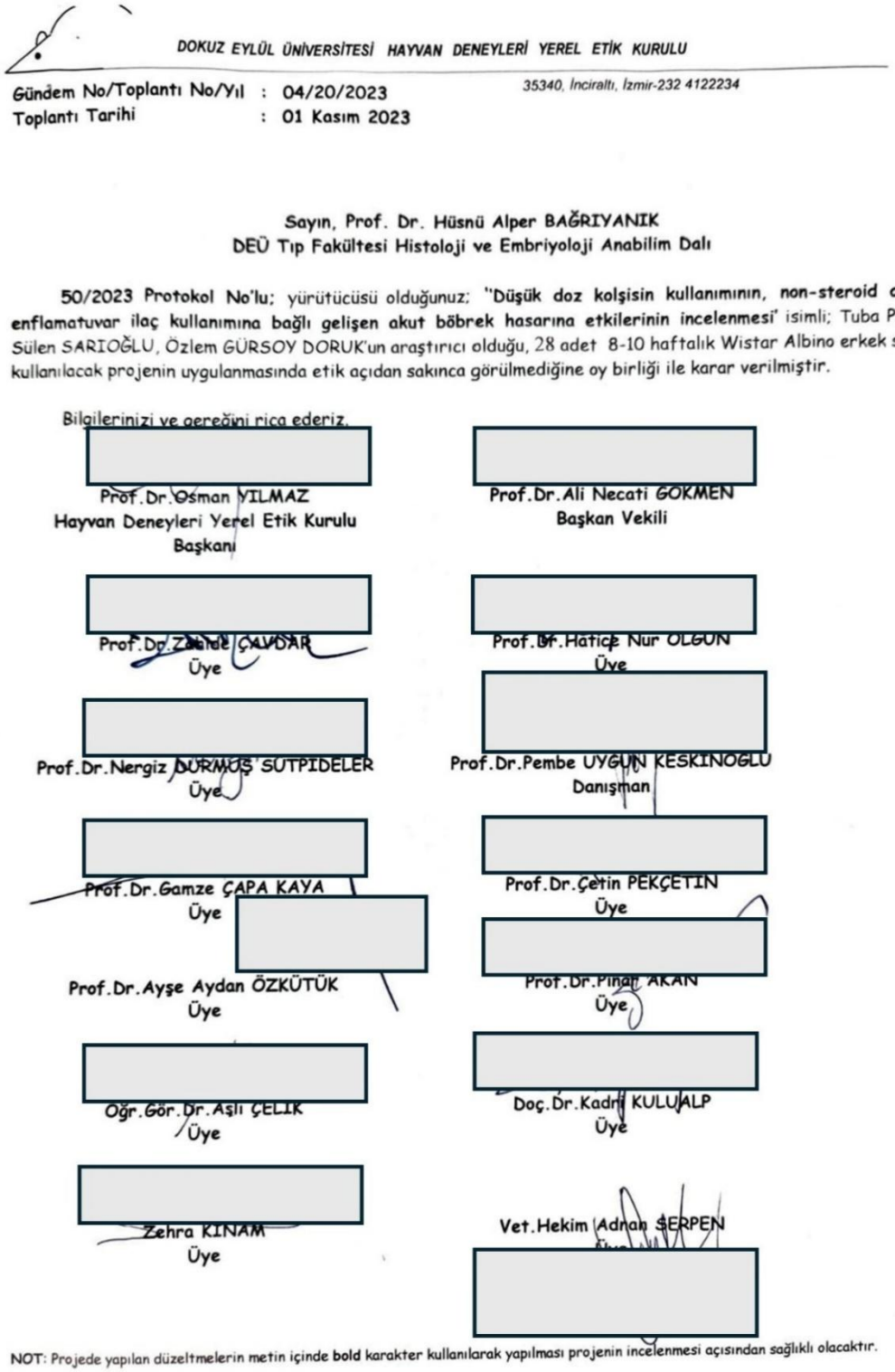
114. Mansoure AN, Elshal M, Helal MG. Renoprotective effect of diacetylrhein on diclofenac-induced acute kidney injury in rats via modulating Nrf2/NF-

κB/NLRP3/GSDMD signaling pathways. Food and Chemical Toxicology. Mayıs 2024;187:114637.

115. Donoso VS, Bailie MD. Effect of Colchicine on Drug-Induced Changes in Plasma Renin Concentration in Rats [Internet]. 1982. Erişim adresi: http://ahajournals.org

8. EKLER

EK-1. Etik Kurul İzin Formu



DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

35340, İnciraltı, İzmir-232 4122234

Gündem No/Toplantı No/Yıl : 04/20/2023
Toplantı Tarihi : 01 Kasım 2023

Sayın, Prof. Dr. Hüsnü Alper BAĞRIYANIK
DEÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

50/2023 Protokol No'lu; yürütücüsü olduğunuz; "**Düşük doz kolşisin kullanımının, non-steroid anti-enflamatuvar ilaç kullanımına bağlı gelişen akut böbrek hasarına etkilerinin incelenmesi**" isimli; Tuba PERİ, Sülen SARIOĞLU, Özlem GÜRSOY DORUK'un araştırıcı olduğu, 28 adet 8-10 haftalık Wistar Albino erkek sıçan kullanılacak projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca görülmediğine oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

Prof.Dr.Osman YILMAZ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
Başkanı

Prof.Dr.Ali Necati GÖKMEN
Başkan Vekili

Prof.Dr.Zekaide ÇAVDAR
Üye

Prof.Dr.Hatice Nur OLGUN
Üye

Prof.Dr.Nergiz DÜRMUŞ SÜTPİDELER
Üye

Prof.Dr.Pembe UYGUN KESKİNOĞLU
Danışman

Prof.Dr.Gamze ÇAPA KAYA
Üye

Prof.Dr.Çetin PEKÇETİN
Üye

Prof.Dr.Ayşe Aydan ÖZKÜTÜK
Üye

Prof.Dr.Pınar AKAN
Üye

Öğr.Gör.Dr.Aşlı ÇELİK
Üye

Doç.Dr.Kadri KULUALP
Üye

Zehra KINAM
Üye

Vet.Hekim Adnan ŞERPEN

NOT: Projede yapılan düzeltmelerin metin içinde **bold** karakter kullanılarak yapılması projenin incelenmesi açısından sağlıklı olacaktır.