

T.C.
Sağlık Bakanlığı
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
1. Üroloji Kliniği
Klinik Şefi: Prof. Dr. Erbil ERGENEKON

KALSIYUM OKSALAT TAŞ HASTALIĞININ SERUM ANTIOKSIDAN ENZİM SEVİYELERİ İLE İLİŞKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Ömer Onur Çakır

İstanbul-2007

T.C.
Sağlık Bakanlığı
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
1. Üroloji Kliniği
Klinik Şefi: Prof. Dr. Erbil ERGENEKON

KALSIYUM OKSALAT TAŞ HASTALIĞININ SERUM ANTIOKSİDAN ENZİM SEVİYELERİ İLE İLİŞKİSİ

Uzmanlık Tezi

Dr. Ömer Onur Çakır

İstanbul-2007

TEŞEKKÜR

Üroloji eğitimim süresince sonsuz bir gayret, emek ve hoşgörüyle, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlanmama izin veren, bana insanlara sevgi, saygı, güleryüz ve nezaketle yaklaşmayı öğreten, insan sevgisinin her şeyin temeli olduğunu anlamama yardımcı olan ve hayatım boyunca bilimsel ve sosyal her alanda kendime örnek alacağım saygıdeğer hocam klinik şefimiz Sayın **Prof.Dr.Erbil ERGENEKON'a** en derin saygı ve teşekkürlerimi bildirmeyi borç bilirim.

Temel eğitimimde büyük emeği geçen, bilimsel ve sosyal kişiliğiyle her konuda ilgi, yardım ve desteğini gördüğüm, saygıdeğer ağabeyim, klinik şef yardımcımız Sayın **Op.Dr.Ayhan DALKILIÇ'a**, asistanlığımın son döneminde ayrı düşsek de kendisinden çok şey öğrendiğim Sayın **Doç.Dr.Turhan ÇAŞKURLU'ya**, üroloji ihtisasım boyunca hep yanımda olan, bilgi ve becerimin gelişiminde büyük katkıları bulunan, ağabeylik ve dostluklarını benden esirgemeyen Sayın **Op.Dr.Soner Güney**, Sayın **Op.Dr.Nurettin Cem SÖNMEZ** ve Sayın **Op.Dr.Serdar ARISAN'a**, gerek bilimsel araştırmalarım gerekse tez çalışmalarım sırasında eşsiz bilgisini ve emeğini benimle paylaşıp, zamanını bana ayıran Sayın **Elif Damla ARISAN'a**, birlikte çalışmaktan onur duyduğum Sayın **Op.Dr.Bayram KELEŞ'e**, Sayın **Op.Dr.Serdar OGAN'a**, Sayın **Op.Dr.Kürşat ÖZBEK'e**, Sayın **Op.Dr.Osman Nuri AKBULUT'a**, Sayın **Op.Dr.Süleyman GÖK'e**, Sayın **Op.Dr.İbrahim DUMAN'a**, Sayın **Op.Dr.Yusuf İlker ÇÖMEZ'e**, bana hem dost hem ağabey hem de kardeş olan doktor arkadaşlarım Sayın **Op.Dr.Can KİREMİT'e**, Sayın **Op.Dr.Bahadır ERMEÇ'e**, Sayın **Dr.Zeynel CANOĞULLARI'na**, Sayın **Dr.Ramazan Gökhan ATIŞ'a**, Sayın **Dr.Oktay AKÇA'ya**, Sayın **Dr.Burhan COŞKUN'a**, Sayın **Dr.Tuncay ARI'ya**, Sayın **Dr.Yılmaz OFLUOĞLU'na**, Sayın **Dr.Mehmet PEHLİVANOĞLU'na**, kliniğimizin ve ameliyathanemizin değerli hemşirelerine, klinik sekreterimize, personel arkadaşlarıma, tezimin yazım aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen Sayın **Yrd.Doç.Dr.Kürşat ÖZDİLLİ'ye**, Sayın **Neslihan GÖGEN'e**, Sayın **Ali Galip HABERVEREN'e** çok teşekkür ederim.

Son olarak ta bu günlere gelmemi sağlayan, sahip olduğum herşeyi borçlu olduğum sevgili babam Sayın **Prof.Dr.Ahmet ÇAKIR'a**, annem Sayın **Gülten ÇAKIR'a** ve ablam Sayın **Yrd.Doç.Dr.Destan Nil Kulaçoğlu'na** sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Dr.Ömer Onur ÇAKIR

İÇİNDEKİLER

- I. GİRİŞ VE AMAÇ
- II. GENEL BİLGİLER
- III. YÖNTEM VE GEREÇ
- IV. BULGULAR
- V. TARTIŞMA
- VI. SONUÇ
- VII. ÖZET
- VIII. SUMMARY
- IX. KAYNAKLAR

KISALTMALAR

AGT	: Alanin Glioksalat Aminotransferaz
Ca	: Kalsiyum
CaOx	: Kalsiyum Oksalat
CAT	: Katalaz
Cu,Zn-SOD	: Bakır, Çinko-Süperoksit Dismutaz
FAD	: Flavın Adenin Dinükleotid
FMN	: Flavın Mono Nükleotid
GPx	: Glutation Peroksidaz
GSH	: İndirgenmiş Glutation
GSSG	: Yükseltgenmiş Glutation
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
LOOH	: Lipit Peroksit
Mn-SOD	: Mangan-Süperoksit Dismutaz
MPO	: Miyelo Peroksidaz
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NO [•]	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
OH [•]	: Hidroksil
ONOO ⁻	: Peroksinitrit
O ₂ ⁻	: Süperoksit
PTH	: Parathormon
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBARS	: Lipit Peroksidaz
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Üriner sistem taş hastalığı, üriner infeksiyonlar ve prostat hastalıklarından sonra üçüncü en sık tanı konulan ürolojik hastalıktır (1). Üriner sistem taş hastalığı prevalansı %2-3' tür (2). 70 yaşındaki beyaz erkeklerin sekizde birinde taş hastalığı gelişmiş olma olasılığı vardır. 1980' li yıllara kadar üriner sistem taş hastalıkları önemli bir sağlık problemi olurken (2), ekstrakorporeal tekniklerle taşın parçalanmasındaki gelişmeler ve endoskopik cerrahideki incelikler, taş cerrahisindeki morbiditeyi azaltmıştır. Bu durum taş hastalığının medikal tedavisi ve hastalıktan korunmak için yapılan araştırmalara ilginin azalmasına neden olmuştur.

Oksidatif stres, hücrede reaktif oksijen türleri ve diğer radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşan bir durum olarak tanımlanabilir. Birçok hastalık için oksidatif stres primer veya sekonder sorumlu etmen olarak gösterilmektedir. Özellikle kalsiyum oksalat birikimine ilişkin taş hastalığı, artan oksidatif stres ile korelasyon göstermektedir. İnsan, hayvan, doku kültürü ve in vitro ortamda yapılan çalışmalarda taş hastalığında oksidatif stresin arttığı ve oksalatın oksidatif stresi indüklediği saptanmıştır (3,4). Buna karşın antioksidanların taş hastalığı riskini azalttığını gösteren kanıtlar mevcuttur (3).

Güncel deneysel çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin yüksek konsantrasyonlarının süperfisiyal hücrelerin oluşturduğu yüzeyde hasar görmüş büyük alanlar oluşturduğu gözlemlenmiştir (5). Bu alanlar üzerinde anlamlı miktarda kalsiyum oksalat kristali geliştiği saptanmıştır. Hasarlı hücreler, kristal gelişimine neden olan maddeler üretmekte ve aynı zamanda heterojen kristal nükleasyonu, agregasyonu ve yapışmayı uyaran membranöz debris oluşturmaktadır. Bu olgularda serbest radikallerin taş gelişimi üzerindeki uyarıcı etkileri bildirilmiştir. Antioksidanların ise biyolojik kalsiyum oksalat taşı oluşum hızını azalttıkları, hücre membranlarını stabilize ederek, hücre parçalanmasını durdurdukları, yaşlılık oluşumunu yavaşlattıkları bilinmektedir (6).

Hücreler, değişik enzimleri de içeren antioksidan sistemlerle (SOD, CAT, glutation peroksidaz GPx,) ve enzimatik olmayan indirgenmiş glutation (GSH), vitamin E, A ve C ile lipid peroksidasyonu engelleyebilmektedir

Bu çalışmamızda, üriner sistem taş hastalarında serum antioksidan enzimlerin seviyelerini (katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve lipid peroksidaz)

tespit ederek kontrol grubu ile karşılaştırılmayı ve kalsiyum oksalat taş hastalığı ile olası ilişkilerinin saptanmasını amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER:

2.1. TAŞ OLUŞUMUNU AÇIKLAYAN TEORİLER

2.1.1. Termodinamik çözünürlük ürünü, satürasyon ve süpersatürasyon:

Taş oluşumunda esas olay süpersatürasyondur. Suyu belli bir pH ve ısıda kristalize olabilmek için sahip bir madde artan miktarlarda katılırsa, kristallerin oluşabileceği bir satürasyon noktasına ulaşılır. Kristaller oluştuğunda, çözeltinin o maddeye doymuş olduğundan bahsedilir. Bir sıvıda solütlerin çözünmüş halde tutulabileceği kritik bir sınır vardır. Bu sınır aşıldığında kristalizasyon başlar. Sistin, ürik asit gibi tek bir maddenin satürasyonu için maddenin miktarını belli bir pH ve ısıda giderek arttırmak yeterli iken eğer kristal iki ya da daha fazla komponentten oluşuyorsa, mesela kalsiyum okzalat gibi satürasyon düzeyini o maddelerin konsantrasyonları çarpımı kontrol eder. Kristalizasyonun başlaması için gerekli doygunluk seviyesinde, termodinamik çözünürlükten (thermodynamic solubility product- K_{sp}) bahsedilir ve bu değer sabittir (7).

Eğer idrardaki kalsiyum ve okzalat konsantrasyonları sudaki termodinamik çözünürlüklerini aşarsa, kalsiyum okzalat kristalleri çökebilir. Bununla birlikte idrarın içerisindeki inhibitörler ve diğer moleküller sayesinde kalsiyum okzalat solüsyon içerisindekinden daha yüksek konsantrasyonda bulunabilir ve bu durumdaki idrara metastabl denir. Kalsiyum okzalat konsantrasyonu daha fazla artarsa, solüsyon olarak kalamayacak bir seviyeye ulaşılmış olur. Bu konsantrasyonda (K_f) kalsiyum okzalat idrarda oluşur. İdrardaki birçok taş komponentinin konsantrasyonu K_{sp} ve K_f arasındaki metastabl aralıktadır. Herhangi bir kristalizasyon işlemi için sıcaklık ve pH her zaman belirlidir (8).

Üriner sistem taşları idrarda kristal olmadıkça oluşmaz. Kristal oluşması için idrarın tuzla süpersatüre olması gerekir. Kristalleri oluşturan kimyasalların idrar eksresyonunun artmasıyla, kristalizasyon riski artar.

Sudaki doygunluk ve çözünürlük ürünlerini hesaplamak kolaydır fakat idrar çok karışık bir solüsyondur. İdrardaki maddelerin konsantrasyonları, sudaki doygunluk noktasına ulaşarsa beklenen kristalizasyon oluşmaz. İdrar saf sudan daha fazla oranda solüsyonda çözünen madde tutabilir (9).

2.1.2. Nükleasyon, kristalin büyümesi ve agregasyon

Normalde idrar kalsiyum okzalat konsantrasyonu su içerisindeki çözünürlüğünden 4 kat daha fazladır (10). İdrar miktarı azaldığında kalsiyum, okzalat, fosfat ya da ürat atılım oranının artması kalsiyum okzalat süpersatürasyonunu artırır. İlk önce kalsiyum okzalat konsantrasyonu kendi Ksp değerini geçer ve kristalizasyon başlar. Bununla beraber inhibitör ve diğer moleküller sebebiyle süpersatürasyon, kalsiyum okzalat çözünürlüğünün 7-11 katı olduğu zaman idrarda çökeltme meydana gelir. Saf solüsyonlarda meydana gelen çekirdek oluşumuna homojen çekirdek (homojen nükleasyon) oluşumu denir. İdrarda ise bu kristal çekirdek yapılar varolan yüzeyler üzerinde oluşur (heterojen nükleasyon). Epitel hücreleri, hücre döküntüleri, diğer kristaller ve kırmızı kan hücreleri heterojen çekirdek gibi davranabilir (11). Epitel hücre yaralanması kristal oluşumu için gerekli konsantrasyonu düşürür. Biyolojik işlemler de çekirdek oluşumu için zemin hazırlayabilirler (12).

Üriner taşların oluşumunu anlamada gerekli bir diğer kavram da birikmedir. Kristal çekirdekler böbrek tübüllerine 5-7 dakika içerisinde yapışabilecek ve lümeni tıkayabilecek kadar büyüymeyecekleri için tübüllerden geçerek böbrek pelvisine ulaşırlar. Fakat çok kısa bir sürede birikerek büyük kümeler de oluşturabilirler (13). Büyüme ve birikmenin birlikte olması taş hastalığı mekanizmasını açıklar.

2.1.3. Serbest partikül nükleasyon ve bağlı partikül çekirdek oluşumu ya da kristal retansiyonu

Kristalizasyonunun standart fiziksel kuralları, statik bir solüsyonda kristal oluşumunu açıklayabilir. İn vivo şartlarda oluşan idrar statik bir solüsyon değildir. Sürekli akar, çözünen eklenebilir ve çıkabilir. İdrar glomerüllerden nefronlar yoluyla toplayıcı sisteme 2-5 dakikada geçer. İdrarın en yüksek konsantrasyon noktası genellikle böbrek papillalarındadır (14). Yapılan çalışmalarda serbest partikül taş oluşumunun matematiksel olarak imkansız olduğu hesaplanmıştır (15). Bu, taş hastalığında kristallerin böbrek epitelyumuna yapışmasına ve partiküllerin birleşmesine ihtiyaç olduğunu göstermektedir. Eğer kristal kitle böbrek papillasına ya da tübülüne yerleşirse, bunu sistemden atabilmek çok uzun sürmez.

Eğer kristal böbrekte kalırsa, bu uzun zaman sürecinde idrarda aşırı doygunluk ya da yeni kristallerin toplanmasıyla büyüme gerçekleşir. Birçok böbrek taşında, doygunluk dönemindeki aralıklı büyümeyi gösteren tabakalı yapı vardır. Medüller

sünger böbrek ya da üreteropelvik darlık gibi anatomik anormallikler, kristal toplanmasında predispozan faktörlerdendir. Tübüler epitelyumun yapışkanlığının artması da kristal toplanmasına sebep olur. Sonuç olarak böbrekteki hücresel kalsiyum yada okzalat transportundaki anormallikler intrasellüler ya da interstisiyel kristal depolanmasına ve taş oluşumuna sebep olabilir (2). Taş hastalarında papiller plakların prevalansının kontrol grubuna göre 2 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. Kalsiyum fosfat ve ürik asit taşı olanlarda %100 papiller plaklar varken, strüvit taşı olanlarda yalnızca %20 oranında plak olduğu görülmüştür (16).

2.1.4. Kristal Oluşumunun Modifikatörleri; İnhibitörler, Kompleks Oluşturucular ve İndükleyiciler

İdrar kristal oluşumunu etkileyen maddelerden oluşur (17). Bunlar inhibitörler, kompleks yapıcılar ve indükleyicilerdir. Çoğu araştırmacı idrarı süpersature olan hastaların, idrarlarında kristalizasyon inhibitörleri taşıması sebebiyle kristalizasyonun izlenmediğini belirtmişlerdir.

Taş oluşma ihtimali olan hastaları normal hastalardan ayıran ve yüksek doğruluk oranına sahip olan satürasyon inhibisyon indeksi adı verilen bir indeks geliştirilmiştir (18). İdrar inhibitörleri kristallerin gelişim noktalarına yapışarak kristalin daha fazla büyümesini ve agresyonu önler. Bu inhibitörler organik ya da inorganik olabilir.

İdrarda kalsiyum okzalat ve kalsiyum fosfat kristal sistemleri için inhibitörler tanımlanırken, ürat için tanımlanmamıştır. Magnezyum, sitrat, pirofosfat ve nefrokalsin kalsiyum fosfat kristal sisteminin inhibitörleridir (19). İdrarda kalsiyum okzalat kristallerinin inhibitörleri sitrat, profosfat, glukozaminoglikanlar, RNA parçaları ve nefrokalsindir. En çok inhibisyonu gerçekleştiren yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerdir (20). İki idrar glikoproteini; nefrokalsin ve Tamm-Horsfall proteini kalsiyum okzalat monohidrat sisteminin ana inhibitörleridir. İkinci protein olan lithostatin böbrekte nefrokalsinle benzer yerde lokalize olur, ancak immunolojik yapısı farklıdır (22). Tamm-Horsfall mukoproteini böbrekte Henle'nin çıkan kolunda ve distal tübülde sentez edilir, kalsiyum okzalat kristal gelişimini inhibe etmez ama agregasyonu engeller. Tamm-Horsfall proteini tanımlanan en güçlü agregasyon inhibitörüdür. Düşük

konsantrasyonlarda Tamm-Horsfall proteini nefrokalsinin eşit molar konsantrasyonundaki etkisine göre 10 kat daha güçlüdür (23).

İdrardaki maddelerin inhibisyon gücü ölçüldüğü zaman protrombin fragment-1'in en güçlü inhibitör olduğu ortaya çıkmıştır. Bu maddenin geni böbrek dokusunda eksprese edilir (24).

Diğer bir idrar kalsiyum okalat sistemi inhibitörü üropotindir (25). Aspartik asit bakımından zengin bu protein, osteopontin ile aynı N-terminal amino zincirine sahiptir. Üropontinin, büyümenin yanı sıra kalsiyum okalat monohidrat sisteminin agregasyonu ve nükleasyonunu da engellediği gösterilmiştir (26). Böbrek taşlarındaki diğer bir protein de alfa-1 antitripsin'dir. Bu protein kalsiyuma bağlanmaz, ancak inflamasyonda önemli rolü vardır. Böbrek taşlarında bu proteinin varlığı, kristallerin oluşum ve gelişim aşamasında kan hücreleriyle kontak halinde olduğunu göstermektedir. Kristal ve kan hücreleri arasındaki reaksiyon, kristal yapışmasına neden olur. (27).

Spesifik kristalleri çevreleyen iyonlar ile çözünebilir kompleks oluşturan kalsiyum okalat gibi bileşikler, iyonun serbest iyon aktivitesini inhibe ederek, o iyon sisteminin saturasyonunu etkili olarak azaltır. Sitrat, kalsiyum için en güçlü kompleksör olup, maksimum etkisini pH 6,5 iken gerçekleştirir. Kalsiyum okalat sisteminde magnezyum okalat ile çözünebilir kompleksler oluşturur. Hem sitrat hem de magnezyum sadece inhibitör olarak değil, kompleksör olarak da etki eder (28).

2.1.5. Matriks

Üriner sistem taşlarının yapısında kristalin ya da mineral fazın yanı sıra nonkristalin ya da organik bir faz da mevcuttur. Böbrek taşları basit kristaller değildir. Tiplerine göre %10 ile %65 arasında kristal olmayan materyal ya da matriks içerir. Kalsiyumlu tüm taşların %2,5' i, ürik asit taşlarının %2' si, struvit ve apatit taşlarının ise %1,1' ini oluşturur. Çalışmalar sonucunda matriksin idrar ve serumdaki birçok mukoprotein türevidir olduğu gösterilmiştir (29). Matriks içeriği taştan taşa değişmekle birlikte, çoğu sert taş yaklaşık olarak %3 ağırlığında matrikse sahiptir (30). Alternatif olarak matriks taşı ağırlık olarak %65 oranında matrikse sahiptir ve genellikle üriner enfeksiyonla ilişkisi vardır (31).

Matriksin %64'ü protein, %9'u nonamino şeker, %5'i glikozamin, %10'u bağlı su ve %12'si de organik kül yapısındadır. Matriks taşının kimyasal analizi %65 oranında heksoamin ve %10 oranında bağlı su içerdiğini göstermiştir. Matriksin polimerizasyonu sonucu matriks taşı oluşur. Matriksin renal tübülden, muhtemelen de proksimal tübülden orijin aldığı düşünülmektedir (32).

2.2. KALSİYUM OKSALAT TAŞI PATOFİZYOLOJİSİ

2.2.1. Hiperkalsiüri

Kalsiyum okzalata taşı olan tüm hastaların %30 ile % 60' ında serum Ca düzeyi artmadan, idrar Ca eksresyonunda artış vardır. Bu duruma idiopatik hiperkalsiüri denilmiştir. Hiperkalsiürinin birçok tanımı vardır. İdrar Ca atılımı, büyük bir oranda diyetle alınan kalsiyuma bağlıdır ve bu da batı ülkelerinde günlük 400 ile 2000 mg arasında değişmektedir. Hiperkalsiüri en somut olarak en az 1 hafta boyunca, günde 100 mEq Na ve 400 mg kalsiyum diyetine uyulması sonucunda, günde 200 mg dan fazla kalsiyumun atılımı olarak tanımlanmaktadır (33). Hiperkalsiürinin 3 tipi vardır.

1. Absorbtif hiperkalsiüride primer problem kalsiyumun artmış intestinal absorpsiyonudur.
2. Renal hiperkalsiüride renal kalsiyum kaçağı vardır.
3. Resorptif hiperkalsiüride ise artmış kemik demineralizasyonu vardır (33).

2.2.1.1. Absorbtif Hiperkalsiüri

Absorbtif hiperkalsiüride olay, artmış intestinal kalsiyum emilimidir. Absorbtif hiperkalsiürinin iyi tanımlanmış 3 alt grubu vardır. Tip 1, Tip 2 ve TİP 3.

Absorbtif hiperkalsiüri tip 1' de hastanın Ca kısıtlı diyetle olsun ya da olmasın intestinal hiperabsorpsiyonu vardır. Absorbtif hiperkalsiürisi olan hastalarda barsaktan magnezyum absorpsiyonu normalken, okzalata absorpsiyonu artmıştır (2). Tip 2'de normal diyetle 300 mg/gün' ün üzerinde olan idrar kalsiyum atılımı kısıtlı kalsiyum diyeti sonucunda 200 mg/gün' ün altına iner. Tip 3' de ise, serum fosfat düzeyi düşüktür ve bunun sonucu olarak, artmış vitamin D üretimi ve artmış Ca absorpsiyonu vardır.

2.2.1.2.Renal Hiperkalsiüri

Renal hiperkalsiüride, böbrekten primer kalsiyum kaçağı söz konusudur. Bunun yarattığı hafif hipokalsemi parathormon salınımını stimüle eder. Artan $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ile barsaktan kalsiyum Emilimi artar. Burada iki mekanizma vurgulanmalıdır. Birincisi, hem absorbtif hem renal hiperkalsiüride barsaktan Ca Emilimi artar. İkincisi absorbtif hiperkalsiüride Parathormon (PTH) baskılanırken, renal hiperkalsiüride PTH artar. Absorbtif hiperkalsiüride açlık idrar Ca düzeyleri normaldir ve bu durum aşırı emilen Ca'u, böbrekten atacak kadar aç kaldıkları anlamını taşır. Renal hiperkalsiüride ise Ca yüksekliği devam etmektedir. Açlıkta yükselmiş idrar Ca düzeyi ve uyarılmış PTH fonksiyonları renal hiperkalsiürinin, absorbtif hiperkalsiüriden ayrımını sağlar.

2.2.1.3.Resorbtif Hiperkalsiüri

Rezorbtif hiperkalsiüride idrardaki artmış kalsiyumun kaynağı kemiktir. Bu sendrom hiperparatiroidizm ile eş anlamlıdır. Parathormon' nun (PTH) direkt etkisiyle ya da PTH bağımlı kalsitriol sentezi sonucunda, fazla PTH salınımına bağlı kemik resorpsiyonunda, artmış intestinal Ca Emilimi kadar hiperkalsiüri görülür. PTH, tübüler Ca resorbsiyonunu arttırmasına rağmen, Ca' un süzölmüş miktarı bu resorbsiyonu aşar ve hiperkalsiüri ortaya çıkar.

2.2.1.4.İdiopatik Hiperkalsiüri

İdiopatik hiperkalsiüri, sağlıklı insanların % 5-10' unda ve kalsiyum nefrolitiazisi olan hastaların da yaklaşık %50 sinde görülür (34). Tüm bu çalışmalar kalsiyum atılımının poligenik kontrol altında olmasına rağmen, idiopatik hiperkalsiüride kalıtsal olarak otozomal dominant geçiş görölebileceğini göstermiştir (35).

2.2.2. Hiperoksalüri

Hiperoksalürinin 3 farklı nedeni vardır.

1. Artmış oksalat üretimi
2. Enterik hiperoksalüri
3. Hafif metabolik hiperoksalüri.

2.2.2.1.Artmış Okzalata Üretimi

2.2.2.1.1. Primer Hiperokzalüri

Primer hiperokzalürinin iki tipi vardır. Primer hiperokzalüri tip 1; nefrokalsinozis, dokularda okzalata birikimi ile karakterize ve tedavi edilmediği takdirde 20 yaşından önce böbrek yetmezliği nedeniyle ölüme sebep olan, otozomal resesif bir metabolizma bozukluğudur (36). Primer okzalüri tip 1' in karaciğerdeki alanin gliokzalata aminotransferaz enzimindeki (AGT) bir bozukluk sebebiyle oluştuğu gösterilmiştir (37).

AGT, normal insan karaciğerinde gliokzalatin glisine transaminasyonunu ya da detoksifikasyonunu katalizler. Primer hiperokzalüride bu enzim eksik olduğu için gliokzalata okzalata okside olur (37).

Primer hiperokzalüri tip 2 ya da L-gliserik asidüri bu hastalığın nadir görülen bir tipidir (36). Karaciğer enzimlerinden D-gliserat dehidrogenaz ya da gliokzalata redüktaz eksikliğinde, idrardaki okzalata ve gliserat atılımı artar. Primer hiperokzalürinin her iki tipi de yüksek seviyede okzalata üretime ve idrarla günlük 1,5-3 mmol okzalata atılımına neden olur (38). Primer hiperokzalüri bazı hastalarda okzalata üretimini azaltan piridoksin (200-400 mg/gün) ile tedavi edilmektedir. Primer hiperokzalürisi olan bazı hastalarda piridoksin, gliokzalatin glisine dönüşümünde kofaktör olarak rol oynar ve idrardan okzalata atılımını azaltır.

2.2.2.1.2. Artmış Hepatik Dönüşüm

Üç durumda okzalatin aşırı üretimi izlenir; piridoksin yetmezliği, etilen glikol sindirimi, metoksifloran anestezisi. Etilen glikol, glikolaldehite ve glikolik asite çevrilir.

2.2.2.2.Enterik Hiperokzalüri

Okzalata mideden ve kolondan emilir (39). İnce barsak rezeksiyonu (40), intrensek hastalıklar ya da ileojejunal bypass (41) gibi malabsorpsiyona yol açabilecek herhangi bir sebep, kolonik epitelin artmış safra tuzuna maruz kalması nedeniyle, okzalatin kolonik permeabilitesini artırır.

2.2.2.3.Hafif Metabolik Hiperokzalüri

Birçok çalışma, idiopatik kalsiyum okzalit taşlarının patogeneğinde, hafif hiperoksalürinin en az hiperkalsiüri kadar önemli bir faktör olduğunu ortaya koymuştur. Kalsiyum taşı olan hastaların % 30-50' sinde üriner okzalit atılımı artmıştır (39).

Hiperokzalüri, normalden % 90 daha fazla okzalit atılımı olarak tarif edilmiş ve üriner sistem taş hastalığı olanların % 37' sinde bu durum izlenmiştir (42).

2.3. OKSİDATİF STRES VE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ

Hücrede oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin moleküler oksijenin redüklenmesi sonucu oluştuğu uzun yıllardan beri bilinmektedir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri ve diğer radikallerin antioksidan mekanizmalarla arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkar. Oksidatif stres, oksidant üretiminin artması veya antioksidantların azalmasıyla meydana gelir.

Bu moleküller esas olarak iki gruba ayrılır:

1. Reaktif Oksijen Türleri (ROT): Bunlar içerisine süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dahildir.

2. Reaktif Azot Türleri (RNT): Esas olarak nitrik oksit (NO) türleri.

Oksijene bir elektronun aktarılmasıyla süperoksit, iki elektron aktarılmasıyla hidrojen peroksit, üç elektronun aktarılmasıyla hidroksil grupları oluşur (43). Diğer radikallerden olan lipid radikalleri, karbon merkezli radikaller, hidroksil radikalleri ve hipoklorid radikalleri ise süperoksit ve hidrojen peroksitten türetilir. Oksidantların diğer bir ifadeyle serbest radikallerin temel kaynağı mitokondridir. Mitokondri membranında yer alan solunum zinciri mekanizması (elektron transport sistemi) elektron ve protonları (H^+) kofaktör yardımıyla çıkarır. Kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) kullanılır. Elektron akış zincirinde son elektron alıcısı O_2 'dir ve O_2 'in protonla etkileşimi sonrasında H_2O oluşur. Moleküler O_2 bir kerede dört elektron kabul eder ve iki molekül H_2O oluşturur. Mitokondrinin bu işlemleri sırasında ara ürün olarak farklı oksijen radikalleri oluşturulur. Bu serbest radikaller; süperoksit (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve peroksit ($O_2^=$) (normal olarak hücrelerde H_2O_2 olarak bulunur)

radikalidir. Bu üç radikale aynı zamanda reaktif oksijen türleri (ROT) de denir. Yörüngelerindeki eşleşmemiş elektron nedeniyle stabil değildirler, kendilerini stabil hale getirmek istediklerinden çok reaktiftirler. ROT'ların çoğu hücreye zarar vermeden önce H_2O 'ya çevrilirler (44). O_2^- ; süperoksit dismutaz tarafından H_2O_2 'ye çevrilir. Bunun yanında O_2^- , NO ile reaksiyon verir ve sitotoksik $ONOO^-$ anyonu (peroksinitrit) oluşur. $ONOO^-$ anyonu CO_2 ile reaksiyon verir ve lipid oksidasyonu yoluyla proteinlerde hasara yol açar (45). ROT ve RNT'ler hücre yaşamında önemli sinyal mekanizmalarını etkiler. Önemli ROT ve RNT'ler tablo 1'de özetlenmiştir.

Antioksidant sistemler ise hücreyi oksidantlara karşı korur. Antioksidantlardaki eksiklik oksidatif strese neden olur. Süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz önemli antioksidan enzimlerdir.

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	$OH^\bullet$	Peroksinitrit	$ONOO^-$
Süperoksit	$O_2^{\bullet-}$	Hipoklorus Asid	$HOCl$
Nitrik Oksit	$NO^\bullet$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Thil	$RS^\bullet$	Singlet Oksijen	$^1\Delta_g (-^1O_2)$
Peroksil	$RO_2^\bullet$	Ozon	O_3
Lipit peroksil	$LOO^\bullet$	Lipit peroksit	$LOOH$

Tablo 1. Oksidatif strese yol açan radikal ve radikal olmayan moleküller

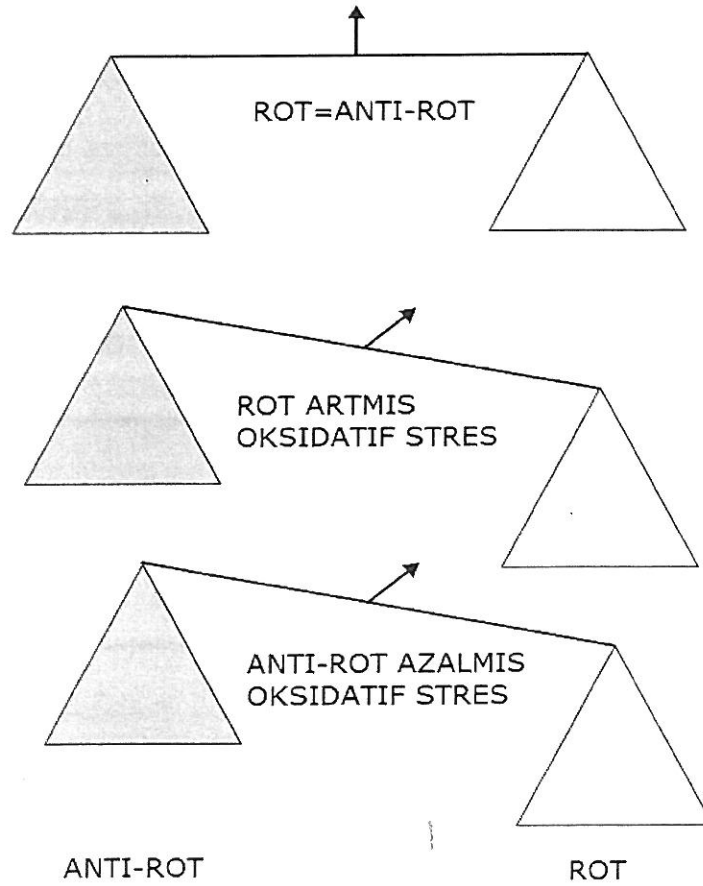
Nitröz oksit	$NO^\bullet$	Nitrosil iyonu	NO^+
Peroksinitrit	$OONO^-$	Nitrojen dioksit	$NO_2^\bullet$
Peroksinitröz asidi	$ONOOH$	Dinitrojen trioksit	N_2O_3
Nitroksil anyonu	NO^-	Nitröz asidi	HNO_2
Nitril klorid	NO_2Cl		

Tablo 2. Reaktif nitrojen türleri.

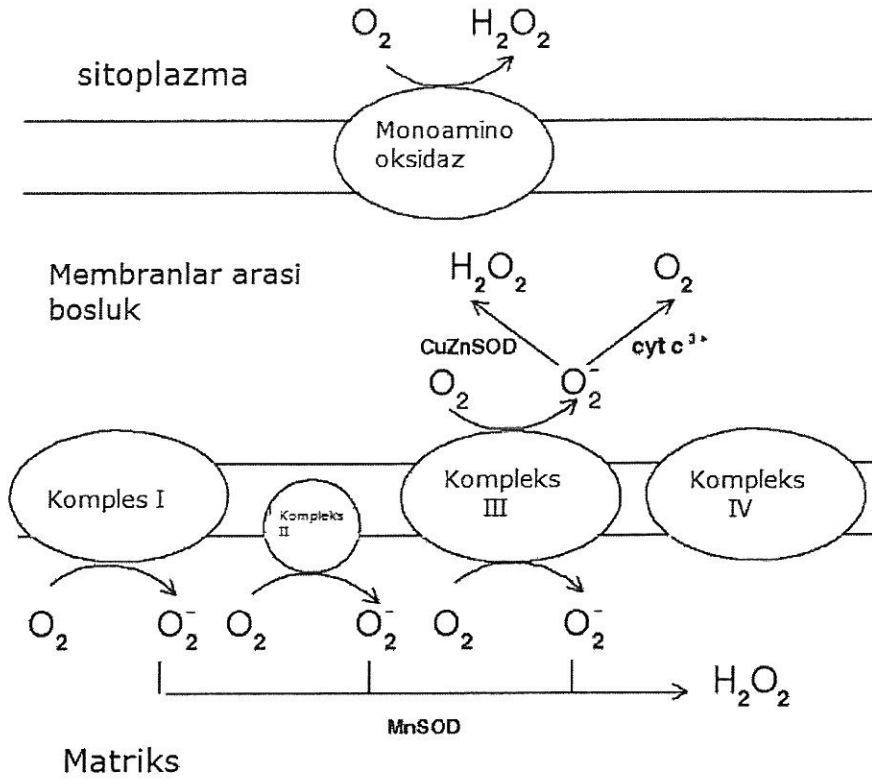
2.3.1. OKSİDATİF STRES MEKANİZMALARI

2.3.1.1.MİTOKONDRIYAL SOLUNUM

Mitokondri oksidatif fosforilasyonla ATP sentezinin gerçekleştiği organeldir. Mitokondri iki membrana sahiptir ve iç membranda bulunan kompleksler sayesinde elektron transferi gerçekleşir. Mitokondri oksidatif strese O_2^- üreterek katkı yapar ve antioksidant ve oksidant arasındaki dengesizliğin oksidantlar lehine olmasını sağlayan temel ROT kaynaklarından biridir (Şekil 1). Mitokondride solunum sistemine gelen oksijenlerin % 1-2'si O_2^- 'e çevrilir. Mitokondriyal kaynaklı hücre içi ROT miktarı Mn-SOD aktivitesine bağlıdır. Mn-SOD enzimi mitokondri matriksinde O_2^- 'i H_2O_2 'e çevirir. Solunum zinciri tarafından oluşturulan O_2^- 'nin oranı kütle aksiyonlarıyla kontrol edilir. Eğer oksijen miktarı artarsa ve elektron verici konsantrasyonu artarsa O_2^- artar (Şekil 3). Mitokondriyal O_2^- oluşumu hücre bölünmesinin durmasına, apoptoza ve nekroza sebep olur (46,47).



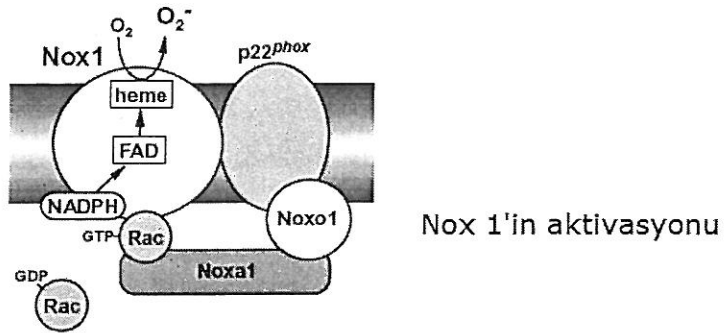
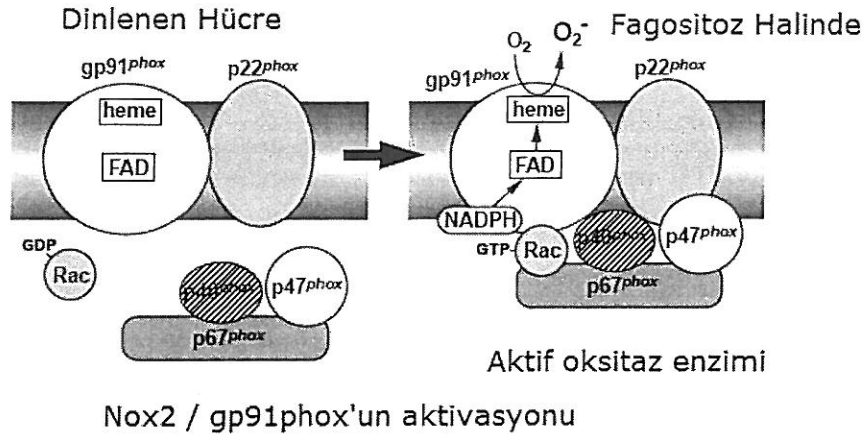
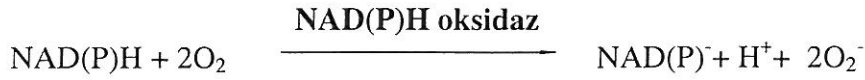
Şekil 1. ROT miktarı her iki durumda da antioksidantlardan fazla ve ROT'un fazla olması oksidatif strese sebep olmaktadır



Şekil 2. Mitokondri membranları elektron solunum zincirinin gerçekleştiği yerlerdir ve burada oluşan matriks ve hücre arasındaki O_2^- anyonu Mn-SOD ve Cu,Zn-SOD tarafından H_2O_2 ve O_2 'e çevrilir .

2.3.1.2.NAD(P)H OKSİDAZ

Süperoksit radikalının üretimi fagositik hücrelerin plazma membranında bulunan protein kompleksi tarafından moleküler oksijenin enzimatik olarak indirgenmesi sonucu oluşur. Bu enzim kompleksine NAD(P)H oksidaz adı verilmektedir. NADP(H) oksidaz kompleksinin primer ürünü elektronların intraselüler NADPH' dan sağlandığı süpersit iyonudur. Bu enzim NADPH'dan elektronları alır ve oksijene aktarır ve O_2^- oluşur (48). Bu enzim makrofaj (monosit), nötrofilde bulunur ve mikroorganizmaların yayılmasını engeller. Bu enzimin aktif oksidaz kompleksi en az beş proteinden oluşur. Membrana bağlı sitokrom b558 ; p22phox ve gp91phox olmak üzere iki alt üniteden oluşur. Sitozolik alt birimler p47phox, p67phox ve küçük GTP bağlama proteini, Rac 1 veya Rac 2, Fagositik NADPH oksidazın aktivesi için p47phox bölgesinin fosforile olması gerekir ve böylece sitokrom b558 ile birleşebilir. Rac da aktivasyonda önemlidir (49).



Şekil 3. Nox1 sürekli kolonda eksprese edilir ve infeksiyonlara karşı koruma görevi var. Nox 1 p22phox ile kompleks oluşturur. Nox 1 yalnız olunca süperoksit üretimi oluşmaz. Rac, GDP bağlı iken inaktif halde bulunur. GDP-GTP değiş dokuşu gerçekleşirse Rac aktif hale geçer. Nox II' de p22phox ile kompleks oluşturur. Şekilde p67phox 'e bağlı olan iki proteine ilave olarak gelen Rac ile aktivasyonun gerçekleşmesi şematize edilmiştir.

2.3.1.3.KSANTİN OKSİDAZ

Bir flavoprotein olan ksantin oksidaz molibden, sülfür ve demirden oluşur (46). İki formu bulunur; ksantin oksidaz ve ksantin dehidrojenaz. Ksantin dehidrojenaz elektronları NAD^+ ' a aktarır ve NADH oluşur. Oksidaz formu ise O_2^- oluşturur. Ksantin oksidaz' dan da ROT sentezlenir. Normal fizyolojik koşullar altında, ksantin oksidaz dehidrojenaz olarak davranır ve ksantinden veya hipoksantinden hidrojen alarak NAD^+

ye bağlar ve NADH sentezlenmesini sağlar (50). Buna rağmen bazı koşullarda, örneğin kan akışının bozulduğu gibi durumlarda ksantin dehidrojenaz ROT üreten oksidaz formuna çevrilir. Düşük oksijen konsantrasyonu, LPS ve IFN- γ ksantin oksidaz ekspresyonunun artmasına neden olur (44).

2.3.1.4.MİYELOPEROKSİDAZ

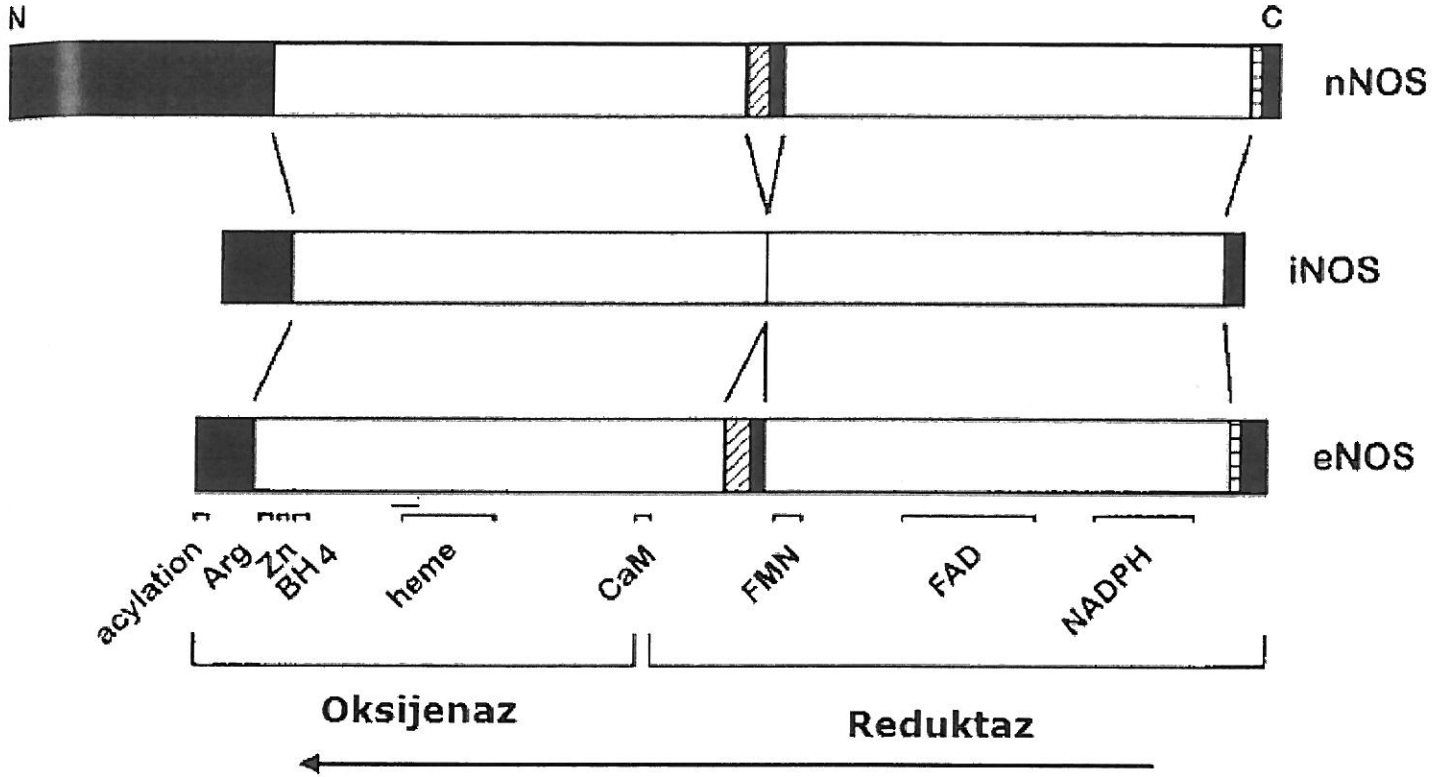
Miyeloperoksidaz (MPO) nötrofillerin granüllerinde ve monositlerin lizozomunda bulunan bir enzimdir. Yapısında demir içerir. MPO, nötrofil tarafından üretilen H_2O_2 ' i kullanır ve hipoklorik asit (HOCl) ve diğer oksidantları üretir (48,51). HOCl' nin proteinleri okside etme gücü H_2O_2 'den çok daha fazladır. HOCl ise aminlerle reaksiyona girer ve kloramin oluşturur. Kloramin de aldehide dönüşür. Bunun yanında kloramin nitrojen merkezli radikal verir ve bu da LDL'nin apolipoproteininin oksidasyonuna sebep olur. HOCl, NO^* bioaktivitesini azaltarak vasküle bozukluğun oluşmasına neden olur. Miyeloperoksidaz sistemi önemli bir bakterisidaldir. Ayrıca nitrit ve tirozin de bu enzim için substrattır. Tirozini kullanması sonucu tirozil radikali, nitriti kullanması sonucu nitrojen dioksit oluşur. Tirozil radikali lipid peroksidasyonunda önemlidir (51).



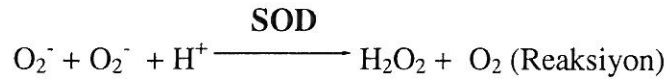
2.3.1.5.NİTRİK OKSİT SENTAZ

NO hücrenin en önemli sinyal moleküllerinden biridir. Gaz formunda küçük bir moleküldür. NO gerçekte bir serbest radikaldir. Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından L-arjininden sentez edilir (46). Bu reaksiyonda önce argininin guanidin grubu okside olur ve hidroksiarginin oluşur. Ardından L-sitrülin ve NO oluşur. NOS bir isoform ailesidir. Üç izoformu bulunur. nNOS nöral dokuda, eNOS endotelde, kalp kası hücrelerinde ve plateletlerde, iNOS ise makrofajlarda sentezlenir. NOS' un her üç formu da sitokrom p450 redüktaz enzimi ile yakın homoloji gösterir. NO sentezi için kofaktör gereklidir. NOS' un yapısında NADPH bağlayan bölge, flavin anenin dinükleotid (FAD) ve flavin mononükleotid (FMN) bağlayan bölgeler mevcuttur. NOS enzimi ayrıca kalmudilin ve **Hem** için bağlanma yerine sahiptir.

NOS'tan oluşan NO; metal kompleksiyle, moleküler oksijenle (otooksidasyon), O_2^- ile reaksiyona girer ve RNT oluşur. (46). NO oksijen varlığında kararlı değildir. NO, O_2^- ile reaksiyon verir ve $ONOO^-$ (peroksinitrit) oluşur. NO ayrıca oksihemoglobini okside eder ve methohemoglobini oluşturur (52).



SOD iki O_2^- 'i okside eder ve H_2O_2 oluşur.



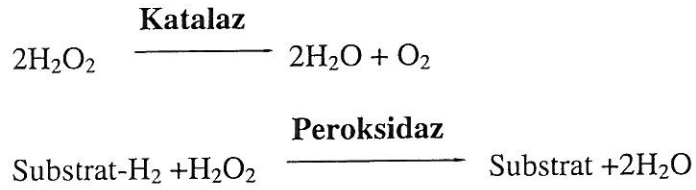
Memelilerde SOD'un birkaç izoformu bulunur. Bunlardan en önemlileri hücrelerin sitozolünde bulunan ve bakır/çinko içeren Cu,Zn-SOD formu ve mitokondrilerde bulunan manganez içeren Mn-SOD formudur.

Cu,Zn-SOD 32.5 kDa ağırlığında bir enzimdir ve aktif bölgesinde bakır ve çinko içerir. Zn, Cu,Zn-SOD stabilitesi için gerekliyken Cu enzimin aktivitesi için gereklidir (50). Bu izoformun çoğu sitozolde lokalize olur. Dismutasyon reaksiyonlarında bakır iyonu indirgenir ve yükseltgenir. Düşük oksijen konsantrasyonu Cu,Zn-SOD mRNA'sının ekspresyonunu azaltır (50).

Mn-SOD 88 kDa ağırlığında bir enzimdir ve mitokondride lokalize olur (46,53,54). Mangan iki O_2^- arasında elektron transferini yapar (54). Bu enzim sürekli eksprese edilir ve genler tarafından kodlanır. Bu enzimde meydana gelebilecek mutasyonlar birçok hastalıkta rol oynar. Dokuzuncu pozisyonundaki alaninin valine dönüşmesi yapısını değiştirir. Bu değişiklik Parkinson hastalığında, insan nörodejeneratif hastalığında ve yaşlanmada önemlidir (53). TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ , LPS MnSOD ekspresyonunu artırır (50).

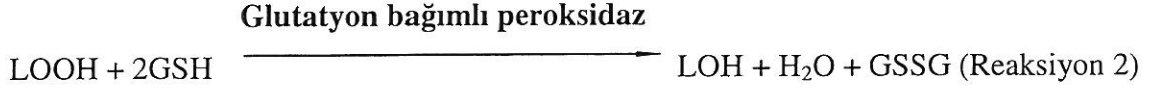
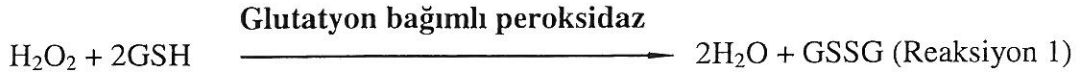
2.3.2.1.2. KATALAZ VE PEROKSİDAZ

Katalaz peroksizomlarda lokalize olan 240 kDa ağırlığında ve hem içeren bir enzimdir. Katalaz , H_2O_2 'i su ve oksijene çevirir. Katalazın bu aktivitesine katalitik aktivite denir. Peroksidaz ise H_2O_2 'i elimine eden diğer bir enzimdir. (46).

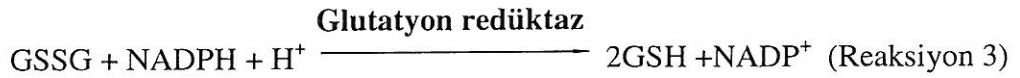


2.3.2.1.3. GLUTATYON BAĞIMLI PEROKSİDAZ

Glutasyon peroksidaz tetramerik protein ve selenyum içeren antioksidan bir enzimdir. Katalazla beraber H_2O_2 'i ortamdan uzaklaştırır. Glutasyon peroksidaz indirgenmiş glutasyonu (GSH) kullanarak H_2O_2 'yi H_2O 'ya ve yükseltgenmiş glutatona (GSSG) çevirir (Reaksiyon 1). Glutasyon bağımlı peroksidaz LOOH'ı kataliz eder (Reaksiyon 2). Glutasyon bağımlı peroksidaz. Selenyum içeren peroksidazlar en az dört çeşit enzim ailesinden oluşur.



Glutasyon peroksidaza glutasyon redüktazın bir ölçüde katkısı vardır. Glutasyon redüktaz GSSG'yi GSH'a çevirir (Reaksiyon 3). NADPH ise pentoz fosfat yolundan gelir ve glukoz -6 fosfat dehidrojenaz bu yolu başlatıcı enzimdir ve hücreSEL NADPH/NADP⁺ oranına bağlı olarak glukoz 6- fosfat dehidrojenaz aktiflenir veya inaktif hale gelir. Glukoz -6 fosfat dehidrojenazın endotel hücrelerde miktarının artması oksidatif stresi azaltır ve bu enzim antioksidant olarak kabul edilir (46).



GSH'ın glutasyon bağımlı peroksidazdaki aktivitesine ilave olarak bir kaç antioksidant yolla da ilişki bulunmaktadır. GSH direkt olarak oksidantlara etki edebilir. Glutasyon S-transferaz da ilaçların detoksifikasyonunda görev alır.

2.3.3. TAŞ HASTALIĞI VE OKSİDATİF STRES İLİŞKİSİ

Radikal oksijen türlerinin meydana getirdiği fizyolojik ve patolojik problemler ile ilgili günümüzde klinik anlamda önemli olabilecek birçok veri bulunmaktadır. Birçok hastalık için oksidatif stres primer veya sekonder sorumlu etmen olarak gösterilmektedir. Yaşlılık ile artan radikal oksijen türlerinin patolojik sorunlara yol açtığı, hücre metabolizmasını negatif yönde etkilediği ve fizyolojik problemlere yol açtığı bilinmektedir (55,56,57).

Özellikle kalsiyum oksalat (CaOx) birikimine ilişkin taş hastalığı, artan oksidatif stres ile korelasyon göstermektedir. İnsan, hayvan, doku kültürü ve in vitro

ortamda yapılan çalışmalarda taş hastalığında oksidatif stresin arttığı ve oksalatın oksidatif stresi indüklediği saptanmıştır (3,4). Antioksidanların taş hastalığı riskini azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (3).

Oksidatif stres, tübül epitelyum hücrelerine zarar vererek kalsiyum oksalat kristallerinin hasar gören epitel hücreleri üzerinde birikmesini sağlayan bir nidus oluşumun yol açmaktadır. Yüksek konsantrasyondaki oksalat ve kalsiyum oksalat kristalleri böbrek epitelyum hücrelerinde inflamatuvar mediatörlerin sentezlenmesini ve/veya salınımını artırmaktadır (58,59). Oksidatif stres hücrelere hasar vermektedir. Ürotelyumun hasarı de novo kristalizasyona ve kristal birikimine yol açmaktadır. Bu hücrelerde hem apoptotik hasar hem de nekrotik hasar oluşabilmektedir (60,61). Kristaller tübüler hasarın olduğu bölgede birikmektedir (62,63). Hasar gören hücrelerin yıkım ürünleri, olan membranlar ve lipidler CaOx kristallerinin nükleasyonuna neden olur (64). Epitelyumdaki hasar CaOx kristallerinin yapışmasını sağlar (65,66).

Radikal oksijen türevleri hücre parçalanmasını etkilemekte ve oksalat kristallerinin biyolojik oluşumuna yol açmaktadır. Lipid peroksidasyon; hücrenin oksidatif stres nedeniyle hasara uğradığını gösteren bir biyolojik belirteç olup, membran üzerindeki yapısal değişikliği indüklemektedir. Ayrıca dejenerasyon görülen membran üzerinde, daha fazla radikal türevlerinin oluşumu da uyarılmaktadır. Birçok hastalık için membran üzerindeki fosfolipid uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu patolojik bir etmen olarak gösterilmektedir.

2.3.4. ANTİOKSİDANLAR VE TAŞ HASTALIĞI

Yapılan deneysel çalışmalarda, antioksidanların biyolojik kalsiyum oksalat oluşumu hızını azalttıkları, hücre membranlarını stabilize ederek, hücre parçalanmasını durdurdıkları, yaşlılık oluşumunu yavaşlattıkları görülmüştür (6). Bu antioksidanlar içerisinde besinlerle birlikte alınan askorbik asit, tiol grupları ve vitamin E (tokoferol) gibi antioksidanlar bulunduğu gibi savunma sistemimizde önemli rol oynayan antioksidan enzimler: Süperoksit dismutazlar (SOD), peroksidazlar (POD) ve katalaz (CAT) bulunmaktadır (67). Hücreler değişik enzimleri de içeren antioksidan sistemlerle (SOD, CAT, glutation peroksidaz GPx) ve enzimatik olmayan indirgenmiş glutation (GSH), vitamin E, A ve C ile lipid peroksidasyonu engelleyebilmektedir. Ancak eşik

düzey aşıldığı zaman hücrel savunma sistemi yetersiz kalmakta ve hücrel zararlanma meydana gelmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

Mart 2006-Kasım 2006 tarihleri arasında polikliniğimize başvurarak üriner sistem taş hastalığı tanısı konulan 85 hasta değerlendirmeye alındı.

Çalışma dışında bırakılma kriterleri:

- Taş analizinde kalsiyum oksalat dışı taş saptanan hastalar.
- Herhangi bir organ ya da hemotolojik malignitesi olanlar.
- Hipertansiyon, konjestif kalp yetmezliği ve diabetes mellitus gibi kronik hastalıkları olanlar.
- Son 3 ay içinde ESWL yapılmış olanlar.
- Dokumante edilmiş üriner sistem enfeksiyonu olanlar.
- Antioksidan ilaç kullananlar.

Çalışma dışında bırakılma kriterlerine uyan 34 hastanın çalışma dışı bırakılması ile toplam 51 hastadan elde edilen örnekler değerlendirildi.

3.2. Kontrol Grubu

Üriner taş hastalığı öyküsü olmayan, fizik muayene, tam idrar tahlili ve direkt üriner sistem grafisinde her hangi bir patoloji saptanmayan, 37 sağlıklı birey kontrol grubuna alındı.

3.3. Klinik değerlendirme

Değerlendirmeye alınan 85 hastanın tümü anamnez, aile öyküsü, daha önce üriner sistem taş hastalığı geçirip geçirmediği, fizik muayene, tam idrar tahlili (TİT), idrar kültürü ve antibiogram, direkt üriner sistem grafisi (DÜSG), üriner sistem ultrasonografisi (USG) ile değerlendirildi. Gerek görülen hastalara intravenöz piyelografi (İVP) ve kontrastsız abdominopelvik spiral bilgisayarlı tomografi yapıldı.

Üreteroskopik üreter taşı tedavisi, açık cerrahi, ve perkütan nefrolitotomi ile alınan taşlar, taş analizine gönderildi.

Taş analizleri, X ışını toz difraksiyonu cihazı ile (XRD aleti) X ışını difraksiyon yöntemi kullanılarak yapıldı.

Çalışmaya alınan hastaların ve kontrol grubundaki bireylerin boy ve kiloları ölçülerek vücut kitle indeksi (VKİ) hesaplandı. VKİ hesaplanırken hastanın ağırlığı (kilogram)/ boyunun (metre) karesi formülü kullanıldı.

Bu formüle göre VKİ' si 20-24.9 kg/m² olarak saptananlar normal, 25-29.9 olarak saptananlar kilolu, 30 kg/m² ve üzeri saptananlar ise obez olarak kabul edildi. (68).

Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin sigara ve alkol alışkanlıkları sorgulandı. (Tablo 3)

3.4. Örneklerin toplanması

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundaki bireylerin ön kol brakial venlerinden EDTA lı tüplere alınan 2,5 cc periferik kan örnekleri en kısa zamanda laboratuvar ortamına taşındı. Örnekler 1500 rate per minute (rpm) de 5 dakika santrifuj edilerek serumları ayrıldı. Örnekler -20 santigrat derecede muhafaza edildi.

3.5. Periferik Kanda Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Saptanması

Kan örnekleri oda sıcaklığında 1500 rpm' de 2 dakika santrifuj edildi ve plazma ayrılarak temiz bir tüpe aktarıldı. 200 µl' lik plazma örneklerindeki enzim aktiviteleri spektrofotometrik olarak analiz edildi (Shimadzu, Japan). Glutatyon peroksidaz (Gsh-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri spesifik kit (Ransel ve Ransod, RANDOX, İngiltere) kullanılarak üretici firmanın direktifleri doğrultusunda analiz edildi. Katalaz aktivitesi (CAT); hemolizat içerisinde 25 santigrat derecede analiz edildi. H₂O₂ substratı ile ilgili reaksiyon 240 nm' de 30 sn' de spektrofotometrik olarak monitörize edildi. Aktivite MU/L olarak ölçüldü. 1 U; dakikada sentez edilen 1 µmol H₂O₂' ye eşitti. Lipid peroksidasyon; eritrosit lizati içindeki tiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ın ölçülmesi ile analiz edildi. MDA; tiobarbitürik asitle reaksiyona girdikten sonra reaksiyon ürünü malondialdehiti

standart olarak kullanmak suretiyle 532 nm' de spektrofotometrik olarak izlendi. Sonuçlar nmol/ml olarak kaydedildi.

	Kalsiyum oksalat taşı saptanan hasta grubu	Kontrol grubu
Erkek	33 (%64.7)	20 (%54.1)
Kadın	18 (%35.3)	17 (%45.9)
Ortalama yaş	49.31 (31-68)	44.08 (30-59)
Sigara kullananlar	25 (%49)	20 (%54.1)
Alkol kullananlar	10 (%19.6)	10 (%27,02)
Ailesinde taş hastalığı olanlar	31 (%60.8)	8 (%21.6)

Tablo 3: Hasta ve kontrol grubu profili

3.6. İstatistiksel inceleme

İstatistiksel incelemelerde Windows XP SPSS v. 11.0 programı kullanıldı. Hasta ve kontrol gruplarının antioksidan enzim seviyelerinin karşılaştırılmasında T test ve ki-kare, ilk kez taş saptanan ve nüks taşı saptanan hastaların serum antioksidan enzim düzeylerinin karşılaştırılmasında Anova yöntemi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 51 hastanın ortalama yaşı: 49.31 (31-68), medyan 50 olup hastaların 33'ü (%64.7) erkek, 18'i (%35.3) kadındı. Kontrol grubunun ortalama yaşı: 44.08 (30-59) medyan 44 idi ve 20'si (%54.1) erkek, 17'si (%45.9) kadın idi.

Ailesinde taş hastalığı hikayesi olan 31 (%60.8) hasta mevcuttu. Kontrol grubunda bulunan 37 hastanın 8' inin (%21.6) ailesinde taş hastalığı hikayesi mevcuttu.

Hastaların 26' sı (%51) hiç sigara içmezken 25'i (%49) sigara kullanıyordu. Kontrol grubundaki bireylerin ise 20'si (%54.1) sigara kullanıyordu.

Hasta grubunda alkol kullananların sayısı 10 (%19.6) iken, 41'i (%80.14) alkol kullanmıyordu. Kontrol grubundaki bireylerin ise 10'u (%27,02) alkol kullanıyordu.

Hasta grubunda VKİ' si 20' nin altında olan (zayıf) 1 hasta (%2) , VKİ' si 20-24.9 arasında olan (normal) 19 (%37.3), VKİ' si 25-29.9 arasında olan (kilolu) 25 (%49), VKİ' si 30 ve üzerinde olan (obez) 6 (%11.8) hasta mevcuttu.

Kontrol grubunda Kİ' si 20' nin altında olan (zayıf) 5 birey (%13.5) , VKİ' si 20-24.9 arasında olan (normal) 25 (%67.6), VKİ' si 25-29.9 arasında olan (kilolu) 7 birey (%18.9) varken VKİ' si 30 ve üzerinde olan (obez) birey yoktu.

51 hastanın 39' unun anamnezinde (%76.5) daha önceden geçirilmiş üriner sistem taş hastalığı yok iken, 12' sinde (%23.5) rekürren taş hastalığı öyküsü mevcuttu.

Hasta grubunda saptanan üriner sistem taşlarının 30' u (%58.8) böbrekte, 18'i (%35.4) üreterde, 3' ü (%5.8) her 2 böbrekte idi.

Üriner sistem taş hastalığı saptanan grupta ortalama taş en uzun çapı 2.68 santimetre (0.5-6.5 cm) idi.

4.1. Enzim düzeyleri

Üriner taş hastalığı grubu 50 yaş altı ve 50 yaş üstü olarak ayrıldığında 23 hasta 50 yaşın altında iken 28 hasta 50 yaşın üstünde olarak saptandı. 50 yaş altında ortalama plazma SOD seviyesi 2.82 U/ml iken 50 yaş üstündeki grupta 2.03 U/ml idi. Taş

hastalığı ve kontrol grubundaki bireyler plazma SOD enzim düzeyleri açısından karşılaştırıldığında yaşlı ve genç grupta istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.05$, T test). 50 yaş altında ortalama katalaz düzeyi $8.20 \text{ mmolH}_2\text{O}_2/\text{mg/sn}$ iken 50 yaş üstü hastalarda 7.17 saptandı ($p<0.05$) (T test). 50 yaş altında GPx düzeyi 7.20 U/ml olarak saptanırken 50 yaş üstü hastalarda bu değer 6.31 U/ml olarak saptanmıştır ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0.05$, T test). Ancak lipid peroksidaz enzim düzeylerine bakıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). 50 yaş altı hastalarda 2.52 nmol/ml olarak saptanan lipid peroksidaz 50 yaş üstü hastalarda 2.48 nmol/ml olarak ölçülmüştür. Kontrol grubunda ise 50 yaş üstü 14 birey varken 50 yaş altında 23 birey mevcuttu. Kontrol grubunda da yaşla birlikte antioksidan enzimlerin azaldığı saptanmıştır. Ancak hasta grubu ile kontrol grubunu karşılaştırdığımızda hasta grubunda yaş ile azalan enzim miktarları kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha düşük olarak saptandı ($p<0.01$, ki kare).

Üriner sistem taş hastalığı saptanan 51 hastada plazma ortalama katalaz düzeyi $7.54 \text{ (mmolH}_2\text{O}_2/\text{mg/sn})$ ($6.23-8.90$), plazma ortalama glutatyon peroksidaz düzeyi 6.70 U/ml ($5.43-8.62$), plazma ortalama süperoksit dismutaz düzeyi 1.56 U/ml ($1.21-2.12$) ve plazma ortalama lipid peroksidaz düzeyi 2.35 nmol/ml ($2.01-2.90$) olarak saptandı.

Kontrol grubundaki 37 bireyde ise plazma ortalama katalaz düzeyi $6.16 \text{ mmolH}_2\text{O}_2/\text{mg/sn}$ ($5.56-7.01$), plazma ortalama glutatyon peroksidaz düzeyi 8.19 (U/ml.) ($7.89-8.62$), plazma ortalama süperoksit dismutaz düzeyi 3.86 U/ml ($3.10-4.23$) ve plazma ortalama lipid peroksidaz düzeyi 3.31 nmol/ml ($2.99-3.78$) olarak saptandı. (Tablo 4).

Üriner taş hastaları ve kontrol grubu, serum antioksidan düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, taş hastalığı olan hastalardaki glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve lipid peroksidaz düzeyleri kontrol grubuna göre düşük saptanırken, katalaz düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olarak saptanmıştır.

İstatistiksel olarak T-test kullanılarak yapılan incelemelerde kontrol grubuna göre üriner taş hastalığı saptanan hastalarda glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz

ve lipid peroksidaz enzimlerinde istatistiki olarak anlamlı fark mevcuttu. Sırasıyla (p:0.022, p:0.047, p:0,034). (Tablo 5).

T-testine göre yapılan istatistiksel incelemede, kontrol grubuna göre üriner taş hastalığı saptanan hastalarda, katalaz enzim düzeyinde saptanan fark ise istatistiki olarak anlamlı değildi. (p:0.062)

Üriner taş hastalığı saptanan grupta, ilk kez taş hastalığı saptanan 39 hastada plazma ortalama katalaz düzeyi 8.39 milimolH₂O₂/mg/sn, plazma ortalama glutatyon peroksidaz düzeyi 7.29 U/ml, plazma ortalama süperoksit dismutaz düzeyi 1.99 U/ml ve plazma ortalama lipid peroksidaz düzeyi 2.18 nmol/ml olarak saptandı.

Üriner sistem taş hastalığı saptanan grupta olup nüks taş hastalığı saptanan 12 hastada plazma ortalama katalaz düzeyi 8.32 milimolH₂O₂/mg/sn, plazma ortalama glutatyon peroksidaz düzeyi 7.31 U/ml, plazma ortalama süperoksit dismutaz düzeyi 1.91 U/ml ve plazma ortalama lipid peroksidaz düzeyi 2.34 nmol/ml olarak saptandı.

Anova yöntemi ile yapılan istatistiki incelemeye göre üriner sistem taş hastalığı saptanan grupta ilk kez taş saptanan hastalar ile nüks taşı olan hastalarda serum ortalama antioksidan enzim düzeyleri arasında istatistiki olarak anlamlı fark yoktu.

T-test yöntemi ile yapılan istatistikî incelemede, üriner sistem taş hastalığı ve kontrol grubunda tüm enzimler için sigara içenlerde, içmeyenlere göre antioksidan enzim düzeylerindeki azalma istatistiki olarak anlamlı olarak saptandı (p:0.047, Ki-kare: 0.35).

Mann Whitney U yöntemi ile yapılan istatistiki incelemede üriner taş hastalığı olan gruptaki kadınlarda kontrol grubundaki kadınlara göre tüm antioksidan enzim düzeyleri istatistiki olarak anlamlı derecede düşüktü. Katalaz 7.98 milimolH₂O₂ /mg/sn, glutatyon peroksidaz 7.31 U/ml, süperoksit dismutaz 2.32 ve lipid peroksidaz 2.48 nanomol/ml.

Taş hastası olan erkeklerdeki antioksidan enzim düzeyleri, kontrol grubundaki erkek bireylere oranla katalaz dışındaki tüm enzimlerde istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalmaktaydı (hepsi için p<0.05). Hem kadın hem de erkek cinsiyette, taş hastalarında saptanan antioksidan enzim düzeyleri kontrol grubunda saptanan antioksidan düzeylerine göre anlamlı miktarda azalmış olarak saptandı (ki-kare: 0.32).

Ancak katalaz düzeyleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p:0.064).

Üriner taş hastalığı olan grupta, ailesinde taş hastalığı hikayesi olanlar ile olmayanların enzim düzeyleri karşılaştırıldığında ailesinde taş hastalığı olanlarda ortalama katalaz düzeyi 6.77 milimolH₂O₂/mg/sn iken ailesinde taş hastalığı olmayanlarda bu değer 8.23 milimolH₂O₂/mg/sn olarak saptandı. Bu değer istatistiki olarak anlamlı derecede düşüktü (p:0.037). Süperoksit dismutaz enzim seviyeleri incelendiğinde bu değerler 1.44 U/ml ve 1.67 U/ml olarak saptandı (p:0.047). Glutasyon peroksidaz düzeyleri ailesinde taş öyküsü bulunmayan hastalarda 6.11 U/ml iken ailesinde taş öyküsü olanlarda 7.11 U/ml olarak saptandı (p:0.01). Lipid peroksidaz düzeyleri ise bu hastalar için 2.45 nmol/ml ve 2.78 nmol/ml olarak saptandı (p:0.064). Ailesinde üriner sistem taş hastalığı bulunan hastaların SOD, katalaz, glutasyon peroksidaz düzeyleri anlamlı derecede azalmasına rağmen lipid peroksidaz düzeylerinde istatistiki olarak anlamlı fark saptanmadı.

Hasta ve kontrol grubunda alkol kullanımı dikkate alındığında zaman tüm enzimler hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma göstermekteydi (Ki-kare: 0.034).

Üriner sistem taş hastalığı olanlarda taşın yeri, boyutu, idrar değerlerinin (ph, beyaz küre, kırmızı küre, dansite) antioksidan enzim değerleri üzerinde anlamlı bir etkisi saptanamadı.

Enzim	Kontrol (n: 37)	Hasta (n: 51)		P
		primer (n: 39)	nüks (n: 12)	
Katalaz	6.16 mmolH ₂ O ₂ /mg/sn	8.39 milimol H ₂ O ₂ /mg/sn	8.32 milimolH ₂ O ₂ /mg/sn	0.062
Glutasyon peroksidaz	8.19 U/ml.	7.29 U/ml	7.31 U/ml	0.022
Süperoksit dismutaz	3.86 U/ml	1.99 U/ml	1.91 U/ml	0.047
Lipid peroksidaz	3.31 nmol/ml	2.18 nmol/ml	2.34 nmol/ml	0.034

Tablo 4: Hasta ve kontrol grubunda rastlanan enzim düzeyleri

Enzim adı	Kontrol			Hasta			p
	VKİ			VKİ			
	(serum ortalama enzim seviyesi)			(serum ortalama Enzim seviyesi)			
	Zayıf	Normal	Kilolu	Zayıf	Normal	Kilolu	
SOD	3.19	3.87	2.95	1.67	2.08	1.44	0.032
Katalaz	6.95	6.42	6.51	8.14	7.56	6.57	0.056
Glutasyon	8.01	8.11	7.86	7.21	7.86	7.54	0.067
Lipit peroksidaz	3.16	3.28	2.97	2.14	2.78	2.07	0.023

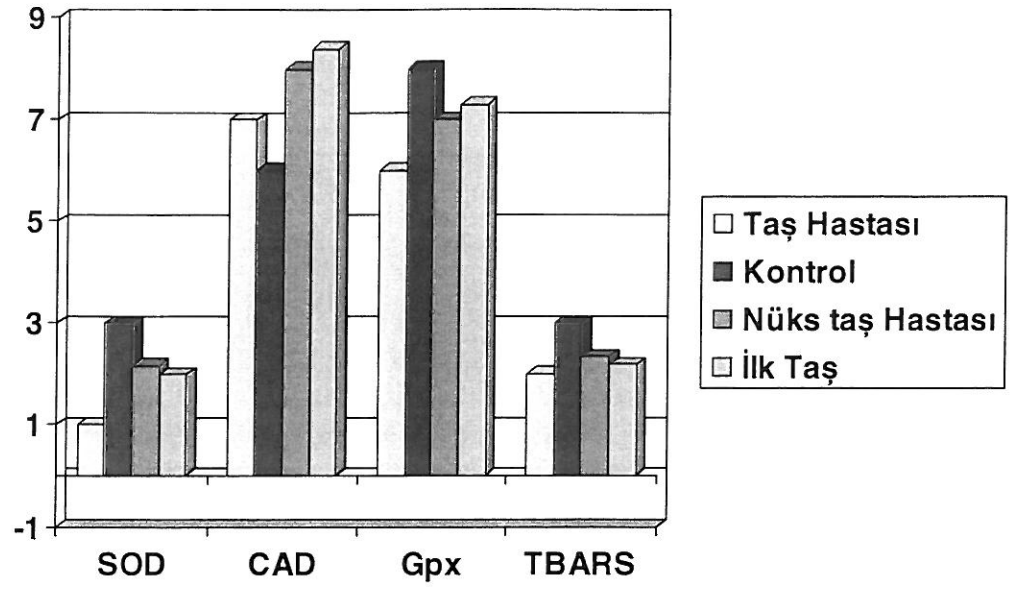
Tablo 5: Hasta ve kontrol grubunda zayıf, Normal, Kilolu bireylerdeki enzim düzeyleri.

Antioksidan enzim seviyeleri kontrol ve taş hastalarında vücut kitle indeksi değişkenine bakılarak karşılaştırıldığında enzim düzeylerinin özellikle kilolu ve obez hastalarda istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptandı (p:0.019). (tablo 3)

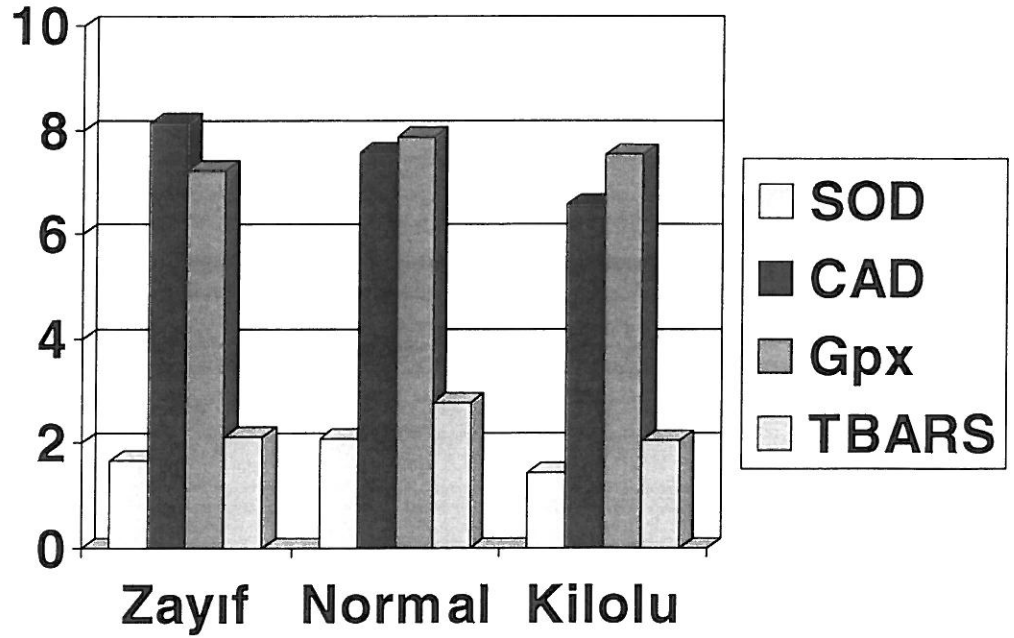
Hasta grubunda VKİ'si 20' nin altında olan (zayıf) 1 hasta (%2), VKİ' si 20-24.9 arasında olan (normal) 19 (%37.3), VKİ' si 25-29.9 arasında olan (kilolu) 25 (%49), VKİ' si 30 ve üzerinde olan (obez) 6 (%11.8) hasta mevcuttu.

Kontrol grubunda VKİ' si 20' nin altında olan (zayıf) 5 birey (%13.5) , VKİ' si 20-24.9 arasında olan (normal) 25 (%67.6), VKİ' si 25-29.9 arasında olan (kilolu) 7 birey (%18.9) varken VKİ' si 30 ve üzerinde olan (obez) birey yoktu.

T testine göre kontrol ve hasta grubundaki plazma antioksidan düzeyleri VKİ açısından karşılaştırıldığında SOD ve Lipit peroksidaz enzimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, diğer enzimlerde anlamlı bir fark saptanamadı (p:0.035)



Grafik1: taş hastası, kontrol gurubu, ilk kez taş saptanan hastalar, nüks taş hastalarında plazma ortalama serum antioksidan enzim düzeyi dağılımı



Grafik2: Üriner sistem taş hastalığı saptanan grupta plazma ortalama antiosidan enzim düzeylerinin VKİ indeksine göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Üriner sistem taş hastalığının etiyolojisine yönelik çalışmalar halen ürolojinin güncel araştırma konularından biridir.

Son yıllarda serbest radikallerin bir çok farklı hastalık için indükleyici olarak önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir (69,70). Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya daha fazla paylaşılmamış elektron içeren ve bu nedenle çok reaktif olan anstabil kimyasal türlerdir. Eksojen ve endojen bir çok serbest radikal kaynağı bilinmektedir. Serbest radikallerin eksojen kaynakları arasında oksidatif ilaçlar ve iyonize radyasyon örnek olarak gösterilebilir. Endojen kaynaklı olanlar ise normal hücre metabolizmasının bir parçası olan biyokimyasal redoks reaksiyonları sonucu oluşur. İster eksojen ister endojen kaynaklı olsun serbest oksijen radikalleri hücrelere ciddi düzeyde zarar verebilirler. Bu zararlar arasında hücre membranındaki lipid ve proteinler üzerindeki hasar önemli yer tutar (69,71,72).

Singh ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada normal popülasyonda ve üriner sistem taş hastalığı olanlarda serum antioksidan enzim düzeylerini incelemiştir. Ayrıca bu çalışmada hastalar yaşlarına göre iki guruba ayrılmış, buna göre 50 yaş üzeri grupta serum süperoksit dismutaz düzeylerinin progresif olarak düştüğü saptanmıştır. Aynı çalışmada üriner sistem taş hastalarında SOD aktivitesinin anlamlı ölçüde düşük olduğu da rapor edilmiştir (73). Bizim çalışmamızda üriner sistem taş hastalığı olan grupta yaş ortalaması 49 iken kontrol grubunun yaş ortalaması 44 olarak bulundu. Kontrol grubunda 50 yaşın üzerinde olanların sayısı 14 iken hasta grubunda 50 yaşın üzerinde olanların sayısı 28 olarak saptandı. Üriner sistem taş hastalarında serum SOD düzeyleri 50 yaş üzerinde ve altında olan hastalarda karşılaştırıldığında yaş ile serum SOD düzeylerinin progresif olarak azaldığını saptadık. Bu bulgu Singh ve arkadaşlarının bulgularını destekler nitelikteydi. Aynı zamanda çalışmamızda üriner sistem taş hastalığı saptanan grup ile kontrol grubu serum ortalama SOD düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın saptanması da Singh ve arkadaşlarının çalışmasındaki bulgularla örtüşmektedir (Üriner taş hastalığı grubunda serum ortalama SOD seviyesi 1,56 U/ml iken kontrol grubu serum ortalama SOD seviyesi 3.83 U/ml (p: 0.047)).

Son dönemde yapılan çalışmalarda serbest radikal reaksiyonlarının üriner taş oluşumundaki relatif rolü gösterilmiştir (74,75). Bu çalışmalarda serbest radikallerinin taş oluşumundaki etkilerinin oksalat bağlanması ve taşınması, makromoleküllerin üretimi ve salınması, renal hücre membranının lipid tabakanın hidrojen peroksit tarafından peroksidasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir

Bu çalışmalar ışığında renal kalküllerin oluşum mekanizmaları göz önünde bulundurulduğunda iki farklı mekanizma öne çıkmaktadır. Bu mekanizmalar idrar akımının hızlı olduğu bölgelerde renal epitelyuma yapışarak kalkül oluşumu ve idrar akımının hızlı olmadığı kavitelerde epitelyuma yapışmadan kalkül oluşumu mekanizmalarıdır (76,77). İlk mekanizmada oluşan kalküller papiller kalkül olarak da adlandırılır. Papiller kalküllerin önemli bir kısmı idrar kompozisyonunu değiştiren muhtemel faktörler (hiperkalsiüri, kristalizasyon inhibitörlerinin eksikliği, ph, vs.) eşliğindeki üroepitelyal değişiklikler sonucu papilla yüzeyinde oluşur. Üroepitelyumda değişikliğe yol açan daha başka bir çok etken vardır. Bunlardan en önemlileri yapışmayı önleyici glikozaminoglikan tabakanın bozulması (76), hücre veya doku nekrozudur. Hasar gören bölgede kristal oluşumu ve yapışması artmaktadır (78). Bu hasar hücrelerin biyolojik membranlarının lipid komponentleri üzerindeki oksidatif hasara bağlı olarak oluşmakta ve hücre ölümüne neden olmaktadır (69,70).

Grases ve arkadaşlarının çalışmalarında yüksek hidrojen peroksit ve potasyumnitrosodisülfonat konsantrasyonlarında süperfisiyal hücrelerin oluşturduğu yüzeyde hasar görmüş büyük alanlar olduğu gözlemlenmiştir (5). İşte bu alanlar üzerinde anlamlı miktarda kalsiyum oksalat kristali geliştiği saptanmıştır. Hasarlı hücreler kristal gelişimine neden olan maddeler üretmekte ve aynı zamanda heterojen kristal nükleasyonu, agregasyonu ve yapışmayı uyaran membranöz debris oluşturmaktadır. Bu olgularda serbest radikallerin taş gelişimi üzerindeki uyarıcı etkileri açıktır. Hidrojen peroksit ve potasyum nitrosodisülfonat konsantrasyonlarının düşük olduğu ancak aynı zamanda kalsiyum oksalat kristalleri sayısının belirgin şekilde yüksek olduğu olgular üzerinde yapılan çalışmalarda ise hasar görmüş hücre alanlarının olmadığı ve kristal oluşumunun daha düzgün olduğu saptanmıştır. Bu olgularda kristallerin kalsiyumdan zengin bölgelerde geliştiğinin gösterilmesi de oldukça ilginçtir. Bu gerçek; bu bölgelerin kalsiyum tuzlarının (kalsiyum oksalat vs.) heterojen nükleasyonunda çok önemli bir kapasiteye sahip olduklarını göstermektedir. Aslında

apoptotik ve/veya nekrotik hücrelerdeki kalsiyum artışının kalsifikasyonun temel mekanizması olduğu düşünülmektedir (79). Bununla birlikte hücre hasarı sonucu oluşan membranöz degradasyon ürünleri heterojen nükleasyon sürecinde kalsifikasyonun nidusu olarak görev yapmaktadır. Tüm bunlar serbest radikallerin renal taş oluşumu üzerinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir.

Khan ve arkadaşlarının yaptığı doku kültürü çalışmalarında kalsiyum oksalat kristallerinin varlığında böbrek proksimal tübül orijinli kültür hücrelerinin(LLC-PK1 hücreleri) hasara uğradığı saptandı (80). Aynı ekibin daha önce yaptığı çalışmalarda da kalsiyum oksalat kristallerinin renal epitelyum hücreleri üzerindeki preoksidatif hasarı artırdığı bildirilmiştir (58,59). Sözü edilen çalışmada böbrek proksimal tübül epitelyum hücrelerindeki hasar artmış LDH salınımı ile tespit edilmiştir. Aynı çalışmada böbrek proksimal tübül epitelyum hücrelerinin katalaz, SOD ile muamele edilmesi sonucu LDH salınımının önemli derecede düştüğü tespit edildi. Bu bulgular antioksidan moleküllerin renal tübülüs hücrelerinde oksidatif stresin neden olduğu hücre hasarını engelleyerek taş oluşumunu önlediğini göstermektedir.

Antioksidanların serbest radikaller tarafından oluşturulan hasarı önlediği iyi bilinmektedir. Aslında bir antioksidan, düşük konsantrasyonda olsa bile, okside olabilen bir madde ile aynı ortamda olduğunda, bu maddenin oksidasyonunu önemli ölçüde önler. Vitaminler gibi diyetle alınan maddelerin oksidatif hasara karşı hücre membranlarını koruduğu rapor edilmiştir (5). Vitaminlerin oksidatif hasara karşı korucu bu işlevleri antioksidan moleküller olan glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitesini artırarak yerine getirmektedir. Khan ve arkadaşlarının kalsiyum oksalat taşı oluşumunda antioksidan mekanizmaların rolünü araştırdıkları deneysel çalışmalarında renal tübülüs hücre doku kültürlerinde vitamin E' nin glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktivitelerini artırarak oksidatif strese karşı hücreyi koruduğu ve taş oluşumunu engellediği rapor edilmiştir (80).

Biz de çalışmamızda üriner sistemde kalsiyum oksalat taşı olan hastalarda serum antioksidan seviyelerini araştırdık. Buna göre üriner sistemde kalsiyum oksalat taşı olan hasta grubunda serum antioksidan enzim seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunması Grases ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada üriner sistem taş hastalığı gelişiminde oksidatif stres mekanizmalarının rol oynadığı görüşünü desteklemektedir. Aynı zamanda Grases ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada böbrek

epitelyum hücrelerindeki hasarın özellikle düşük idrar akımı olan bölgelerdeki taş oluşumunda ve epitel hücrelerinin hasar sonucu ölmesi ve bu bölgede oluşan kalsifikasyonu ile sonuçlanan sürecin, taşın nidusunun oluşumunda çok önemli bir rolü olduğu vurgulanmaktaydı.

Sigara, ihtiva ettiği çeşitli toksik maddeler ve oksidan materyaller nedeniyle organizmadaki bütün sistemler üzerinde zararlı etki göstermektedir. Elsayed ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da sigara içenlerde serbest oksijen radikali düzeylerinin arttığı saptanmıştır. (81). Sigara ile böbrek taşı oluşumu arasındaki ilişkiye yönelik olarak literatürde oldukça az sayıda yayın rapor edilmiştir. Hamano ve arkadaşları koroner arter hastalığı için risk faktörü olan durumlar ile kalsiyum oksalat taş hastalığı arasında ilişki olup olmadığına yönelik olarak yaptıkları çalışmada özellikle sigara alışkanlığının kalsiyum oksalat taşı oluşumunda diğer risk faktörleri olan hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve obeziteden çok daha önemli bir rolü olduğunu saptadılar (82). Scott ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada sigara içimine bağlı olarak artan serum kadmiyum düzeyinin, üriner taş oluşum riskini artırdığı saptandı (83). Biz de çalışmamızda hem üriner sistem taş hastalığı olan hem de kontrol grubuna alınan bireyler arasında sigara içenlerde antioksidan enzim düzeylerinin içmeyenlere göre anlamlı ölçüde düşük olduğunu saptadık (p: 0,047, kikare: 0.35).

Obezitenin kalsiyum oksalat taşı oluşumunda önemli bir risk faktörü olduğu düşünülmektedir. Erkeklerin kadınlara göre daha büyük bir vücut kitlesine sahip olmaları ve erkeklerde taş oluşumunun üç kat daha fazla görülmesi vücut kitlesinin kalsiyum oksalat taşı oluşumunda önemli bir rolü olduğunu akla getirmektedir (84,85). Curhan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada taş hastalığı prevalansının vücut ağırlığı ve vücut kitle indeksi ile ilişkili olduğunu saptadılar (86). Siener ve arkadaşları obezitenin kalsiyum oksalat taşı oluşumuna neden olan promotörlerin üriner ekskresyonunu artırmak suretiyle taş oluşumuna neden olduğunu rapor ettiler (87). Bizim çalışmamızda da kalsiyum oksalat taşı olan hastalar arasında VKİ' si 25-29.9 arasında olan (kilolu) 25 (%49), VKİ' si 30 ve üzerinde olan (obez) 6 (%11.8) hasta mevcuttu. Ayrıca Antioksidan enzim seviyeleri kontrol ve taş hastalarında vücut kitle indeksi değişkenine bakılarak karşılaştırıldığında enzim düzeylerinin özellikle kilolu hastalarda istatistiksel olarak azaldığı saptandı (p:0.019)

Çalışmamızda, üriner sistem taş hastalığı olan grupta, ilk kez taş saptanan ve nüks taşı olanlar antioksidan enzim düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

6. SONUÇ

Üriner sistem taş hastalığının etiyojisine yönelik bir çok teori bulunmasına rağmen üriner sistem taş oluşumunun açıklanmasında bir çok nokta halen karanlıktadır. Taş oluşumunu açıklayan birbirinden farklı bir çok mekanizmanın varlığının gösterilmesi, ürolitiasis etiyojisinin multifaktöryel bir olay olduğunu göstermektedir. Bu faktörlerden en önemlilerinden biri de, hücresel düzeyde oksidan ve antioksidan moleküllerin dengesizliği sonucu oluşan hücresel oksidatif strestir. Çalışmamızda üriner sistem taş hastalarında saptanan antioksidan enzim düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı dercede düşük saptanması, taş hastalarında oksidatif stresin var olduğunu göstermektedir. Söz konusu bu oksidatif stresin böbrek tübülüs epitelinde hasar oluşturarak üriner sistem taşı için nidus oluşturduğu daha önce yayınlanan çalışmalarda da gösterilmiştir.

Çalışmamızın en önemli bulgusu olan taş hastalarında oksidatif stresin var olduğu bulgusu; taş oluşumu için önemli bir etiyojik neden olabilir. Ancak bu bulguların daha geniş vaka serili çalışmalar ile doğrulanması gerekmektedir.

7. ÖZET

Üriner sistem taş hastalığı gelişiminde, hücresel düzeyde oksidatif stresin etkisini incelemek amacıyla tasarlanan çalışmamızda serum antioksidan enzim seviyelerini incelemek amacıyla iki grup oluşturuldu. Birinci grubu hastanemiz üroloji polikliniğinde üriner sistem taş hastalığı saptanarak tedavisi yapılan 51 taş hastası oluşturdu. Kontrol grubu olarak tamamen sağlıklı 37 gönüllü seçildi.

Antioksidan enzimlerden katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve lipid peroksidaz enzimlerinin seviyeleri, üriner sistem taş hastaları ve kontrol grubunun periferel kanlarından alınan 2.5 cc' lik kan örneklerinde saptandı.

Üriner sistem taş hastalarında plazma ortalama katalaz düzeyi 7.54 mmolH₂O₂/mg/sn, plazma ortalama glutatyon peroksidaz düzeyi 6.70 U/ml, plazma ortalama süperoksit dismutaz düzeyi 1.56 U/ml ve plazma ortalama lipid peroksidaz düzeyi 2.35 nmol/ml olarak saptandı.

Kontrol grubunda ise plazma ortalama katalaz düzeyi 6.16 mmolH₂O₂/mg/sn (5.56-7.01), plazma ortalama glutatyon peroksidaz düzeyi 8.19 (U/ml.) (7.89-8.62), plazma ortalama süperoksit dismutaz düzeyi 3.86 U/ml (3.10-4.23) ve plazma ortalama lipid peroksidaz düzeyi 3.31 nmol/ml (2.99-3.78) olarak saptandı.

Üriner sistem taş hastaları ve kontrol grubu, serum antioksidan düzeyleri açısından karşılaştırıldığında, taş hastalarındaki glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve lipid peroksidaz düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı. Sırasıyla (p:0.022, p:0.047, p:0.034, T-test).

Üriner sistem taş hastalarında ortalama plazma antioksidan enzim düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düşük seviyelerde saptanması, üriner sistem taş hastalarında oksidatif stresin varlığını göstermektedir. Bu bulgu, taş hastalığı gelişiminde oksidatif stresin bir etiyolojik faktör olabileceğini işaret etmektedir.

8. SUMMARY

In this study, we aimed to determine the serum antioxidant levels in two groups to evaluate the effect of cellular oxidative stress in the development of urinary stone disease. First group included 51 patients with urinary stone disease treated in the urology department of our hospital. The control group included 37 normal volunteers.

The levels of antioxidant catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and lipid peroxidase enzymes were determined in 2.5 cc serum samples of the groups taken from the peripheral venous circulation.

The catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and lipid peroxidase enzyme levels in patients with urinary stone disease were 7.54 mmolH₂O₂/mg/sec, 6.70 U/ml, 1.56 U/ml and 2.35 nmol/ml respectively.

And in the control group 6.16 mmolH₂O₂/mg/sec, 8.19 U/ml, 3.86 U/ml and 3.31 nmol/ml respectively.

When mean plasma catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and lipid peroxidase enzyme levels of the patients with urinary stone disease and the control group were compared; lower levels for the glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidase in the urinary stone disease group were statistically significant (p:0.022, p:0.047, p:0.034, T-test).

This suggests the effect of oxidative stress in the urinary stone disease patients. We think that oxidative stress is one of the etiologic factors of urinary stone disease.

9. KAYNAKLAR

- 1-Uribarri J, Oh MS, Carroll HJ: The first kidney stone. *Ann Intern Med* 1989;111:1006-1009.
- 2-Menon M, Koul H: Clinical review 32: Calcium oxalate nephrolithiasis. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:703-707.
- 3-Scheid CR, Koul H, Jonassen J, Honeyman T, Menon M. Role of oxalate induced free radical production in stone disease, Urolithiasis, ed. Pak CYC, Resnick MI, Preminger GM, Dallas, Texas Millet The Printer 1996 p 10-12.
- 4-Kurien TB, Selvan R. Induction of lipid peroxidation in calcium oxalate formation. *Indian J Exp Biol* 1989;27:450-453.
- 5-Grases F, Garcia-Ferragut L, Costa-Bauza A. Development of Calcium Oxalate Crystals on Urothelium: Effect of Free Radicals *Nephron* 1998;78:296-301
- 6-Thamilselvan S, Selvam R (1997) Effect of vitamin E and mannitol on renal calcium oxalate retention in experimental nephrolithiasis. *Indian J Biochem Biophys* 34: 319
- 7-Meyer JL: Nucleation kinetics in the calcium oxalate-sodium urate mono-hydrate system. *Invest Urol* 1981;19:197-201.
- 8-Pak CY: Hypercalciuric calcium nephrolithiasis. In Resnick MI, Pak CY (eds): *Urolithiasis: A Medical and Surgical Reference*. Philadelphia, WB Saunders, 1990, pp 79-88.
- 9-Welshman SG, McGeown MG: The relationship of the urinary cations, calcium, magnesium, sodium and potassium, in patients with renal calculi. *Br J Urol* 1975;47:237-242.
- 10-Coe FL, Parks JH: *Nephrolithiasis: Pathogenesis and Treatment*, 2nd ed. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1988.
- 11-Brown CM, Purich DL: Physical chemical processes in kidney stone formation. In Coe FL, Flavus MJ (eds): *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. New York, Raven Press, 1992, pp 613-624.
- 12-Carr RJ: Aetiology of renal calculi: Micro-radiographic studies. In Hodgkinson A, Nordin BEC (eds): *Renal Stone Research Symposium*. London, J & A Churchill Ltd, 1969, p 123.
- 13-Kok DJ, Papapoulos SE, Bijvoet OL: Crystal agglomeration is a major element in calcium oxalate urinary stone formation. *Kidney Int* 1990;37:51-56.
- 14-Jordan WR, Finlayson B, Luxenburg M: Kinetics of early time calcium oxalate nephrolithiasis. *Invest Urol* 1978;15:465-468.

- 15-Finlayson B, Dubois L: Absorption of heparin on sodium acid urate. *Clin Chim Acta* 1978;84:203-206.
- 16-Kumar S, Sigmon D, Miller T, et al: A new model of nephrolithiasis involving tubular dysfunction/injury. *J Urol* 1991;146:1384-1389.
- 17-Garside J: Nucleation. In Nancollas GH (ed): *Biological mineralization and demineralization*. New York, Springer-Verlag, 1982, pp 23-25.
- 18-Robertson WG: Physical chemical aspects of calcium stone formation in the urinary tract. In Fleisch H, Robertson WG, Smith LH (eds): *Urolithiasis Research*. New York, Plenum Publishing, 1976, pp 25-42.
- 19-Ito H, Coe FL: Acidic peptide and polyribonucleotide crystal growth inhibitors in human urine. *Am J Physiol* 1977;233:455-463.
- 20-Khan SR, Shevock PN, Hackett RL: In vitro precipitation of calcium oxalate in the presence of whole matrix or lipid components of the urinary stones. *J Urol* 1988;139:418-422.
- 21-Verdier JM, Dussol B, Casanova P, et al: Evidence that human kidney produces a protein similar to lithostathine, the pancreatic inhibitor of CaCO_3 crystal growth. *Eur J Clin Invest* 1992;22:469-474.
- 22-Grover PK, Marshall VR, Ryall RL: Tamm-Horsfall mucoprotein reduces promotion of calcium oxalate crystal aggregation induced by urate in human urine in vitro. *Clin Sci* 1994;87:137-142.
- 23-Nakagawa Y, Ahmet M, Hall SL, et al: Isolation from human calcium oxalate renal stones of nephrocalcin, a glycoprotein inhibitor of calcium oxalate crystal growth. Evidence that nephrocalcin from patients with calcium oxalate nephrolithiasis is deficient in gamma-carboxyglutamic acid. *J Clin Invest* 1987;79:1782-1787.
- 24-Ryall RL, Grover PK, Stapleton AMF, Tang Y: Effect of urinary prothrombin fragment 1 on calcium oxalate crystallization in undiluted human urine: Proceedings of AUA (Abstract 483). *J Urol* 1995;153:349.
- 25-Shiraga H, Min W, VanDusen WJ, et al: Inhibition of calcium oxalate crystal growth in vitro by uropontin: Another member of the aspartic acid-rich protein superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:426-430.
- 26-Asplin J, Arsenault D, Parks JH, et al: Contribution of human uropontin to inhibition of calcium oxalate crystallization. *Kidney Int* 1998a;53(1): 194-199.
- 27-Umekawa T, Kohri K, Amasaki N, et al: Sequencing of a urinary stone protein, identical to alpha-one antitrypsin, which lacks 22 amino acids. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;193:1049-1053.
- 28-Malek RS, Boyce WH: Observations on the ultrastructure and genesis of urinary calculi. *J Urol* 1977;117:336-341.

- 29-Rahman MA, Rahman B, Perveen S: Studies on serum mucoproteins in patients with urinary calculi. *Biomed Pharmacother* 1986;40:311-313.
- 30-Boyce WH, King JS Jr: Crystal-matrix interrelations in calculi. *J Urol* 1959;81:351.
- 31-Mall JC, Collins PA, Lyon ES: Matrix calculi. *Br J Radiol* 1975;48:807-810.
- 32-Malek RS, Boyce WH: Intranephronic calculosis: Its significance and relationship to matrix in nephrolithiasis. *J Urol* 1973;109:551-555.
- 33-Pak CY, Oata M, Lawrence EC, Snyder W: The hypercalciurias. Causes, parathyroid functions, and diagnostic criteria. *J Clin Invest* 1974;54:387-400.
- 34-Coe FL, Bushinsky DA: Pathophysiology of hypercalciuria (review). *Am Jphysiol* 1984;247:1-13.
- 35-Holmes RP, Goodman HD, Assimos DG: The distribution of urinary calcium excretion in individuals on controlled diets. *J Urol* 1995a;153:350.
- 36-Williams HE, Smith LH Jr: Primary hyperoxaluria. In Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS (eds): *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 5th ed. New York, McGraw-Hill, 1983, pp 204-228.
- 37-Danpure CJ, Jennings PR: Further studies on the activity and subcellular distribution of alanine: Glyoxylate aminotransferase in the livers of patients with hyperoxaluria type 1. *Clin Sci* 1988;75:315-322.
- 38-Itami N, Yasoshima K, Akutsu Y, Nonomura K: Spot urine screening for primary hyperoxaluria. *Nephron* 1990;56:337-338.
- 39-Menon M, Mahle CJ: Oxalate metabolism and renal calculi. *J Urol* 1982;127:148-151.
- 40-Smith LH: Hyperoxaluric states. In Coe FL, Favus MI (eds): *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. New York, Raven Press, 1992, pp 707-728.
- 41-Vainder M, Kelly J: Renal tubular dysfunction secondary to jejunoileal bypass. *JAMA* 1976;235:1257-1258.
- 42-Wallace MR, Mason K, Gray J: Urine oxalate and calcium in idiopathic renal stone formers. *N Z Med J* 1981;94:87-89.
- 43-David Harrison, MD, Kathy K.Griendling, PhD, Ulf Landmesser, MD, Burkhard Horning, MD, Helmut Drexler, MD, Role of Oxidative stress in Atherosclerosis, *Am J Cardiol*, 7A-11A, 2003
- 44-Defeng Wu, Ph.D., and Arthur I.Cederbaum, Ph.D, Alcohol, oxidative stress and Free Radical Damage, *Alcohol Research&Health*, 277-284, 2003

- 45-John J.Haddad, Oxygen homeostasis, thiol equilibrium and redox regulation of signalling transcription factors in the alveolar epithelium, *Cellular Signalling*, 799-810,2002
- 46-Roland Stocker ve John F. Keaney JR., Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis *Physiol Rev* 1381-1478, 2004;
- 47-Julio F. Turrens, Mitochondrial formation of reactive oxygen species, *J Physiol* 335-344,2003
- 48-Roland Stocker ve John F. Keaney JR., Role of Oxidative modifications in Atherosclerosis *Physiol Rev* 1381-1478,2004
- 49-Hideko Sumimoto, Noriko Ueno, Tomoko Yamasaki, Masahiko Tauro ve ryu takeya, molecular mechanism Underlying Activation of Superoxide-Producing NADPH Oxidase: Role for Their Regulatory Protein, *Jpn. J. Infect. Dis.*, S24-S25,2004
- 50-Essi Lakari, Expression of oxidant and antioxidant enzymes in human lung and interstitial lung diseases, *Oulu University Press*, 1-86,2002
- 51-Christine C Winterbourn, PhD, Margret CM Vissers, PhD, and anthony J Kettle, PhD, Myeloperoxidase, *Current Opinion in Hematology*,53-58,2000
- 52-Suzy A. A. Comhair ve Serpil C. Erzurum, Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 283: L246-L255, 2002
- 53-Dimitry A Chistyakov kirill V Savost'anov, Elena V Zotova ve Valery V Nosikov, Polymorphisms in the Mn-SOD and EC-SOD genes and their relationship to diabetic neuropathy in type 1 diabetes mellitus, *BMC Medical Genetics*, ,2001
- 54-Jun Luo, Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD), B-180 Medical Laboratories Free Radical and Radiation Biology Program, The University of Iowa, 2001
- 55-Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet* 1994;344:721-724.
- 56-Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49:345-361.
- 57-Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Soul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Int Med* 1987;107:526-545.
- 58-K han SR (2004) Crystal-induced inflammation of the kidneys: results from human studies, animal models, and tissue culture studies. *Clin Exp nephrol* 8: 75
- 59-K han SR (2004) Role of renal epithelial cells in the initiation of calcium oxalate stones. *Nephron Exp Nephrol* 98: 55

- 60-Khan SR, Byer KJ, Thamilselvan S, Hackett RL, McCormack WT, Benson NA, Vaughn KL, Erdos GW (1999) Crystal-cell interaction and apoptosis in oxalate-associated injury of renal epithelial cells. *J Am Soc nephrol* 10: s457
- 61-Miller C, Kennington L, Cooney R, Kohjimoto Y, Cao LC, Honeyman T, Pullman J, Jonassen J, Scheid C (2000) Oxalate toxicity in renal epithelial cells: characteristics of apoptosis and necrosis. *Toxicol Pharmacol* 162: 132
- 62-Khan SR, Finlaysol B, Hackett RL (1982) Experimental calcium oxalate nephrolithiasis in the rat, role of renal papilla, *Am J Pathol* 107: 59
- 63-Khan SR (1995) Experimental CaOx nephrolithiasis and the formation of human urinary stones, *Scanning Microsc* 9: 89
- 64-Fasano JM, Khan SR (2001) Intratubular crystallization of calcium oxalate in the presence of membrane vesicles: an in vitro study. *Kidney Int* 59: 169
- 65-Riese RJ, Mandel NS, Wiessner JH, Mandel GS, Becker CJ, Kleinman JC (1992) Cell polarity and CaOx crystal adherence to cultured collecting duct cells. *Am J Physiol* 262: F177
- 66-Verkoelen CF, Van der Broom BG, Houtsmuller AB, Schroeder FH, Romijn JC (1998) Increased CaOx monohdrate crystal binding to injured renal epithelial cells in culture. *Am J Physiol* 274: F958
- 67-Selvam R, Ravichandran V (1993) Restoration of tissue antioxidants and prevention of renal stone deposition in vitamin B6 deficient rats fed with vitamin E or methionine. *Indian J Exp Biol* 31: 882
- 68-Verbraecken J, Van de Heyning P, De Backer W, Body surface area in normalweight, overweight and obese adult. A comparison study. *Metabolism*, 2006 Apr 55 (4): 515-24
- 69-Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free Radicals in Biology and Medicine*, ed 2. Oxford, Clarendon Press, 1989.
- 70-Halliwell B: The role of oxygen radicals in human disease, with particular reference to the vascular system. *Haemostasis* 1993;23:118-126.
- 71-Dean RT, Giese S, Davies MJ: Reactive species and their accumulation on radical-damaged proteins *Trends Biochem Sci* 1993;18:437-441.
- 72-Stadtman ER: Oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins by radiolysis and by metal-catalysed reaction. *Annu Rev Biochem* 1993;62:797-821.
- 73- PP, Singh, MK Barjatiya Peroxidative stress and antioxidant status in relation to age in normal population and renal stone formers *Indian J Nephrol* 2002;12:10-15
- 74-Selvam R, Bijikurien T: Effect of citric acid feeding on free radical induced changes in experimental urolithiasis *Indian J Exp Biol* 1992;30:705-710.

- 75-Sumathi R, Jayanthi S, Varalakshmi P: DL alipoic acid as free radical scavenger in gloyxylate-induced lipid peroxidation *Med Sci Res* 1993;21:135-137.
- 76-Söhnel O, Grases F: Calcium oxalate monohydrate renal calculi. Formation and development mechanism. *Adv Colloid Interface Sci* 1995;59:1-17.
- 77-Grases F, Söhnel O, Villicampa AI, March JG: Phosphates precipitating from artificial urine and fine structure of phosphate renal calculi. *Clin Chim Acta* 1996;244:45-67.
- 78-Grases F, Garcia-Ferragut L, Costa-Bauza A: Study of the early stages of renal stone formation: Experimental model using urothelium of pig urinary bladder. *Urol res* 1996;24:305-311.
- 79-Kim KM: Apoptosis and calcification. *Scanning Microsc* 1995;9:1137-1175.
- 80-Sivagnanam Thamilselvan Saeed R.Khan Mani Menon Oxalate and calcium oxalate mediated free radical toxicity in renal epithelial cells: effect of antioxidants *Urol res* (2003) 31:3-9
- 81-Elsayed NM, Bendich A. Dietary antioxidants: potential effect on oxidative products in cigarette smoke. *Nutr Res* 2001;21:551-67.
- 82-Satoshi Hamano, Hiroomi Nakatsu Kidney stone disease and risk factors for coronary heart disease *International Journal of Urology* (2005) 12, 859-863
- 83-Scott R, Cunningham C, McLelland A, Fell GS, Fitzgerald-Finch OP, McKellar N. The importance of cadmium as a factor in calcified upper urinary tract stone disease-a prospective 7-year study. *Br. J. Urol.* 1982;54:584-9.
- 84-Iguchi M, Umekawa T, Katayama C, Takamura C, Kohri K, Kurita T. An epidemiological study of upper urinary stones in Kaizuka City. In: Ryall RL, Basis R, Marshall VR, role AM, Smith LH, Walker VR (eds). *Urolithiasis 2*. Plenum, New York, 1994;457-9.
- 85-Kohri K, Ishikawa Y, Katoh Y et al. Epidemiology of urolithiasis in the elderly. *Int. Urol. Nephrol.* 1991;23:413-21.
- 86-Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Speizer FE, Stampfer MJ. Body size and risk of kidney stones. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1998;9:1645-52.
- 87-Siener R, Glatz S, Nicolay C, Hesse A. The role of overweight and obesity in calcium oxalate stone formation. *Obes. Res.* 2004;12:106-13.