



Tıp Fakültesi

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÜKSEK YAĞLI DİYETLE İNDÜKLENMİŞ OBEZ
SIÇANLARDA APOSİNİNİN BÖBREK VE MESANE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK
İNCELENMESİ**

Dr. FATMA KANPALTA

UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL 2021



Tıp Fakültesi

T.C.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**YÜKSEK YAĞLI DİYETLE İNDÜKLENMİŞ OBEZ
SIÇANLARDA APOSİNİNİN BÖBREK VE MESANE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK
İNCELENMESİ**

Dr. FATMA KANPALTA

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. FERİHA ERCAN

İSTANBUL 2021

ÖNSÖZ

Sabrı, anlayışı ile her zaman yanımda olan ve tecrübelerini benimle paylaşan, heyecanı ve çalışma disiplini ile beni motive eden, asistanlığım boyunca her gün işini gerçekten severek yapmanın, bilginin ve öğretmenin ne kadar değerli olduğunu farketmemi sağlayan sevgili hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Feriha ERCAN'a;

Tanıma ve çalışma şansına sahip olduğum için mutlu olduğum anabilim dalımızın saygıdeğer hocaları Prof. Dr. Şule ÇETİNEL'e, Prof. Dr. Serap ŞİRVANCI'ya, Doç.Dr. Dilek AKAKIN'a ve Doç.Dr. Özlem Tuğçe KAYA'ya;

Çalışmanın hayata geçirilmesindeki yardımlarından dolayı M.Sc. Büşra COŞKUNLU'ya, M.Sc. İrem HERSEK'e;

Çalışmanın planlanması ve biyokimya bölümündeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Göksel ŞENER'e ve Araş. Gör. Büşra ERTAŞ'a;

Birlikte çalışma şansına sahip olduğum ve tanıdığım için mutlu olduğum çalışma arkadaşlarıma;

Eğitim hayatım boyunca maddi manevi her zaman yanımda olan sevgili anneme teşekkür ediyorum.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından lisansüstü tez projeleri (proje kodu: TTU-2020-10107) kapsamında desteklenmiştir.

Eylül, 2021

Dr. Fatma KANPALTA

İÇİNDEKİLER

Sayfalar

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
RESİMLER LİSTESİ.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	v
TABLolar LİSTESİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Böbrek ve mesane histolojisi	4
2.1.1. Böbrek histolojisi.....	4
2.1.2. Mesane histolojisi	9
2.2. Obezite	11
2.2.1. Obezite tanım, epidemiyoloji ve etiyolojisi.....	11
2.2.2. Obezitenin böbrek ve mesane üzerine etkileri.....	12
2.3. Oksidatif Stres ve Aposinin	13
2.4. Fibrozis	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Deney Hayvanları	17
3.2. Deney Grupları.....	17
3.3. Biyokimyasal İncelemeler	17
3.3.1. Serumda HDL, trigliserit, total kolesterol ve leptin düzeyi ölçümü	18
3.3.2. Doku MDA, GSH,8-OHdG ve MPO düzeyi ölçümü.....	19
3.4. Histolojik Preparasyon ve Histopatolojik Skorlama.....	19
3.5. İmmunohistokimyasal Yöntemler.....	20
3.6. TUNEL Metodu.....	21
3.7. İstatistiksel Analiz.....	22

4. BULGULAR	23
4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları	23
4.2. Biyokimyasal Bulgular	24
4.2.1. Serumda HDL, Trigliserit, Total Kolesterol, Leptin düzeyi bulguları ...	24
4.2.2. Doku MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO düzeyi bulguları	26
4.3. Histopatolojik Bulgular	30
4.4. İmmunohistokimya Bulguları	53
4.4.1. NOX-2, NF-κB, TGF-β1 ve PCNA immünohistokimya bulguları	53
4.4.2. TUNEL Bulguları	74
5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR	81
6.KAYNAKLAR	88
7. EKLER	94
Ek 1. Etik Kurul Onay Formu	94
Ek 2. İntihal Raporu	95
8. ÖZGEÇMİŞ	96

RESİMLER LİSTESİ

Sayfalar

Resim 1.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait H&E ile boyalı preparatların temsili mikrografları.....	31
Resim 2.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait PAS ile boyalı preparatların temsili mikrografları.....	35
Resim 3.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait pikrosirius kırmızısı ile boyalı preparatların temsili mikrografları.	37
Resim 4.	Deney grupları mesane dokularına ait H&E ile boyalı preparatların temsili mikrografları.....	41
Resim 5.	Deney grupları mesane dokularına ait PAS ile boyalı preparatların temsili mikrografları.....	45
Resim 6.	Deney grupları mesane dokularına ait pikrosirius kırmızısı ile boyalı preparatların temsili mikrografları..	47
Resim 7.	Deney grupları mesane dokularına ait asitli toluidin mavisi ile boyalı preparatların temsili mikrografları.	51
Resim 8.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait NOX-2 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	54
Resim 9.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait NF-κB immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	56
Resim 10.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait TGF-β1 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	58
Resim 11.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait PCNA immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	60
Resim 12.	Deney gruplarının mesane dokularına ait NOX-2 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	66
Resim 13.	Deney gruplarının mesane dokularına ait NF-κB immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	68
Resim 14.	Deney gruplarının mesane dokularına ait PCNA immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları.....	70
Resim 15.	Deney gruplarının böbrek dokularına ait TUNEL ile boyanmış preparatların temsili mikrografları..	75
Resim 16.	Deney gruplarının mesane dokularına ait TUNEL ile boyanmış preparatların temsili mikrografları..	77
Resim 17.	Böbrekte TUNEL ve immünohistokimya boyamalarına ait negatif kontrol örnekleri.....	80

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfalar
Şekil 1. Böbrek diyagramı	4
Şekil 2. Nefronun yapısı	5
Şekil 3. Renal cisimciğin yapısı.....	7
Şekil 4. Mesanenin tabakaları (enine kesit).....	10
Şekil 5. Mesanenin apikal plak planı	11
Şekil 6. Obezitenin kronik böbrek hastalığına sebep olan mekanizmalar.	13
Şekil 7. TGF- β sinyal yolağı ile NOX-2 ve NOX-4 etkileşimi.	16
Şekil 8. Deney gruplarındaki haftalık vücut ağırlıkları değişimleri.	23
Şekil 9. Deney gruplarındaki sıçanların serum HDL , total kolesterol, trigliserit ve leptin seviyeleri.....	25
Şekil 10. Deney gruplarının böbrek dokularına ait MDA, GSH , 8-OHdG ve MPO seviyeleri.....	27
Şekil 11. Deney gruplarının mesane dokularına ait MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO seviyeleri.....	29
Şekil 12. Deney gruplarının böbrek örneklerinin histopatolojik skoru.	33
Şekil 13. Deney gruplarına ait böbrek dokusunda kolajen dağılım yüzdesi.....	39
Şekil 14. Deney gruplarının mesane örneklerinin histopatolojik skoru.....	43
Şekil 15. Deney gruplarına ait mesane dokusunda kolajen dağılım yüzdesi.....	49
Şekil 16. Deney gruplarında böbrek NOX-2 IR alan yüzdesi grafiğı.....	62
Şekil 17. Deney gruplarında böbrek NF- κ B IR alan yüzdesi grafiğı.....	63
Şekil 18. Deney gruplarında böbrek TGF- β 1 IR alan yüzdesi grafiğı.....	64
Şekil 19. Deney gruplarında mesane NOX-2 IR alan yüzdesi grafiğı.....	72
Şekil 20. Deney gruplarında mesane NF- κ B IR alan yüzdesi grafiğı.....	73
Şekil 21. Deney gruplarında böbrekte ve mesanede TUNEL pozitif hücre sayısı grafiğı.....	79

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfalar

Tablo 1. Çalışmada oluşturulan gruplar.	18
---	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

APS	: Aposinin
APC	: Apocynin
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EMT	: Epitelial Mezenkim Transformasyon
GSH	: Glutasyon
H&E	: Hematoksilen ve Eozin
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HFD	: High fat diet
IL	: İnterlökin
IR	: İmmun Reaktif
KBH	: Kronik Böbrek Hastalığı
MDA	: Malondialdehit
MPO	: Myeloperoksidaz
NF-κB	: Nükleer Faktör-kappa B
NOX	: NADPH Oksidaz
PAS	: Periyodik Asit Schiff
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PCNA	: Proliferating Cell Nuclear Antigen
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
TGF	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
YYD	: Yüksek Yağlı Diyet
8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

ÖZET

Yüksek yağlı diyetle indüklenmiş obez sıçanlarda aposininin böbrek ve mesane üzerine etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi

Amaç: Bu çalışmanın amacı, yüksek yağlı diyetle (YYD) bağlı obezitede, NADPH Oksidaz (NOX) inhibitörü olan aposininin (APS) böbrek ve mesane hasarı üzerindeki olası koruyucu etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Wistar albino erkek sıçanlar dört eşit (n=8) gruba ayrıldı: Kontrol, YYD, YYD+dimetilsülfoksit (DMSO) ve YYD+APS. Deney grupları 16 hafta boyunca standart (kontrol grubu; %6 yağ) veya YYD (YYD, YYD+DMSO, YYD+APS grupları; %45 yağ) ile beslendi. Deneyin son 4 haftasında, YYD+DMSO grubuna DMSO (%15) ve YYD+APS grubuna APS (25 mg/kg, %15 DMSO içinde çözülmüş) orogastrik uygulandı. Deney süresince her hafta ağırlıkları ölçülen sıçanlar deney sonunda hafif eter anestezisi altında dekapite edildi. Kan serumunda yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL), trigliserit, kolesterol ve leptin değerleri ölçüldü. Böbrek ve mesane örneklerinde malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ve miyeloperoksidaz (MPO) seviyeleri biyokimyasal olarak değerlendirildi. Işık mikroskopik incelemeler için böbrek ve mesane dokuları hazırlandı. NADPH Oksidaz (NOX)-2, Nükleer Faktör-kappa B (NFκ-B), Transforming Growth Faktör (TGF)-β1 ve Proliferating Cell Nükleer Antigen (PCNA) pozitif hücreler immünohistokimya ve TUNEL yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Tüm parametreler istatistiksel olarak değerlendirildi. $P < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: YYD ve YYD+DMSO gruplarında vücut ağırlığı arttı. Serum leptin, kolesterol ve trigliserit seviyeleri yükseldi. Böbrek ve mesanede MDA, 8-OHdG ve MPO seviyeleri artarken, GSH seviyeleri azaldı. Renal cisimciklerde ve dejenere tübüllerde hasar, interstisyel bağ dokuda kolajen artışı, mesanede ise ürotelyumda yer yer dökülme, vasküler konjesyon, kas tabakasında kolajen artışı, mukoza ve kas tabakasında degranüle olmuş mast hücrelerinin artışı görüldü. Hem böbrek hem mesanede NOX-2, NFκ-B immünopozitif ve TUNEL pozitif hücrelerde artış; böbrekte

TGF- β 1 immünpozitif hücrelerde artış gözlenirken, PCNA immünpozitif hücrelerde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi. Tüm bu histolojik ve biyokimyasal hasar bulgularının APS uygulanmış YYD+APS grubunda azaldığı gözlendi.

Sonuçlar: Yüksek yağlı diyet, oksidatif stres yoluyla NOX-2 aktivitesini ve inflamasyonu artırarak böbrek ve mesane hasarına neden olur. Aposinin, oksidatif stresini inhibe ederek böbrek ve mesane hasarını iyileştirebilir.

Anahtar S zc kler: Obezite, böbrek, mesane, oksidatif stres, aposinin



ABSTRACT

Histological and biochemical investigation of the effects of aposine on kidney and bladder in high-fat diet-induced obese rats.

Aim: The aim of this study was to investigate the possible protective effects of apocynin (APC) on kidney and bladder damage in high-fat-diet (HFD) induced obesity.

Materials and Methods: Wistar albino male rats were divided into four equal (n=8) groups: Control, HFD, HFD+dimethylsulfoxide (DMSO) and HFD+APC. Experimental groups were fed with standard (control group; 6% fat) or HFD (HFD, HFD+DMSO, HFD+APC groups; 45% fat) for 16 weeks. In the last 4 weeks of the experiment, DMSO (15%) to the HFD+DMSO group and APC (25 mg/kg, dissolved in DMSO) to the HFD+APC group were administered via orogastric gavage. Rat weights were measured every week during the experimental period. At the end of the experiment, rats were decapitated under light ether anesthesia. High-density-lipoprotein (HDL), triglyceride, cholesterol and leptin values were measured in blood serum. Kidney and bladder tissues were prepared for light microscopic examinations. NOX-2, NF κ -B, TGF- β 1 and PCNA positive cells and TUNEL positive cells were evaluated immunohistochemistry or cytochemistry method. Malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and myeloperoxidase (MPO) levels were evaluated biochemically. All of the parameters were evaluated statistically. $P < 0.05$ was considered significant.

Results: The body weight was increased in the HFD and HFD+DMSO groups. Leptin, cholesterol and triglyceride levels increased in these groups. Damage in the renal corpuscles and degenerated tubules, increased collagen in the interstitisyl connective tissue, localized shedding in the urothelium in the bladder, vascular congestion, increased collagen in the muscle layer, increase in degranulated mast cells in the mucosa and muscle layer were observed. Increase in NOX-2, NF κ -B immunopositive and TUNEL positive cells in both kidney and bladder; while an increase was observed in TGF- β 1 immunopositive cells in the kidney. No significant difference was observed between the groups in PCNA immunopositive cells. It was

observed that all these histological and biochemical damage findings decreased in the HFD+APC group who had APC.

Conclusion: High-fat diet causes kidney and bladder damage by increasing NOX-2 activity and inflammation through oxidative stress. Apocynin may ameliorate kidney and bladder damage by inhibiting oxidative stress.

Keywords: Obesity, kidney, bladder, oxidative stress, apocynin



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite; hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde görülen küresel bir problemdir. Genetik faktörler hariç tutulduğunda yağ oranı yüksek gıdaların alımı, düzensiz uyku ve yetersiz fiziksel aktivite obezitenin sebepleri arasında yer almaktadır. Obezite ile metabolik sendrom, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, uyku apne sendromu ve kronik böbrek hastalığı (KBH), aşırı aktif mesane sendromu ve mesane kanseri gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmektedir [1-7].

Obezite, KBH patofizyolojisinde çok yönlü yer almaktadır. Tek başına bir faktör olmasının yanı sıra hipertansiyon ve diyabet oluşturarak da KBH'ye neden olmaktadır [8]. Adipositlerde fazla miktarda lipid birikimi adiposit hipertrofisini tetikler. Vücuttaki yağ dokularının yağ depolama yeteneği aşıldığında ise kas, karaciğer, böbrek ve pankreas gibi dokularda ektopik birikim görülür [9]. Uzun zincirli doymuş yağ asitleri, böbrekte çeşitli hücrelerde birikerek reaktif oksijen türevleri (ROT) üretimini artmasına ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) ve NF- κ B gibi pro-enflamatuvar sitokinler yoluyla glomerüler mezangiyal hücre enflamasyonunu tetiklediği, TGF (Dönüştürücü Büyüme Faktörü) - β 1 sinyalizasyonu ile interstisyel matriks fibrozisine neden olduğu gösterilmiştir [10-12]. ROT mekanizmalarından olan NADPH oksidaz (NOX) artışının TGF- β 1 ekspresyonunu tetiklediği bu nedenle fibrozise neden olduğu gösterilmiştir [13].

Yağ dokusunun enerji deposu olmasının yanı sıra glikoz ve lipid metabolizmasını, kan basıncını ve immün sistemi düzenleyen endokrin görevi vardır. Uzun süreli obezite, yağ doku hipoksisine, hepatik stres yanıtlarına ve sistemik hiperglisemiye neden olur. Bu faktörlerin kombinasyonu, enflamatuvar makrofajların infiltrasyonuna sebep olur ve yağ dokusu enflamasyonu ile sonuçlanır [14]. İnsanlarda ortaya çıkan metabolik sendromun belirti ve bulgularını genetik olmayan kemirgen modelinde geliştirebilmek için Wistar albino sıçanlarda yüksek yağlı diyet (YYD) modeli kullanılmaktadır [15].

Adipoz dokunun hipertrofisi leptin gibi çeşitli adipokinler vasıtasıyla enflamasyon, oksidatif stres, anormal lipid metabolizması, artan insülin ve insülin

direnci üretimini içerir [16]. Daha önceki iki çalışmada leptinin böbrek ve mesanede enflamasyona neden olduğu gösterilmiştir [17, 18]. Yapılan çalışmalarda YYD ile induklenmiş nonalkolik yağlı karaciğer hastalık modeli oluşturulmuş fare böbreğinde leptin aracılı oksidatif hasar ve mezangiyal hücre enflamasyonunun geliştiği [19], mesanede ise detrüör kas hipertrofisi, kolajen birikimi ve epitelyum hipertrofisi meydana geldiği gösterilmiştir [18, 20].

Normal koşullar altında, ROT üretimi, homeostazı koruyan birçok yararlı sinyal yolunu aktive eder, ancak reaktif türlerin aşırı üretimi dokulara zarar verir. YYD ile beslenmede böbrek ve mesanede aşamalı mitokondriyal hasar, elektron taşıma zincirinin verim kaybına, ROT üretiminde daha fazla artışa, ATP üretiminin azalmasına ve hücrelerin fonksiyon görememesine neden olur [3, 21]. Bu nedenle, çeşitli reaktif oksijen ve azot türlerini içeren oksidatif stres, YYD'nin indüklediği üriner sistem hasar patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir [22, 23]. Obezitede ROT artışının olduğu gösterilmiştir [11, 24, 25]. YYD ile induklenmiş obezite modellerinde kardiyovasküler [6], böbrek [4, 19, 26] ve mesanede [3, 27] ROT artışı gösterilmiştir. Artan ROT'un enflamatuvar cevabı tetiklediği, nötrofil kaynaklı enzim olan miyelperoksidazın (MPO) obez bireylerde arttığı [28], NOX inhibisyonu ile bu etkinin önlenemediği gösterilmiştir [29].

Asetovanillon olarak da bilinen Aposinin (APS, 4-hidroksi-3-metoksi-asetofenon), vanilin ile yapısal olarak ilişkili doğal bir organik bileşik olup NOX-2 inhibitörüdür [30]. ROT artışı; hücrede DNA, RNA ve protein hasarına yol açan antioksidan enzim düzeyindeki değişikliğe neden olmaktadır [31]. Çeşitli dokulardaki NOX'lar ve patofizyolojik durumlardaki rolleri, çeşitli NOX inhibitörlerinin *in vitro* ve *in vivo* etkileri araştırılmaktadır [32]. APS'nin, arseniğin yarattığı oksidatif stresin sıçan mesane epitelyum hücreleri üzerine sitotoksitesini kısmen inhibe etme yeteneği gösterilmiştir [33]. Yapılan çalışmalarda sisplatinle oluşturulmuş testis hasarında [34], iskemi/reperfüzyon ile oluşturulmuş testis hasarında [35], YYD ile oluşturulmuş testis hasarında [36]. APS'nin oksidan/antioksidan dengeyi düzenleyerek testis hasarını önleyebileceği gösterilmiştir.

Yapılan alışmalar obezitenin kardiyovasküler hastalıklar, metabolik hastalıklarla birlikte üriner sistem üzerinde de etkisinin olduğunu göstermektedir. Gittikçe artan obezitenin bir halk sağlığı problemi olduğu bilinmektedir. YYD ile indüklenmiş obezite modelinde etkili olacağı düşünülen birçok kimyasal ajan çalışılmıştır. NOX inhibitörü olan APS'nin YYD ile indüklenmiş obezite modelinde böbrek ve mesane hasarı üzerine olası iyileştirici etkilerine yönelik çalışmalar ise sınırlıdır.

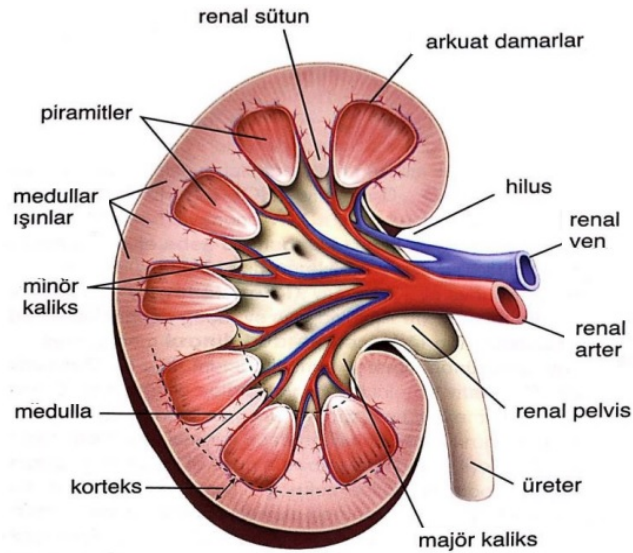
Bu çalışmanın amacı, YYD ile indüklenmiş böbrek ve mesane hasarı üzerine aposininin olası iyileştirici etkilerin histolojik ve biyokimyasal yöntemler ile araştırmaktır. YYD ile indüklenmiş obez sıçanlarda serum kolesterol, trigliserit, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ve leptin düzeyleri, doku oksidatif stres belirteçleri olan malondialdehit (MDA), ve glutatyon (GSH), 8-hidroksi-2'-deoksiguanosin (8-OHdG) ve enflamasyon ile ilişkili belirteç olan myeloperoksidaz (MPO) seviyesi biyokimyasal yöntemler ile değerlendirilmiştir. Böbrek ve mesane morfolojisi, kolajen yoğunluğu, mast hücreleri, hücre proliferasyonu, hücre lm, NOX-2, Nf-kB ve TGF-β1 pozitif hücreler histolojik, histokimyasal ve immünhistokimyasal yöntemler ile değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek ve mesane histolojisi

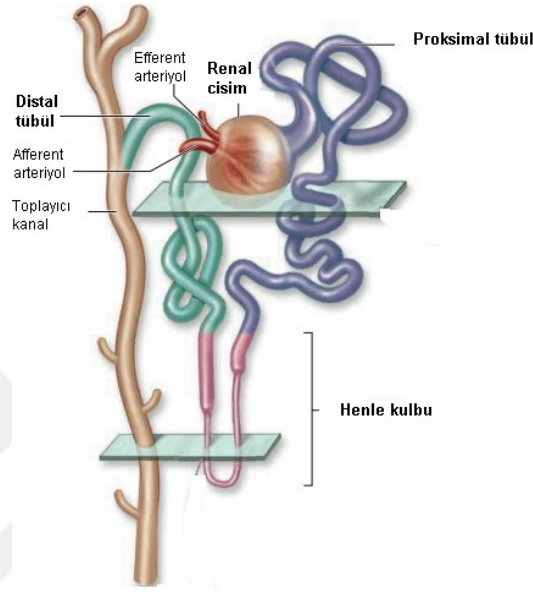
2.1.1. Böbrek histolojisi

Böbrekler retroperitoneal yerleşimli, vertebral kolonun her iki yanında bulunan kapsüllü bir çift organdır. Böbreğin içbükey bir medial sınırında sinirlerin girdiği, üreterin çıktığı ve kan ve lenf damarlarının girip çıktığı hilum ve her ikisi de ince bir fibröz kapsülle kaplı dışbükey bir yan yüzeyi vardır. Böbrek parankimi, dışta çok sayıda glomerül ve tübül bulunan daha koyu renkli korteks; içte toplayıcı kanalların bulunduğu medulladan oluşur (Şekil 1). İnsanlarda meduller kısım, 8-15 adet konik biçimli tabanı kortikomedüller bileşkede, renal papilla isimli tepesi ise minör kalikte bulunan böbrek piramitlerini bulundurur. Medulla tabanından kortekse uzanan paralel tübüller ve kanallar medüller ışınları oluşturur. Bir böbrek lobu, her piramit ve tabanındaki kortikal doku oluşturur, lobülü ise meduller ışın ve ilişkili kortikal dokularından oluşur. Üreterin üst ucu böbrek pelvisi olarak genişleyerek 2-3 major kaliksi, major kaliksler ise küçük kalikslere bölünür [37].



Şekil 1. Böbrek diyagramı [38].

Böbreklerin fonksiyonel birimi olan nefron renal cisimcik ve epiteliyal renal tübülden oluşur. Renal cisimcik glomerüler kapiller ağ ve Bowman kapsülünden; renal tübül ise proksimal tübül, Henle kulbu, distal tübül ve toplayıcı kanallardan oluşur. Kortikal nefronlar neredeyse tamamen kortekste bulunurken, jukstamedüller nefronlar medullaya yakın uzanır ve uzun Henle döngülerine sahiptir [38].



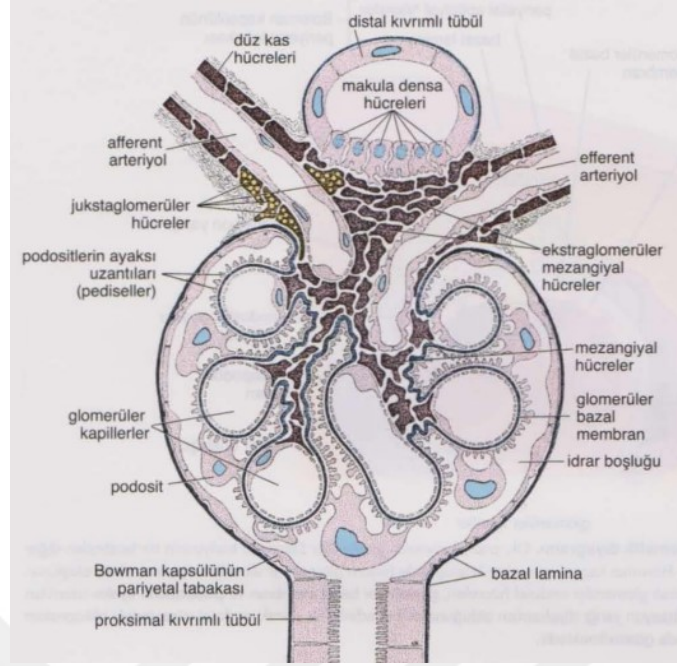
Şekil 2. Nefronun yapısı [37].

Böbreğin kan dolaşımı, fonksiyonu nedeniyle nefronun bileşenleriyle yakından ilişkilidir. Renal arter hilumda iki veya daha fazla bölünerek segmental arteri, renal pelviste dallanarak medüller piramitlerin arasında kortikomedüller bileşkeye doğru uzanarak interlobar arterleri oluşturur. Burada interlobar arterler tekrar bölünerek her renal piramidin tabanı boyunca bir yay halinde uzanarak arkuat arterleri oluştururlar. Arkuat arterlerden ayrılan dallar kortekse derinlerine uzanan interlobüler arterler, interlobüler arterlerden ise glomerüler kapiller ağa katılacak olan afferent arteriyoller ortaya çıkar. Glomerüler kapiller ağ iki arteriol (afferent ve efferent) arasındadır. Efferent arteriyoller, kortikal nefronlarda peritübüler kılcal damarların yapısına katılır; juxtaglomerular nefron çevresindekiler ise peritübüler kılcal damarlar oluşturmak yerine Henle kulbu ve toplama kanalları ile birlikte medullanın derinliklerine nüfuz eden vaza rectaya katılırlar. Kan, böbreği arterlerle aynı rotaları izleyen ve aynı isimlere sahip venlere bırakır. Böbrek kapsülündeki en

dıştaki peritübüler kılcal damarlar, interlobüler damarlara boşalan küçük stellat damarlarla birleşir [38].

Böbrek filtrasyon, sekresyon ve yeniden emilim fonksiyonları vardır. Filtrasyon işlemi renal cisimcikte, sekresyon ve yeniden emilim ise nefronun tübüler kısmında yapılır. Bowman kapsülünün tek katlı yassı epitelden oluşan pariyetal tabakası ile visseral tabakası arasındaki boşluğa Bowman boşluğu (mesafesi) denir ve filtrasyon bariyerini geçen ultrafiltrat buraya süzülür. Glomerüler filtrasyon bariyerin visseral epitel diğer ismiyle podositlerden uzanan pediseller, pencereci kapiller endotel ve bu iki yapı arasını dolduran bazal membran oluşturur. Pediseller arasında fermuar benzeri yarı diyaframları, yarığının her iki tarafındaki hücre zarından çıkıntı yapan çeşitli anyonik glikoproteinler, proteoglikanlar ve endotel hücresi ile arada bulunan bazal membran filtrasyon işlemini yük ve boyut seçici kılar [37].

Renal cisimcik kapiller endotel hücreleri, podositlere ek olarak mezangiyal hücreleri de içerir. Mezangiyal hücreler, glomerülün vasküler sapında ve komşu glomerüler kapillerlerin aralarındaki boşluklarda belirgindir (Şekil 3). Glomerüler bazal membran tarafından çevrelenmesi yönüyle perisitlere benzerdir. Ekstraglomerüler yerleşimli olanlar ise jukstaglomerüler aparatın bir parçasıdır ve lacis hücreleri denir. Glomerüler bazal membranın yapı ve fonksiyonunu korumak için artık ürün veya immüno kompleks birikimleri fagosite ederek uzaklaştırır. Mezangiyal matriks bileşenlerini üretir. Glomerüler bazal membranın bulunmadığı ya da tam olmadığı alanlarda podositler için destek sağlar. Kontraktil özelliği sayesinde kan basıncı değişikliklerine yanıt olarak glomerüler distansiyonunu düzenler. Glomerüler hasara cevap olarak İnterlökin-1, prostaglandin E₂ ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü sentezleyip salgılayabilir [38].



Şekil 3. Renal cisimciğin yapısı [38].

Proksimal Kıvrımlı Tübül: Glomerül pariyetal epitel tek katlı yassı iken glomerülün tübül kutbuna doğru geldiğinde kübik hale gelerek proksimal tübülü oluşturur. Korteksin çoğunu doldurur. Proksimal tübül epitel hücreleri, bol mitokondri nedeniyle çekirdekleri merkezdedir, asidofilik sitoplazmaya sahiptir. Mikrovillusların oluşturduğu iyi gelişmiş fırçamsı kenar bulunan glikokaliks tabakası sebebiyle periyodik Asit Schiff (PAS) pozitif boyanan apikal yüzeyi vardır. Hücreler lateral yüzeyde birbirine zonula okludens ve zonula adherens ile bağlanmıştır. Tübüler geri emilimin büyük bir kısmının ve sekresyonun olduğu yerdir. Hem aktif hem de pasif mekanizmalarla transselüler emilim sağlayan çeşitli transmembran enzimler ve taşıyıcı proteinlere sahiptir. Ultrastrüktürel olarak, bu hücrelerin apikal sitoplazması, mikrovillus tabanlarının yakınında, aktif endositoz ve pinositozu gösteren çok sayıda çukur ve veziküle sahiptir. Bu veziküller, dolaşıma salınan aminoasitlerle lizozomlarda bozunacak küçük, yeniden emilen proteinleri içerir. Proksimal tübül hücreleri ayrıca birçok uzun bazal membran invajinasyonuna ve komşu hücrelerle lateral interdijitasyonlara sahiptir. Bazal invajinasyonlar boyunca yoğunlaşan uzun mitokondri aktif taşınımında yer alan membran proteinleri için ATP sağlar. Lateral membranların geniş interdijitasyonları nedeniyle, proksimal tübülün hücreleri arasındaki ayırık sınırların ışık mikroskobu ile görülmesi zordur. Proksimal

tübüllerin yakınındaki kortikal bölgelerdeki fibroblastik interstisyel hücreler, lokal oksijen konsantrasyonunda uzun süreli bir azalmaya yanıt olarak salgılanan büyüme faktörü olan eritropoietin üretir [37].

Henle kulbu: Proksimal tübül epiteli düz tübül kısmı Henle kulbu olarak devam eder. İnen kolu pasif difüzyon ile emilim görüldüğünden hücreler daha ince ve daha az sayıda organel içerir. Yükselen kol ise dış medullada tekrar tek katlı kübik epitel ve birçok mitokondri ile daha kalındır, glomerülünün yakınındaki makula densaya kadar uzanır. İnce inen kol sadece suya, çıkan kalın kol ise su hariç elektrolit ve üreye karşı geçirgen olması, ayrıca interstiyel bağ dokuda bulunan vaza rektanin inen ve yükselen kapiller kısımların kan akımı Henle kulbu zıt akım yönüne sahip olması hiperozmotik interstisyumun korunmasına yardımcı olur [37].

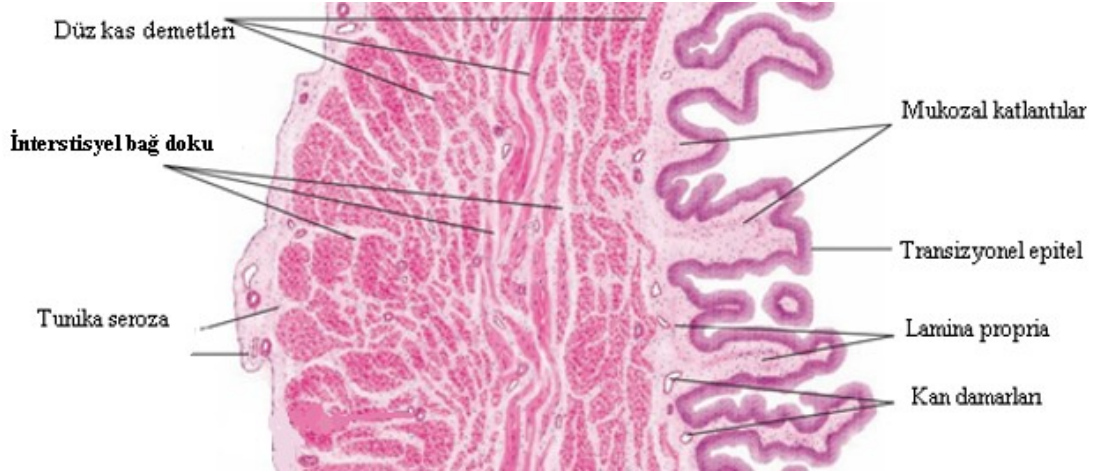
Distal kıvrımlı tübül ve Jukstaglomerular aparat: Henle kulbunun çıkan kolunun devamı olan kısım kortekse girerken düzdür, kortekste kıvrımlı hale gelir. Distal tübülün kıvrımlı kısmı tek katlı kübik epitelden oluşur. Proksimal tübül hücrelerine göre daha kısa, daha az mitokondriye, daha az fırçamsı kenara, daha fazla geniş lümen ve daha çekirdek yoğun görünümüne sahiptir. Burada sodyum emilim oranı, adrenal bezlerden aldosteron tarafından düzenlenir. Distal tübülün düz kısmı, nefronunun renal cisimciğin damar kutbundaki arteriyollere temas ettiğinde, hücrelerin yüksekliği artar ve makula densayı oluşturur. Jukstaglomerular aparat; makula densa, renal cisimciğin damar kutbunda bulunan arteriyol duvarında bulunan jukstaglomerüler hücre ve ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerden oluşur. Makula densa hücreleri tipik olarak apikal çekirdeklere, bazal Golgi komplekslerine ve daha ayrıntılı ve çeşitli iyon taşıma kanallarına sahiptir. Makula densanın bitişiğindeki afferent arteriyolün tunika medyasında yer alan düz kas hücreleri, daha yuvarlak çekirdekler, granüllü endoplazmik retikulum, Golgi kompleksleri ve renin salgısı üreten içeren jukstaglomerüler hücreler olarak modifiye edilir. Jukstaglomerular aparat, glomerüler kan akışını ve glomerüler filtrasyon hızını düzenlemek için özelleşmiştir. Yüksek arter basıncı, glomerüler kapiller kan basıncını arttırarak glomerüler filtrasyonu arttırır. Bu durumda, makula densa hücrelerinin lümeninde sodyum ve klor konsantrasyonu artar. Bu hücrelerden glomerüler basıncı düşüren ve afferent arteriyolün kasılmasını tetikleyen ATP, adenosin gibi vazodilatör bileşiklerin serbest bırakılmasına neden olur ve tübüler iyon konsantrasyonlarını düşürür. Azalmış

arter basıncı durumunda ise, afferent arteriyoldeki lokal baroreseptörler stimülasyonun artmasına ve bu da jukstaglomerüler hücrelerinden kana renin salınmasına neden olur. Renin, plazma proteini inaktif anjiyotensinojeni anjiyotensin-1'e böler. Akciğer kılcal damarlarındaki anjiyotensin dönüştürücü enzim, bunu doğrudan sistemik kan basıncını yükselten ve adrenallerden aldosteron salınımını uyaran güçlü bir vazokonstriktör olan anjiyotensin II'ye çevirir. Aldosteron, kan basıncını arttırmaya yardımcı olmak için kan hacmini yükselten distal kıvrımlı ve toplayıcı tübüllerde sodyum ve suyun yeniden emilimini artırır. Normal kan basıncının geri dönüşü, jukstaglomerüler hücreler tarafından renin salgılanmasını sonlandırır [37].

Toplayıcı tübül: Distal kıvrımlı tübüller toplayıcı tübül ve kanallar olarak devam eder. Bellini papiller kanalları olarak da bilinen toplayıcı kanallar, renal piramidlerden papillaya doğru giderek genişler. Toplayıcı tübüller ve kortikal toplayıcı kanallar tek katlı yassı-kübik epitelle döşeliyken, medüller toplayıcı kanalları kübik epitel ve daha geniş kanallar tek katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Toplama kanal ve tübül epiteli 2 tip hücreden oluşmaktadır. Esas soluk boyanan ve daha çok sayıda bulunan açık hücreler, bazal plazma membran katlantıları, bir adet monosilyum, birkaç adet mikrovillus içeren hücrelerdir. Sitoplazmalarında yuvarlak ve küçük mitokondriler bulunur. Diğer hücre tipi olan koyu hücreler ise çok miktarda mitokondri içerir, apikallerinde mikrovillus veya mikropilika bulunmaz. Bazal plazma membran katlantıları yoktur. Asit-baz dengesinin korunmasına yardımcı olur [38].

2.1.2. Mesane histolojisi

Mesane pelviste simfisis pubisin arkasında yer alır. Görevi idrarı depolamak ve dolu olduğunda peristaltik hareketlerle idrarın iletimini sağlamaktır, Mesane, idrarın iletimini sağlayan kaliks, renal pelvis ve üreterle benzerlik gösterir: lümeniden dışa doğru ürotelyum olarak adlandırılan değişici epitel bulunan mukoza, müsküler ve adventisya tabakalarını bulundurulur [39]. Lümeni boşken oluşan mukozal kıvrımlar mesane doluyken kaybolurlar (Şekil 4).

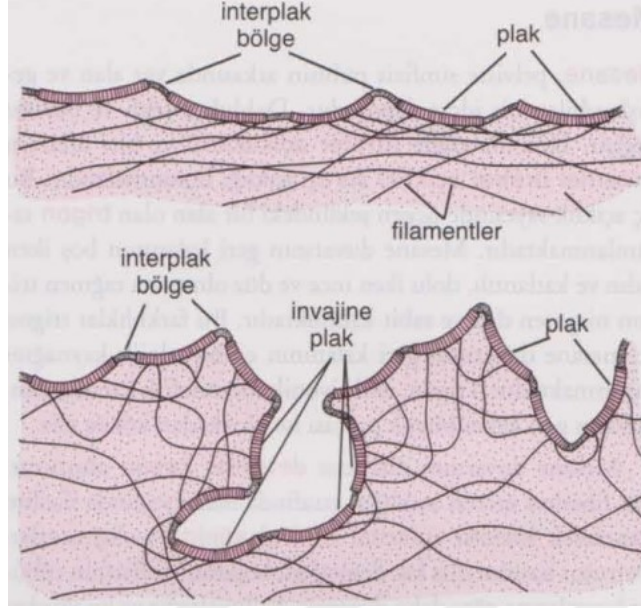


Şekil 4. Mesanenin tabakaları (enine kesit) [39].

Ürotelyum olarak üç katmandan oluşur:

- Tek katlı küçük bazal hücrelerden oluşan bazal tabaka
- Katmanları hacime bağlı değişebilen bir ara tabaka
- Şemsiye hücrelerinin bulunduğu yüzeyel tabaka

Şemsiye hücreleri eliptik yüzeye sahiptir ve idrarla temasın en fazla olduğu lümene yakın yerleşimlidir. Apikal yüzeyin çoğu, dış lipit tabakasının bölgelerinin görüldüğü asimetrik birim membranlardan oluşur. Ultrastrüktürel olarak apikal membranları çevreleyen geniş hücreler arası birleşme komplekslerine sahiptir. Bu birleşme bölgeleri, sertleştirilmiş plakların parakristalin dizileriyle bir araya gelen üroplakinler isimli integral membran proteinlerini içeren lipit sallarından oluşur. Bu membranöz plaklar, sıkı kavşaklarla birlikte, bu epitelin hücrelerini ve çevresindeki dokuların hücrelerini hipertonic idrardan koruyan ve depolanan idrarın seyreltilmesini önleyen ozmotik bir bariyer görevi görmesini sağlar. Plaklar, tipik zarın daha dar bölgeleri tarafından birbirine kenetlenir [37]. Mesane boşaldığında hem mukozal katlantılar oluşur, hem de şemsiye hücrelerinin membranı birleşme bölgelerinde katlanarak fuziform vezikülleri oluşturarak apikal yüzey alanlarını azaltır (Şekil 5).



Şekil 5. Mesanenin apikal plak planı [38].

Mesane dolu olduğunda, bu veziküller apikal membrana yeniden katılır, sıkı kavşaklar yeniden düzenlendikçe ve hücrelerin yüzeyi daha düzleştikçe yüzey alanı artar. Ürotelyumunun kalınlığı, artan idrar hacmine uyum sağlamak için ara tabakadaki hücrelerin itilmesiyle 5-7 sıra hücre tabakasından 2-3 sıra hücre tabakasına iner. Ürotelyum yoğun düzensiz bağ dokusu olan bir lamina propria ve submukoza ile çevrilidir, ardından iç içe geçmiş düz kas tabakaları ve adventisya vardır. Anatomik olarak detrusor kası olarak isimlendirilen kas tabakası üç katmandan oluşur ve mesaneyi boşaltmak için kasılır. Mesanenin peritonla kaplı üst kısmı seröza ve geri kalan dış kısmı adventisyel bir tabaka ile kaplanır [37].

2.2. Obezite

2.2.1. Obezite tanım, epidemiyoloji ve etiyolojisi

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından sağlığı bozacak ölçüde yağ dokularının hiperplazisi ve hipertrofisi olarak tanımlanmakta olup 2016 yılı verilerine göre, dünya nüfusunun fazla kilolu ve obez yetişkinlerin prevalansı %38,9'dur [7]. Obezite, dünya çapında yaygınlaşan bir halk sağlığı problemidir. Hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde bir sağlık sorunu olarak kabul edilir. Ülkemizde de obezitede artış eğilimi görülmektedir. Ülkemizde 1990 yılında yetişkin

nüfusun %18,8'i obez iken 2010 yılında %36' ya yükselmiştir [40]. Obezite sınıflaması, kilo/boy² formülü ile elde edilen vücut kitle indeksi (VKİ) ile yapılmakta olup 25-29,9 arasında olanlar “fazla kilolu” ve 30’dan fazla olanlar “obez” olarak tanımlanır [7].

Obezitenin etyolojisinde genetik faktörler hariç tutulduğunda yağ oranı yüksek olan enerji yoğun gıdaların alımı, düzensiz uyku ve yetersiz fiziksel aktivite yer almaktadır [7, 41, 42]. Diyet ile yüksek düzeyde kalori alımı, obezite, metabolik sendrom, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, uyku apne sendromu, kronik böbrek hastalığı, aşırı aktif mesane ve kanser gibi birçok hastalık ile ilişkilendirilmektedir [2, 3, 5, 43].

2.2.2. Obezitenin böbrek ve mesane üzerine etkileri

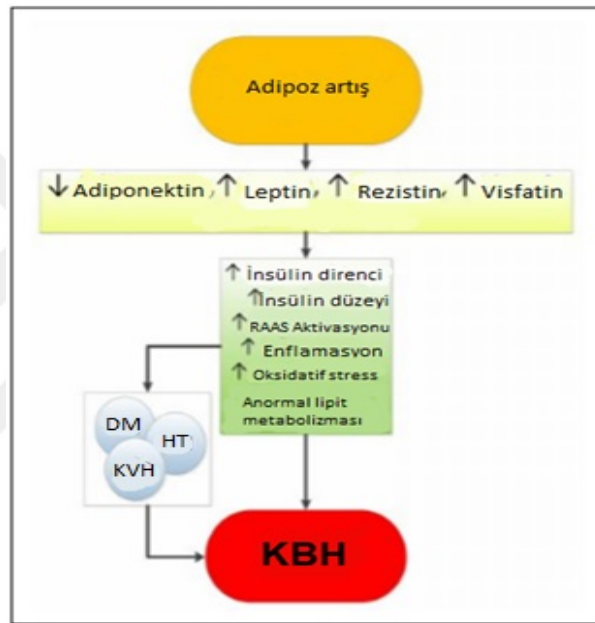
Obezite ile ilişkili böbrek hastalığının patofizyolojisi karmaşık ve çok faktörlüdür. Obezite, hipertansiyon ve diyabet ile KBH’ye sebep olabileceği gibi, KBH için bağımsız bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir [8, 26]. KBH dünya çapında, son dönem böbrek yetmezliği ve kardiyovasküler komplikasyonlara yol açan büyüyen bir sağlık sorunu olup Türkiye’de KBH prevalansı % 15,7’dir [44]. Obezitenin artmasıyla birlikte KBH popülasyonunun artışı olacağı öngörülmektedir.

Adipositlerde fazla miktarda lipid birikimi adiposit hipertrofisini tetikler. Vücuttaki yağ dokularının yağ depolama yeteneği aşıldığında ise kas, karaciğer, böbrek ve pankreas gibi dokularda ektopik birikim görülür [9]. Yağ dokusu; enerji deposu olmasının yanı sıra glikoz ve lipid metabolizmasını, kan basıncını ve immün sistemi düzenleyen endokrin görevi vardır. Uzun süreli obezite, yağ doku hipoksisine, hepatik stres yanıtlarına ve sistemik hiperglisemiye neden olur. Bu faktörlerin kombinasyonu, enflamatuvar makrofajların infiltrasyonuna sebep olur ve yağ dokusu enflamasyonu ile sonuçlanır[14].

Renal lipid birikimi; mezangiyal hücrelerde, podositlerde ve proksimal tübül hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olabileceğine dair kanıtlar vardır [45]. Renal proksimal ve distal tübüler epitel hücreleri, podositler, mezangiyal hücreler, mikrovasküler endotel hücreleri ve interstisyel makrofajlarda yağ asidi

alımı görülmektedir [46]. Bu durum YYD ile beslenme sonucu KBH gelişimi ve ilerlemesinde merkezi bir rol oynayabilir.

Ayrıca komorbid hastalıklardan bağımsız olarak da adipoz dokuda artış çeşitli adipokinler vasıtasıyla enflamasyon, oksidatif stres, anormal lipit metabolizması, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivasyonu ve artan insülin ve insülin direnci üretimini içerir [16]. Daha önceki çalışmalarda leptin [19], adiponektin ve rezistin gibi çeşitli adipokinlerin böbreklerde [47] spesifik patolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 1).



Şekil 6. Obezitenin kronik böbrek hastalığına sebep olan mekanizmalar. DM: Diabetes mellitus; HT: Hipertansiyon; KVH: Kardiyovasküler hastalık; RAAS: Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi [47].

Obezite ile ilişkili mesane çalışmaları histopatolojik olarak ürotelyum ve detrüör kas hipertrofisi, kas lifleri arasında kolajen birikimi [20] ve aşırı aktif mesane sendromu [27] olduğu görülmüştür.

2.3. Oksidatif Stres ve Aposinin

Serbest radikal, dış yörüngesinde eşlenmemiş elektron içeren molekül olarak tanımlanır. Eşlenmemiş elektron varlığı molekülü kararsız, kısa ömürlü ve oldukça reaktif yapar. Genelde azot ve oksijen kaynaklıdır. Hidrojen peroksit, süperoksit,

nitrik oksit, azot dioksit, peroksinitrit birer örnektir. Endojen olarak mitokondride elektron transport sisteminden, nötrofil ve makrofajdan myeloperoksidaz, ksantin oksidaz, sitokrom oksidaz, NOX gibi enzimlerle üretilir. Ekzojen olarak asbest, formaldehit gibi hava kirleticileri, UV, gamma, X-ışınları ve çeşitli ksenebiyotikler vücutta serbest radikal üretimine neden olur [48]. Stabil hale geçebilmek için serbest radikaller lipid, protein ve DNA gibi bileşiklerle etkileşime geçerek hasar oluştururlar. Etkileşime geçtiği molekül kararsız hale gelir ve organizmadaki işlevi bozulur. Bu nedenle, ROT zararlarından korunmak için vücutta antioksidan glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz gibi enzimlerin yanı sıra GSH, E vitamini, C vitamini bulunur [34].

NOX, çok çeşitli uyarılara yanıt olarak ROT üreten çok bileşenli bir transmembran flavoprotein enzim kompleksidir. NOX ailesi, NOX1-5 ve Dual Oksidaz1-2 olmak üzere yedi üyeden oluşan çok bileşenli bir enzimdir. Doğal bağışıklık, mitojenik sinyal, hormon sentezi, apoptoz, anjiyogenez ve hücre dışı matriks ve proteinlerin oksidatif modifikasyonunda anahtar rol oynar [30]. Nötrofil ve makrofaj gibi enflamatuvar hücrelerde bulunmasının yanı sıra üriner sistem hücrelerinde yaygın olarak dağılmış olduğu ve NOX'un anormal ekspresyon düzeyinin üriner sistem hasarıyla yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir [33, 49].

NOX-2 ve NOX-4 renal tübüler epitel hücrelerinde ve fagositer hücrelerde yüksek oranda eksprese edilirler. NOX'un inhibisyonunun, Toll Like Receptor 4 ve NF-κB sinyalini azalttığı, pro-enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir [50]. Böbreklerde eksprese edilen NOX-1, NOX-2 ve NOX-4'ün KBH'de oksidatif stres aracılı merkezi bir rolü olduğu, vasküler enflamasyon, disfonksiyon ve fibroze sebep olduğu gösterilmiştir [23].

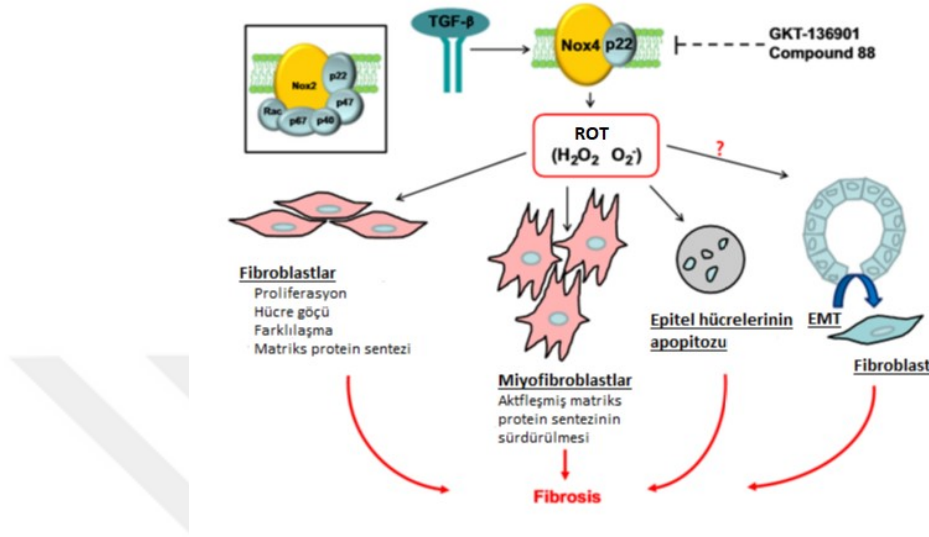
Asetovanillon olarak da bilinen APS (4-hidroksi-3-metoksi-asetofenon), vanilin ile yapısal olarak ilişkili doğal bir organik bileşiktir. İlk olarak Schmiedeberg tarafından 1883'de tanımlanmış, *Apocynum cannabinum*'un (Kanada keneviri) köklerinden izole edilmiş ve ekstraktları kalp rahatsızlıkları için resmi ilaç olarak kullanılmıştır. 1971'de geleneksel Hindistan tıbbında tanınan Hindistan, Nepal, Tibet ve Pakistan dağlarında yetiştirilen yerel bir bitki olan *Picrorhiza kurroa*'nın (*Scrophulariaceae*) kökünden immünomodülatör bileşenlerinin izolasyonu sırasında

APS varlığı gösterilmiştir. APS, 166.17 molekül ağırlığına sahip bir asetofenondur ve sudan kristalleştikten sonra iğneler oluşturmaktadır. Zayıf bir vanilya kokusu vardır ve 115 °C'lik bir erime noktasına sahiptir [51]. APS, p47phox ve p67phox'un gp91phox ile ilişkisini bloke ederek NOX'u inhibe eder [29]. Son yıllardaki araştırmalar NOX'un, ROT'un ana kaynağı olduğunu göstermektedir. ROT artışı; hücrede DNA, RNA ve protein hasarına yol açan antioksidan enzim düzeyindeki değişikliğe neden olmaktadır [52]. Çeşitli dokulardaki NOX'lar ve patofizyolojik durumlardaki rolleri, çeşitli NOX inhibitörlerinin *in vitro* ve *in vivo* etkileri araştırılmaktadır [32].

2.4. Fibrozis

Fibrozis kronik böbrek hastalığı gibi pek çok patolojik durumlarda doku onarımı sırasında kontrolsüz yara iyileşme yanıtlarından kaynaklanır [53]. TGF- β çok fonksiyonlu bir proteindir, fibroblastların yara bölgesine alımını ve yapısal matris proteinlerinin sentezini teşvik eder [54]. TGF- β doku onarımı esnasında infiltrate olan enflamatuvar hücreler, parankimal hücreler ve trombositlerden üretilir [55]. TGF- β 'nın profibrotik aktivitesi, anjiyotensin 2, trombospodin 1 gibi endojen faktörlerle düzenlendiği gösterilmiştir [56]. TGF- β , fibrogenez için gerekli fibroblastların üretimi ve mobilizasyonu için çok önemli bir araçtır. Hasarlı dokulardaki fibroblast kaynağı, TGF- β ile kısmen uyarılan dokudaki yerleşik fibroblastların çoğalması ve yaralı bölgeye göç etmesiyle olabileceği gibi [57], epitelyal hücrelerin mezenkimal hücre formuna geçmesi veya kemik iliği orijinli olabilmektedir [58]. Hasarlı dokularda tanımlanan fibroblastlar, matriks proteinlerinin üretiminden sorumludur. TGF- β , fibroblastın miyofibroblasta dönüşümünü uyarır, matriks proteinlerin birikimini daha da artırır. TGF- β yeni sentezlenen matriks proteinlerini birikimini önlemek için matriks yıkan enzim olan metaloproteinazların ekspresyonunu inhibe eder ve matriks metaloproteinaz inhibitörlerinin ekspresyonunu uyarır [54]. TGF- β proteinini doğrudan hedef alan tedaviler, aracılık ettiği fizyolojik fonksiyonları nedeniyle istenmeyen sistemik yan etkiler görülebilir [59]. Bu nedenle, TGF- β ile indüklenen fibrotik süreçte yer alan sinyal yollarının keşfedilmesi, çeşitli fibrotik bozukluklar için yeni tedavi stratejilerinin keşfinde faydalı bilgiler sağlayabilir.

Birtakım çalışmalar NOX'a bağımlı redoks sinyalleşmesinin TGF- β aracılı profibrotik süreçte etkisinin olduğunu vurgulamaktadır (Şekil 2).



Şekil 7. TGF- β sinyal yolağı ile NOX-2 ve NOX-4 etkileşimi. EMT: Epitelial Mezenkimal Transformasyon [13].

Tüm kronik böbrek hastalıklarının bir özelliği olan fibrozis, artık hastalığın ilerlemesinin bağımsız bir öngörücüsü olarak kabul edilmektedir. Glomerüler kapillerde, interstisyel boşlukta ve arteriyollerin etrafında patolojik matris birikimi vasküler fonksiyon kaybına sebep olur [60].

NOX ile türetilmiş ROS, fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasına ve hücre dışı matris proteinlerinin sentezinin bozulmasına sebep olur, TGF- β aracılı fibrozisi kolaylaştırır. NOX'un uyarımıyla üretilen ROS, epitel hücrelerinin apoptozuna da sebep olur. TGF- β aracılı kolajen ekspresyonunda NOX'un bu tür modüle edici etkileri, böbrek fibroblastlarında gözlenmiştir [61]. TGF- β 1 yolağının hastalığa özgü aşağı düzenlemesi (down regülasyon), KBH için alternatif bir terapötik hedef ve prognostik belirteç olarak hizmet ettiği ileri sürülmüştür [62].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen ve Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunca onaylanan (09.2020.mar) yetişkin erkek Wistar albino sıçanlar (8 haftalık, 200-250 gr) kullanılmıştır. Deney süresince sıçanlar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüsünde, oda ısısında ve kafeslerde en fazla 6 hayvan olacak şekilde muhafaza edilmiştir.

3.2. Deney Grupları

Deney hayvanları rastgele seçilen dört gruba (her grupta n=8) ayrılmıştır. Kontrol grubundaki sıçanlara 16 hafta boyunca standart sıçan yemi, YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarındaki sıçanlara 16 hafta boyunca %45 yüksek yağlı yem verilmiştir. Deneyin son 4 haftasında yüksek yağlı yeme ilave olarak YYD+APS grubundaki sıçanlara %15'lik DMSO'da çözülmüş APS (25 mg/kg), YYD+DMSO grubuna %15'lik DMSO orogastrik gavaj ile uygulanmıştır. APS dozu daha önce antioksidan özelliği gösterilen çalışmaya göre belirlenmiştir [34]. Her dört gruptaki hayvanlara her gün normal içme suyu verilmiştir (Tablo 6). Deney öncesinde, deney sürecinde periyodik olarak haftada bir gün ve deney sonrasında sıçanların ağırlığı ölçülmüştür.

3.3. Biyokimyasal İncelemeler

Sıçanlar deneyin son günü hafif eter anestezisi altında dekapitasyon yöntemi ile sakrifiye edilmiştir. Toplanan kan örnekleri ependorf tüpüne alınarak oda sıcaklığında, 1500 rpm hızda 10 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum ve böbrek ve mesane dokuları biyokimyasal analizler yapılana kadar -20°C'de saklanmıştır.

Tablo 1. Çalışmada oluşturulan gruplar.

Grup Adı	Beslenme İçeriği	Süre	Veriliş Şekli
Kontrol (n=8)	Standart Yem	16 hafta	<i>Ad Libitum</i>
YYD (n=8)	Yüksek Yağlı Yem	16 hafta	<i>Ad Libitum</i>
YYD+DMSO(n=8)	Yüksek Yağlı Yem	16 hafta yüksek yağlı yem+ Son 4 hafta %15'lik DMSO	<i>Ad libitum</i> + Orogastrik gavaj
YYD+APS (n=8)	Yüksek Yağlı Yem	16 hafta yüksek yağlı yem+ Son 4 hafta 25mg/kg APS	<i>Ad libitum</i> + Orogastrik gavaj

3.3.1. Serumda HDL, trigliserit, total kolestrol ve leptin düzeyi ölçümü

Serumda HDL, trigliserit, total kolestrol, leptin parametreleri ölçülmüştür. Analizler sıçana özgü ELISA ticari kitleri (Biont Rat ELISA kit) kullanılarak yapılmıştır. Buzdolabında muhafaza edilen kitler 10-20 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kit prosedürlerine göre standartlar seyreltilerek hazırlanmıştır. 10-20 dk boyunca oda sıcaklığında bekletilen serum örnekleri 3000 rpm'de santrifüjlenmiş ve süpernatantı toplanmıştır. İlk inkübasyon öncesinde kör kuyularına hiçbir şey konulmamış ancak standart kuyularına 50 µl +50 µl streptavidin konulmuştur ve 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiştir. Inkübasyon öncesinde hafifçe çalkalanıp inkübatöre konulmuştur. Inkübasyon sonrasında her küvete 0,35 mL yıkama solüsyonu konulmuştur ve iyice emilmesi beklenilmiştir. Sonrasında yıkama solüsyonu havlu kağıda silkelenerek dökülmüştür. Bu işlem 5 kere tekrar edilmiştir. Yıkama yapıldıktan sonra kör ve standartlar da dahil olmak üzere her kuyuya önce kromojen solüsyon A 50 µl, sonra ışıktan korunması gereken kromojen solüsyon B karanlık ortamda yine 50 µl olacak şekilde eklenmiştir. Karışması için nazikçe çalkalanıp 10 dakika 37 °C' de inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında her bir kuyuya 50 mikrolitre durdurma solüsyonu eklenmiştir. Durdurma solüsyonu koyduktan sonra 10 dakika içerisinde ELISA Reader'a (Epoch Biotek) alınmıştır. ELISA Reader yardımıyla 450 nm'de ölçüm yapılmıştır. Absorbansların elde edilmesinin ardından absorbans-konsantrasyon grafiği çizilmiştir.

3.3.2. Doku MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO düzeyi ölçümü

Dekapassitasyon sonrası alınan doku örneklerinde MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Deney sonunda alınan ve -20 °C’de muhafaza edilen dokular, ısının 2-8 °C’de olmasına özen gösterilerek çözdürülmüştür ve küçültülerek ağırlıkları tartılmıştır. Tüpün içine konulan dokuya PBS (Fosfat tamponlu salin) %10’luk homojenat olarak eklenmiştir. Örnekler homojenizatör ile homojenize edilmiştir ve 3000 rpm’de 20 dk santrifüj edilerek süpernatantlar dikkatlice toplanmıştır. Kan serumlarında uygulanan ELİSA prosedürü, toplanan süpernatantlara da uygulanmıştır ve ELİSA Reader yardımı ile 450 nm’de ölçüm yapılmıştır. Absorbanslar elde edildikten sonra absorbans-konsantrasyon grafiği oluşturulmuştur.

3.4. Histolojik Preparasyon ve Histopatolojik Skorlama

Işık mikroskopik değerlendirmeler için böbrek ve mesane dokuları %10 formaline alınarak 72 saat boyunca fikse edilmiştir. Yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilen dokular dehidrate edildikten sonra 2x10 dk ksilende tutularak şeffaflaştırılmıştır. Gece boyunca 60°C’de etüv içerisinde parafinde bekletilen örnekler gömme cihazı kullanılarak kasetler içerisinde bloklanmıştır. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında alınan kesitlere genel morfolojik değerlendirme yapabilmek amacıyla hematokslin ve eozin (H&E), kolajen yoğunluğunu değerlendirmek için pikrosirius kırmızısı, apikal hücre membranı ve bazal membran değişimlerini değerlendirmek için periyodik asit-Schiff (PAS) ve mesanede mast hücrelerini değerlendirmek amacıyla asitli toludin mavisi (pH:2-3) boyaları uygulanmıştır. Boyanan kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) ile incelenerek dijital kamera (Olympus DP72, Tokyo, Japonya) ile fotoğraflanmıştır.

H&E ile boyanan kesitlerde rastgele belirlenen ve birbirine denk gelmeyen x20’lik objektif ile ortalama 5 alan incelenip yarı nicel olarak puanlanmıştır (0: hasar yok, 1: hafif hasar, 2:orta hasar, 3: ciddi hasar). Böbrek kesitleri; Bowman aralığında genişleme, glomerüler konjesyon, tübüler lümende hücre döküntüsü ile tübüler hasar olarak değerlendirilerek skorlanmıştır [63]. Mesane kesitleri için histopatolojik skorlama sisteminde ürotelyum hasarı, mukozal enflamatuvar hücre infiltrasyonu,

mukoza ve kas enflamatuvar hücre infiltrasyonu yönünden değerlendirilerek skorlanmıştır [64]. En yüksek histopatolojik hasar skoru 9 olarak belirlenmiştir.

Pikrosirius kırmızısı ile boyanan kesitlerde 5 farklı alandan böbrek için x20 objektif ve mesane için x10 objektif ile elde edilen fotoğraflar Image J programı kullanılarak değerlendirilmiştir ve boyalı alanların yüzdesi hesaplanmıştır.

3.5. İmmunohistokimyasal Yöntemler

Deney hayvanlarından elde edilen dokularda NOX-2, NF- κ B, TGF- β 1 ve proliferaing cell nükleer antigen (PCNA) immünohistokimya prosedürleri uygulanmıştır. Yaklaşık 4 μ m kalınlığında alınan kesitler pozitif şarjlı lamalar üzerine alınmıştır, sonrasında 2 saat 58°C sıcaklığında etüvde bekletilmiştir. Deparafinizasyon için kesitler ksilende tutulmuştur. Daha sonra, %96'lık alkolde bekletilen kesitler %3'lük H₂O₂ solüsyonda 10 dk bekletilmiştir ve endojen peroksidaz aktivitesinin blokajı yapılmıştır. Distile su ile yıkanan kesitler antijen geri kazanımı için önceden ısıtılmış sitrat tampon solüsyonuna alınmıştır. Mikrodalgada 200 W enerjide, 20 dk boyunca bekletilen dokular daha sonra 20 dk oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine bloklama solüsyonu damlatılarak 20 dk bekletilmiştir. Kesitler üzerindeki bloklama solüsyonu uzaklaştırıldıktan sonra gece boyunca +4°C'de primer antikor (NOX-2: , 1/200, Bioss, kat no: bs-3889R; NF- κ B: 1/1000, Cell-Signaling, kat no:8242; TGF- β 1:1:200, Santa Cruz, kat no: sc-130348 ve PCNA: 1:200, Abcam, kat no:ab152112) ile inkübe edilmiştir. PBS ile yıkanan kesitlere biyotinlenmiş sekonder antikor (SHP125, ScyTek Laboratories, Inc. USA) damlatılmıştır ve 20 dk bekletilmiştir. Tekrar PBS ile yıkanan kesitlerin üzerine HRP (horse-radish peroksidaz) solüsyonu damlatılarak 20 dk bekletilmiş ve kesitler son kez PBS solüsyonunda yıkanmıştır. Kesitlere sıvı diaminobenzidin (DAB) kromojeni(DAB Chromogen/Substrate Bulk Pack, ACK500, ScyTek Laboratories, Inc. USA) uygulanmıştır ve Mayer hematoksilen ile zıt boyama yapılmıştır. Son olarak, %96'lık alkolden geçirilen kesitler entellan ile kapatılmıştır. İmmunhistokimyasal boyamaların negatif kontrolü primer antikor basamağında primer antikor yerine PBS kullanılarak negatif kontrol preparatları hazırlanmıştır. Rastgele seçilen 5 farklı

alandan NOX-2 ve NF- κ B için x20 objektif, TGF- β 1 içinse x40 objektif ile elde edilen fotoğraflarda immünpozitif boyanma alanlarının yüzdesi Image-J programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.6. TUNEL Metodu

TUNEL metodu üretici firmanın (ApopTag Plus, In Situ Apoptosis Detection Kit, S7101, Millipore) verdiği kullanım kılavuzundaki yöntemine göre yapılmıştır. Pozitif şarjlı lamlara alınan 5 μ m kalınlığında kesitler ksilen ile deparafinize edilmiştir, azalan alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilen ve PBS'te yıkanan kesitlere proteinlerin sindirilmesi için kesitler Proteinaz K (20 μ g/ml) ile oda ısısında 15 dk uygulanmıştır, ardından distile su ile çalkalanmıştır. Endojen peroksidazın maskelenmesi için kesitler PBS ile hazırlanmış %3'lük H₂O₂ ile 5 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Daha sonra, PBS ile 2x5 dk yıkanmıştır. Lamaların etrafı dikkatlice kurularak kesitlerin üzerine 15 μ l dengeleyici tampon konulup, plastik lamel ile kapatılarak 30 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Plastik lamel kaldırılarak dokunun etrafı kurulanmış ve her lam üzerine 15 μ l Tdt enzimi, negatif kontrol kesiti içinse PBS konulup tekrar plastik lamel ile kapatılmıştır. Nemli ortamda 37 °C etüvde 1 saat inkübe edilmiştir. Plastik lameller kaldırılarak kesitler durdurma/yıkama tamponu ile oda ısısında 10 dk yıkanmıştır. PBS ile 3x5 dk yıkamanın ardından, her kesit üzerine 13 μ l Anti-Digoksinin- Peroksidaz konuldu ve üzerlerine plastik lameller kapatılarak oda ısısında 30 dk inkübe edilmiştir. Kesitler PBS ile 3x5 dk yıkanmıştır. Kesitlerin çevresi kurulandıktan sonra her kesit üzerine 15 μ l DAB substrat solusyonu damlatılmıştır. Boyanma için oda ısısında 5 dk bekletilmenin ardından renk reaksiyonu oluşması gözlemlendikten sonra kesitler distile su ile yıkanmıştır. Kesitler Mayer Hematoksilen ile boyanarak zıt boyaması yapıldıktan sonra %96 alkolde 2 dk bekletilerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruma gerçekleşikten sonra entellan ile kapatılmıştır. Rastgele seçilen 5 alanda x20 objektifte inceleme yapıp TUNEL pozitif hücreler sayılmıştır.

3.7. İstatistiksel Analiz

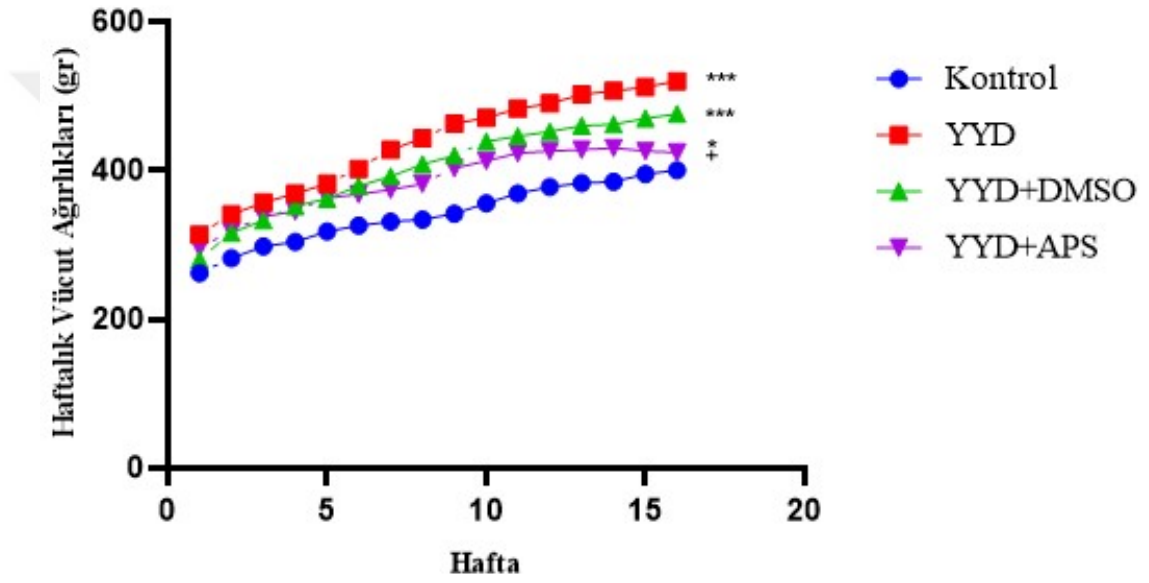
GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programı kullanılarak histolojik ve biyokimyasal incelemeler sonucu elde edilen veriler değerlendirilmiştir. Tek yönlü ANOVA ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak istatistiksel analizler yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen değer $p<0,05$ olarak belirlenmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlığı Bulguları

Deney sonunda YYD ($p < 0,001$), YYD+DMSO ($p < 0,001$) ve YYD+APS ($p < 0,05$) gruplarındaki sıçanların vücut ağırlığı kontrol grubundakiler ile karşılaştırıldığında anlamlı artış görülmektedir. YYD+APS grubundaki sıçanların ağırlıklarında YYD grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$; Şekil 8).



Şekil 8. Deney gruplarındaki haftalık vücut ağırlıkları değişimleri. ***: $p < 0,001$ ve *: $p < 0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p < 0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

4.2. Biyokimyasal Bulgular

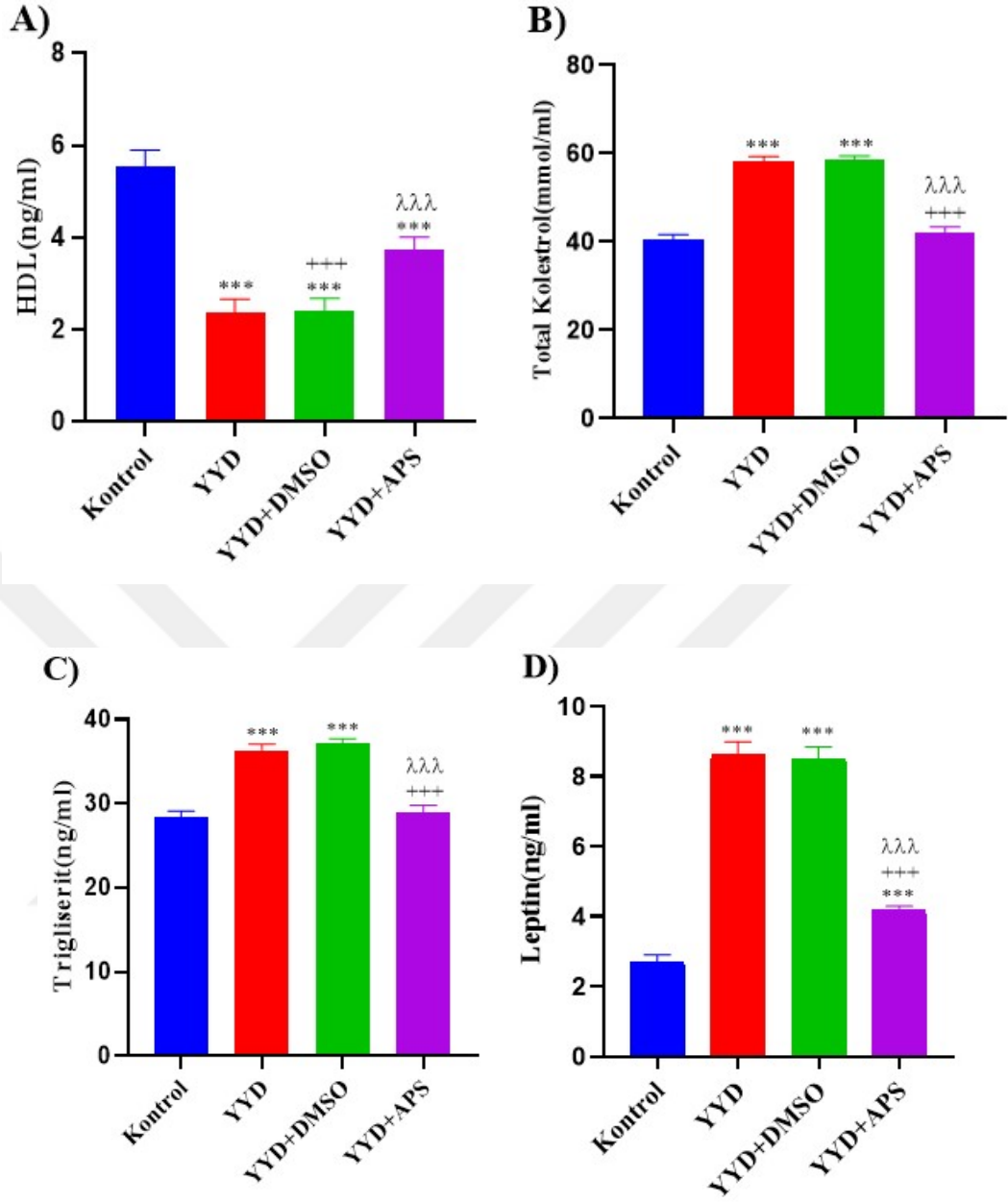
4.2.1. Serumda HDL, Trigliserit, Total Kolesterol, Leptin düzeyi bulguları

Kontrol grubuna göre YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarında HDL seviyesinde azalma ($p<0,001$), YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) HDL düzeyinde artış gözlenmiştir (Şekil 9A).

Kontrol grubuna göre YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarında total kolesterol seviyesinde artış ($p<0,001$), YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) total kolesterol düzeyinde azalma gözlenmiştir (Şekil 9B).

Kontrol grubuna göre YYD ve YYD+DMSO gruplarında trigliserit seviyesinde artış ($p<0,001$); YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) trigliserit düzeyinde azalma gözlenmiştir (Şekil 9C).

Kontrol grubuna göre YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarında leptin seviyesinde artış ($p<0,001$), YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) leptin düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 9D).



Şekil 9. Deney gruplarındaki sıçanların serum HDL (A), total kolesterol (B), trigliserit (C) ve leptin (D) seviyeleri. ***: $p < 0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, +++: $p < 0,001$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında, λλλ: $p < 0,001$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

4.2.2. Doku MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO düzeyi bulguları

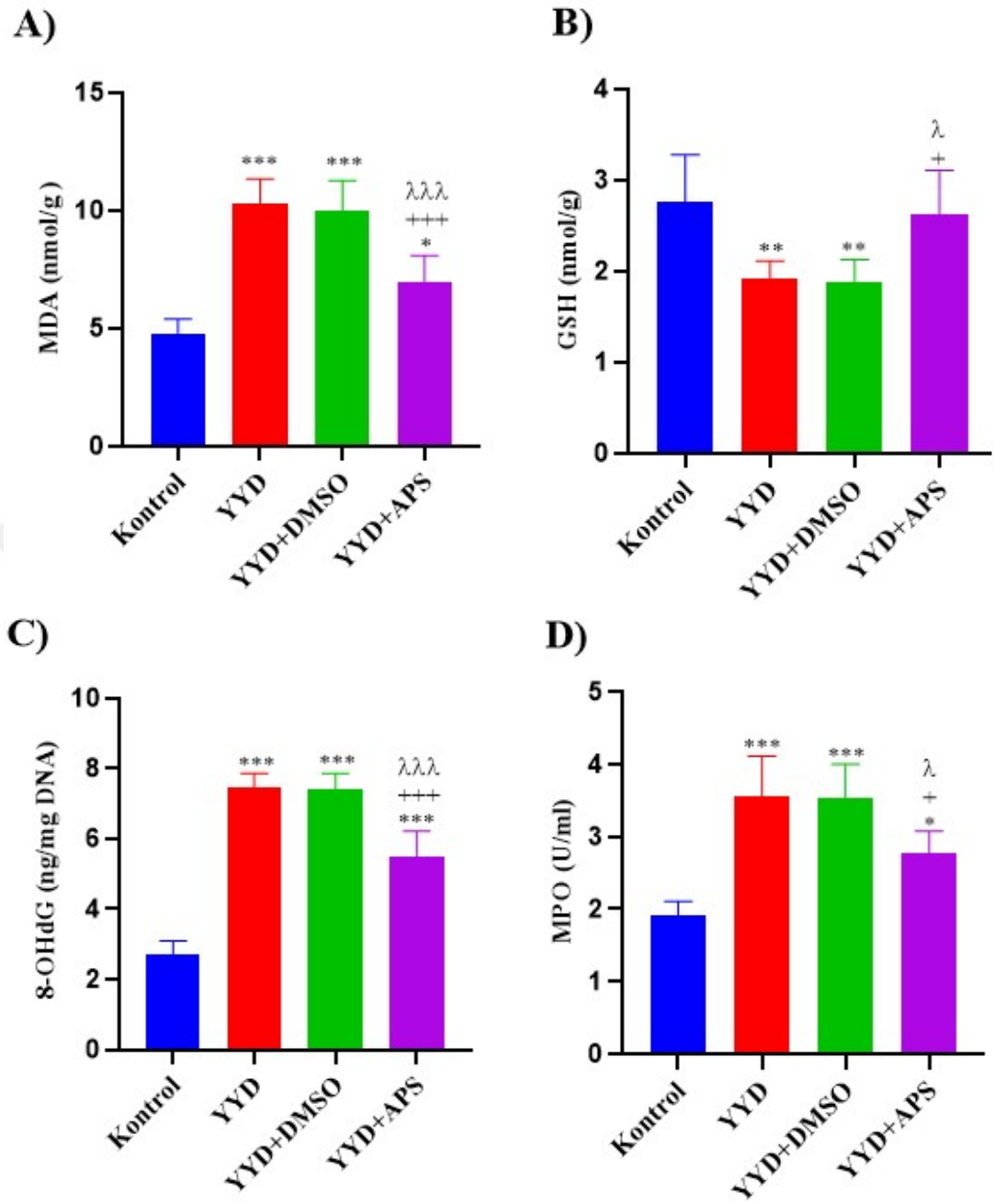
Böbrek MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO düzey bulguları aşağıdaki gibi bulunmuştur:

Kontrol grubuna göre YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarında MDA seviyesinde yükselme ($p<0,001$); YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir (Şekil 10A).

Kontrol grubuna göre YYD ve YYD+DMSO gruplarında GSH seviyesinde düşüş ($p<0,01$), YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,05$) GSH düzeyinde artış gözlenmiştir (Şekil 10B).

Kontrol grubuna göre YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarında 8-OHdG düzeyinde artış ($p<0,001$); YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre ise YYD+APS grubunda ($p<0,001$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş gözlenmiştir (Şekil 10C).

Kontrol grubuna göre YYD ($p<0,001$), YYD+DMSO ($p<0,001$) ve YYD+APS ($p<0,05$) gruplarında MPO seviyesinde artış; YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,05$) MPO düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 10D).



Şekil 10. Deney gruplarının böbrek dokularına ait MDA (A) , GSH (B) , 8-OHdG (C) ve MPO (D) seviyeleri. *: $p<0,05$, **: $p<0,01$ ve ***: $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ ve +++: $p<0,001$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ ve λλλ: $p<0,001$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

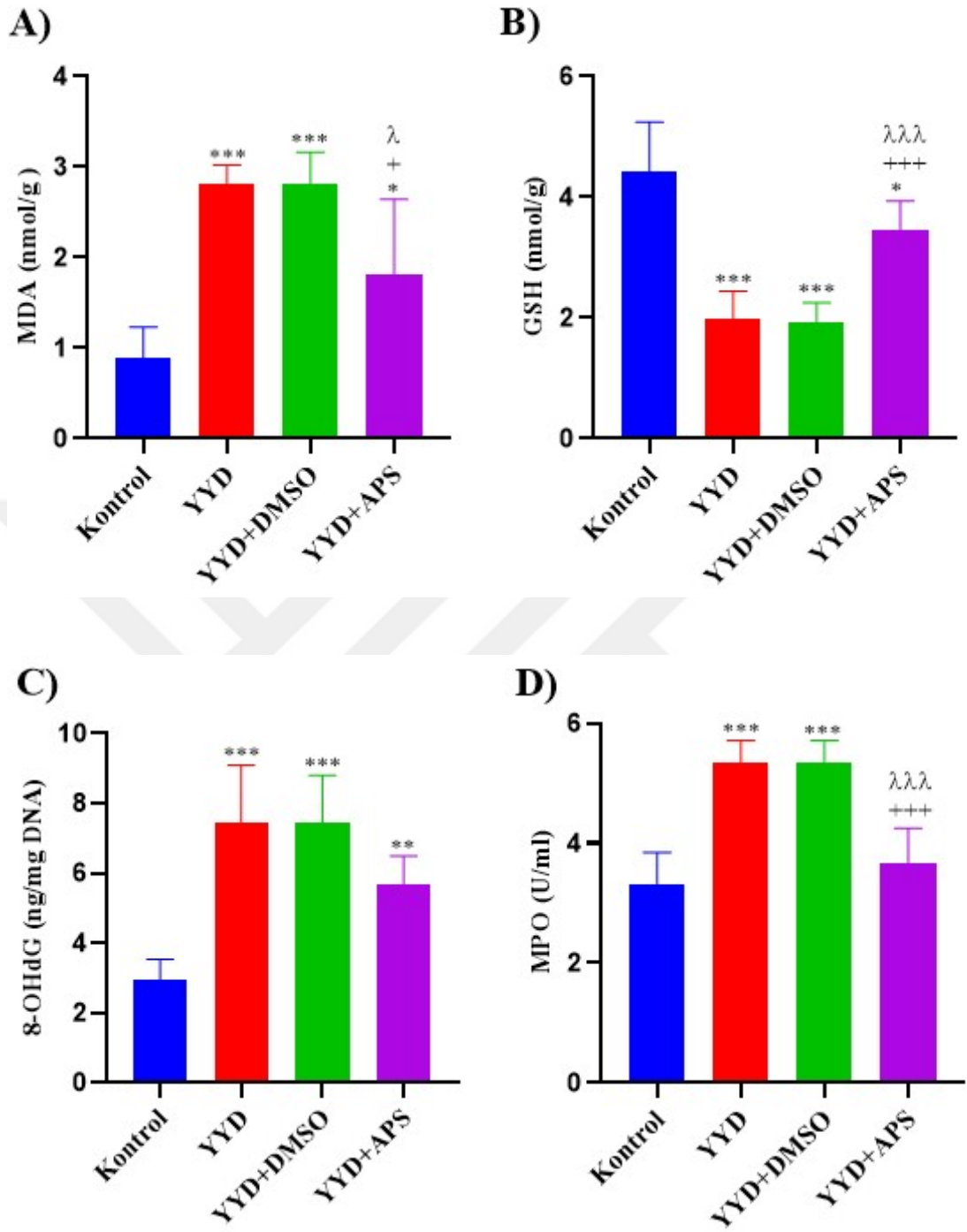
Mesane MDA, GSH, 8-OHdG ve MPO düzey bulguları aşağıdaki gibi bulunmuştur:

Kontrol grubuna göre YYD ($p<0,001$), YYD+DMSO ($p<0,001$) ve YYD+APS ($p<0,05$) gruplarında MDA seviyesinde artış; YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,05$) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş gözlenmiştir (Şekil 11A).

Kontrol grubuna göre YYD ($p<0,001$), YYD+DMSO ($p<0,001$) ve YYD+APS ($p<0,05$) gruplarında GSH seviyesinde azalma; YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) GSH düzeyinde yükselme gözlenmiştir (Şekil 11B).

Kontrol grubuna göre YYD ($p<0,001$), YYD+DMSO ($p<0,001$) ve YYD+APS ($p<0,01$) gruplarında 8-OHdG düzeyinde artış gözlenmiştir (Şekil 11C).

Kontrol grubuna göre YYD ($p<0,001$) ve YYD+DMSO ($p<0,001$) gruplarında MPO seviyesinde artış; YYD ve YYD+DMSO gruplarına göre YYD+APS grubunda ($p<0,001$) MPO düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 11D).



Şekil 11. Deney gruplarının mesane dokularına ait MDA (A), GSH (B), 8-OHdG (C) ve MPO (D) seviyeleri. *: $p<0,05$, **: $p<0,01$ ve ***: $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ ve +++: $p<0,001$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ ve λλλ: $p<0,001$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

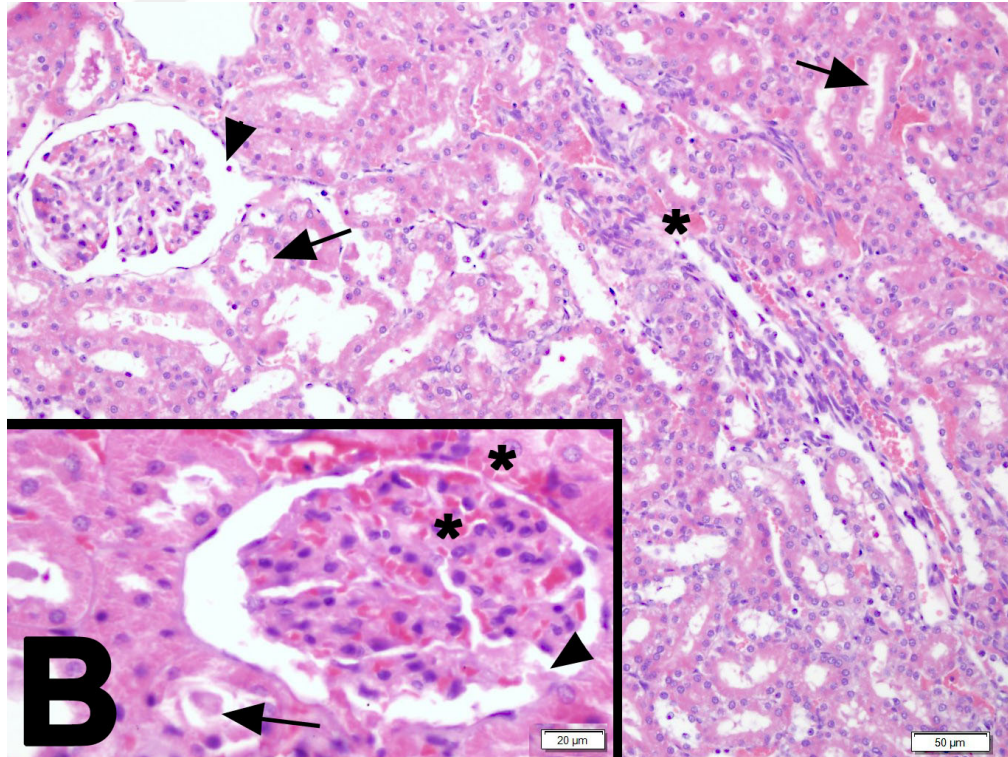
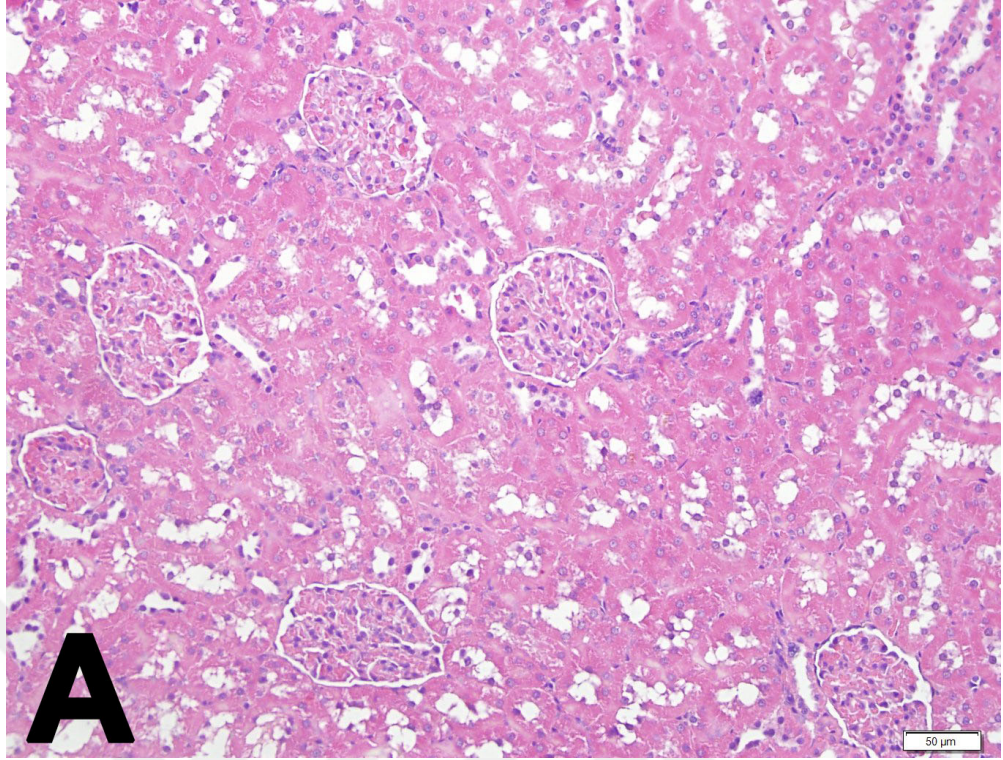
4.3. Histopatolojik Bulgular

Deney gruplarına ait H&E boyama yapılan böbrek kesitlerinde kontrol grubunda normal morfolojide proksimal ve distal tübüller, glomerül ve Bowman kapsülü yapısı ve düzenli interstisyel alan gözlenmiştir (Resim 1A).

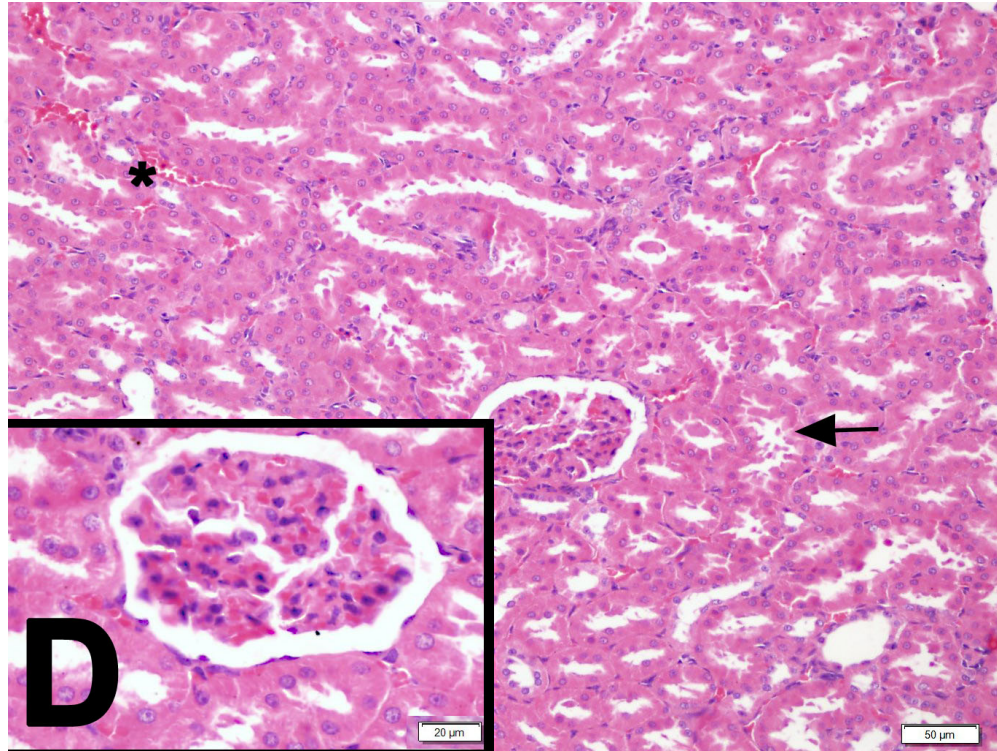
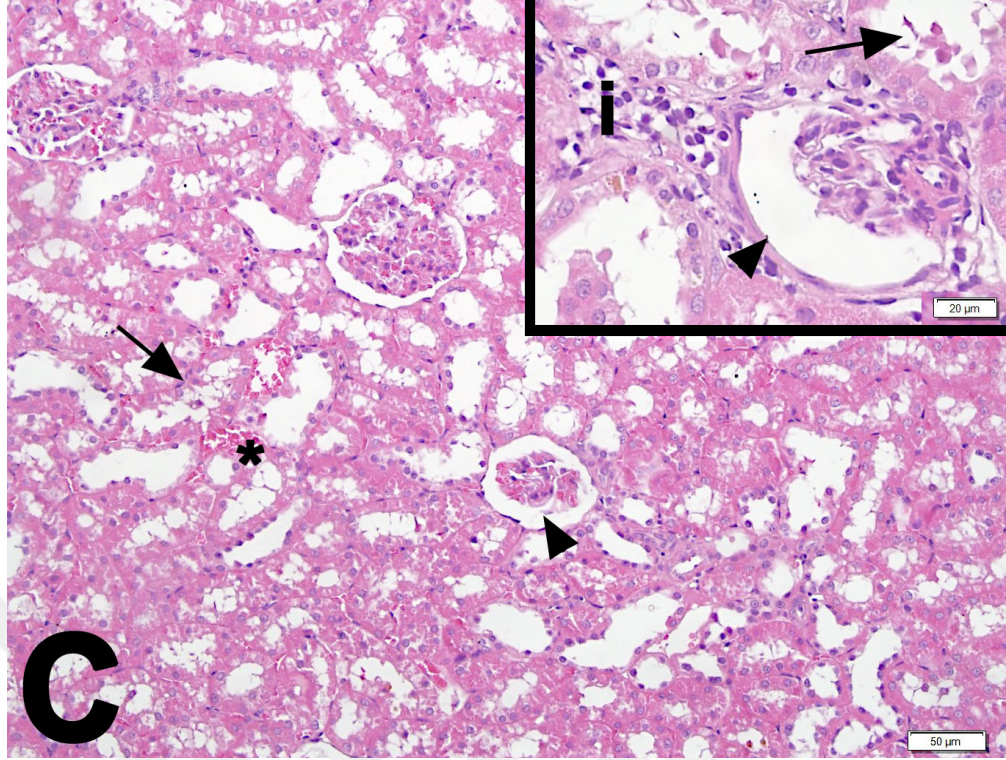
YYD grubunda hasarlı proksimal ve distal tübüller ve glomerüler konjesyon ve bazı yerlerde fibrotik glomerüllerin olduğu, Bowman boşluğunda genişleme ve hücresel debris ile interstisyel konjesyon ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Resim 1B).

YYD+DMSO grubunda hasarlı proksimal ve distal tübüller ve glomerüler konjesyon ve bazı yerlerde fibrotik glomerüllerin olduğu, Bowman boşluğunda genişleme ve hücresel debris ile interstisyel konjesyon ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Resim 1C).

YYD+APS grubunda proksimal ve distal tübül hasarının, glomerül içi ve interstisyel konjesyonun ve enflamatuvar hücre infiltrasyonunun azaldığı gözlenmiştir (Resim 1D).

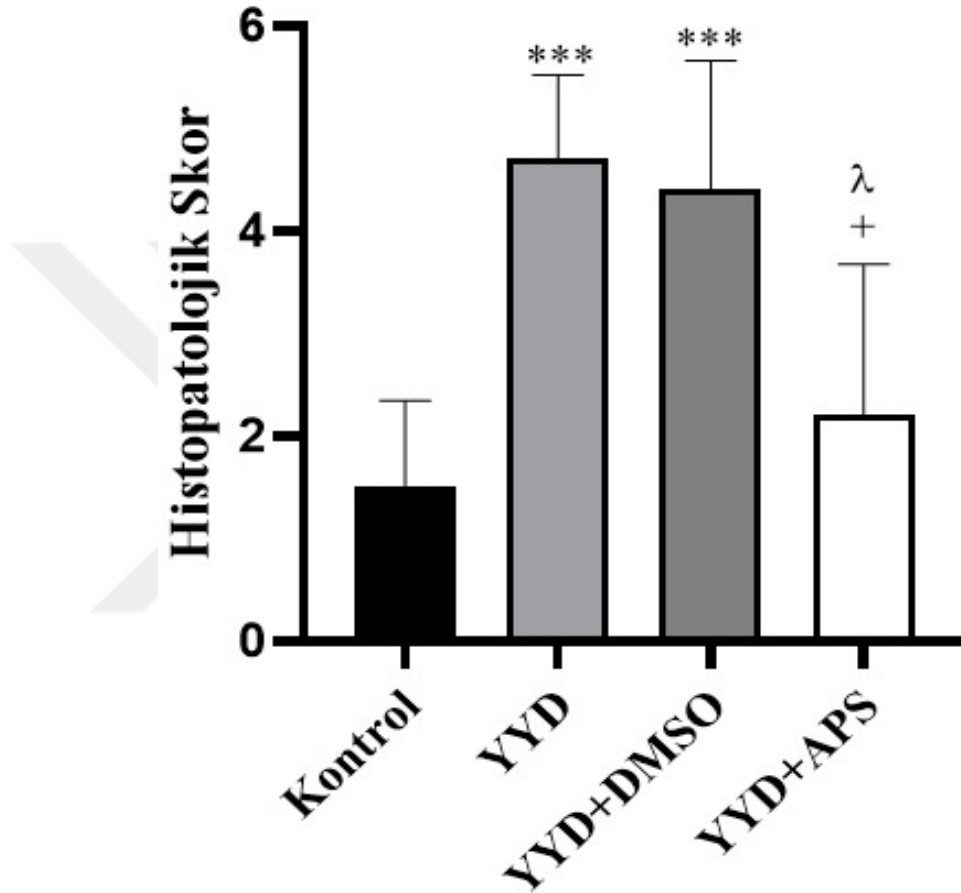


Resim 1. Deney gruplarının böbrek dokularına ait H&E ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. Ok: hasarlı tübül ve lümende debris; *: glomerüller ve interstisyel konjesyon; ok başı: glomerülde hücresel debris. Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.



Resim 1-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait H&E ile boyalı preparatların temsili mikrogramları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. Ok: hasarlı tübüller ve lümende debris; *: glomerüler ve interstisyel konjesyon; i: interstisyumda enflamatuvar hücre infiltrasyonu; ok başı: fibrotik glomerül. Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.

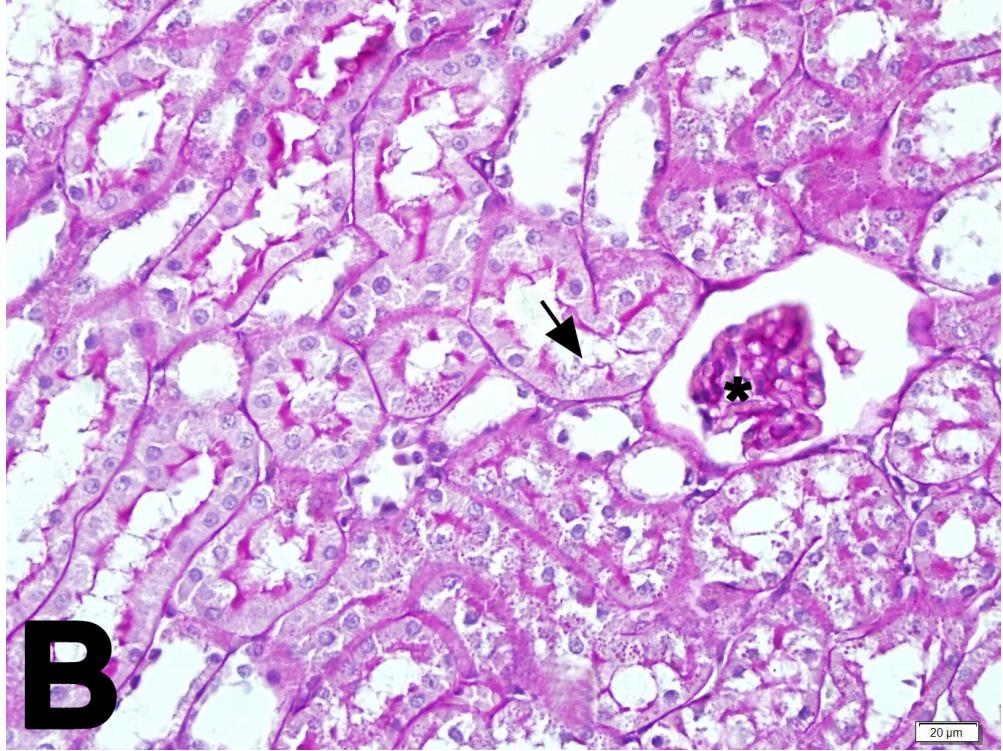
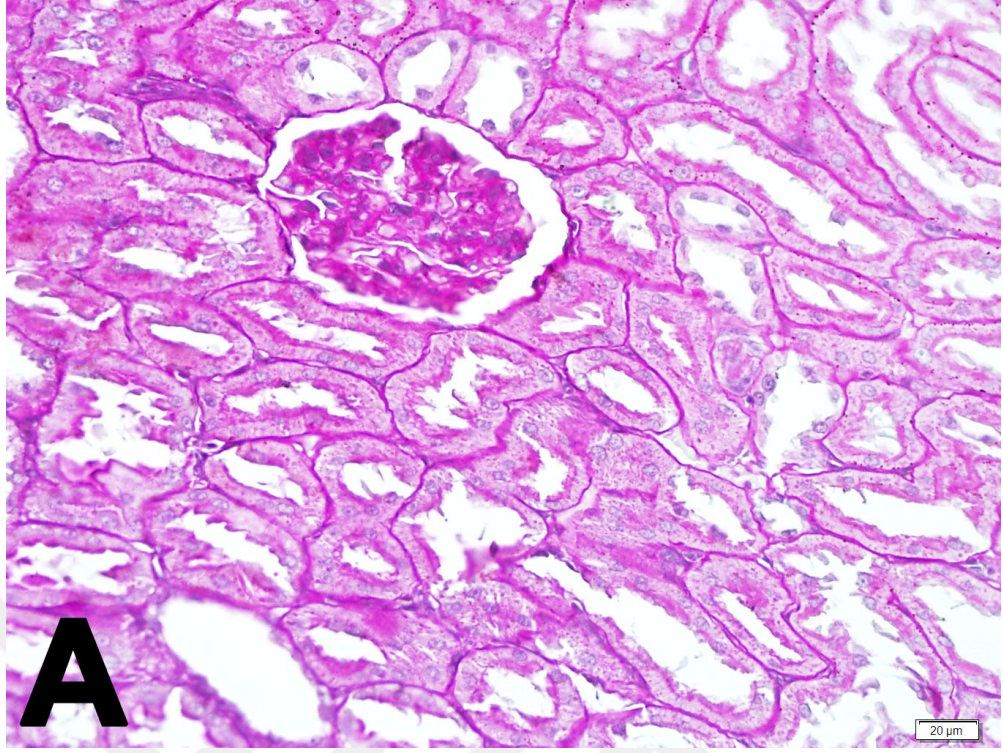
Deney gruplarına ait böbrek örneklerinin hispatolojik değerlendirilmesinde YYD ve YYD+DMSO gruplarında kontrol grubuna kıyasla hispatolojik skorun arttığı gözlenmiştir ($p<0,001$). YYD+APS grubunda ise YYD ($p<0,05$) ve YYD+DMSO ($p<0,05$) gruplarına kıyasla hispatolojik skorun azalarak kontrole yaklaştığı gözlenmiştir (Şekil 11).



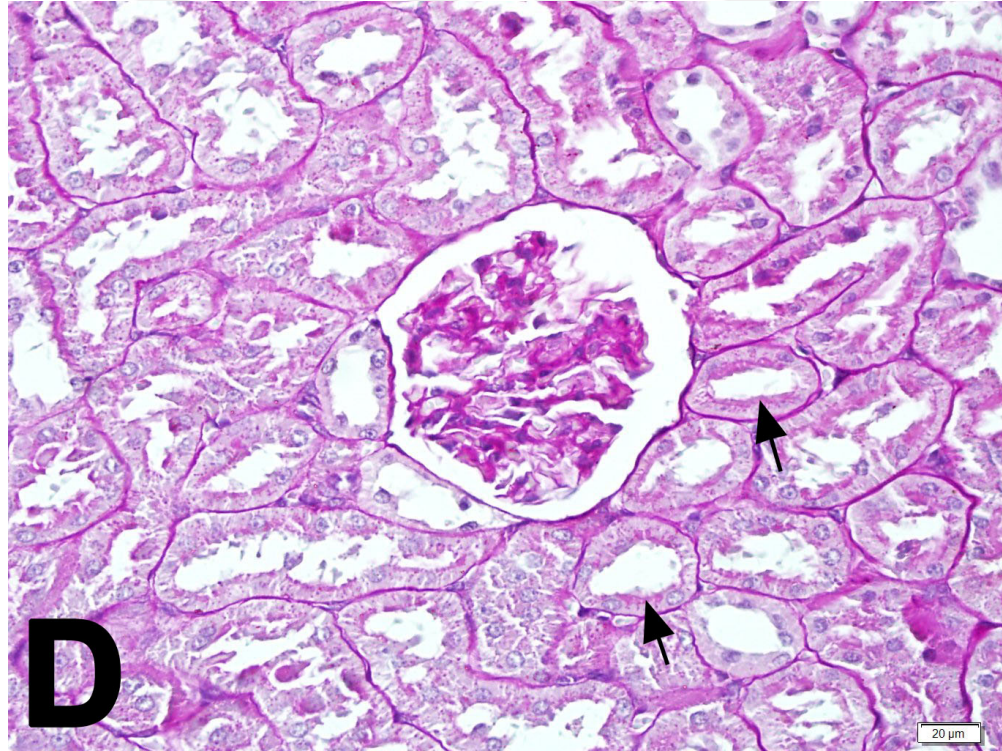
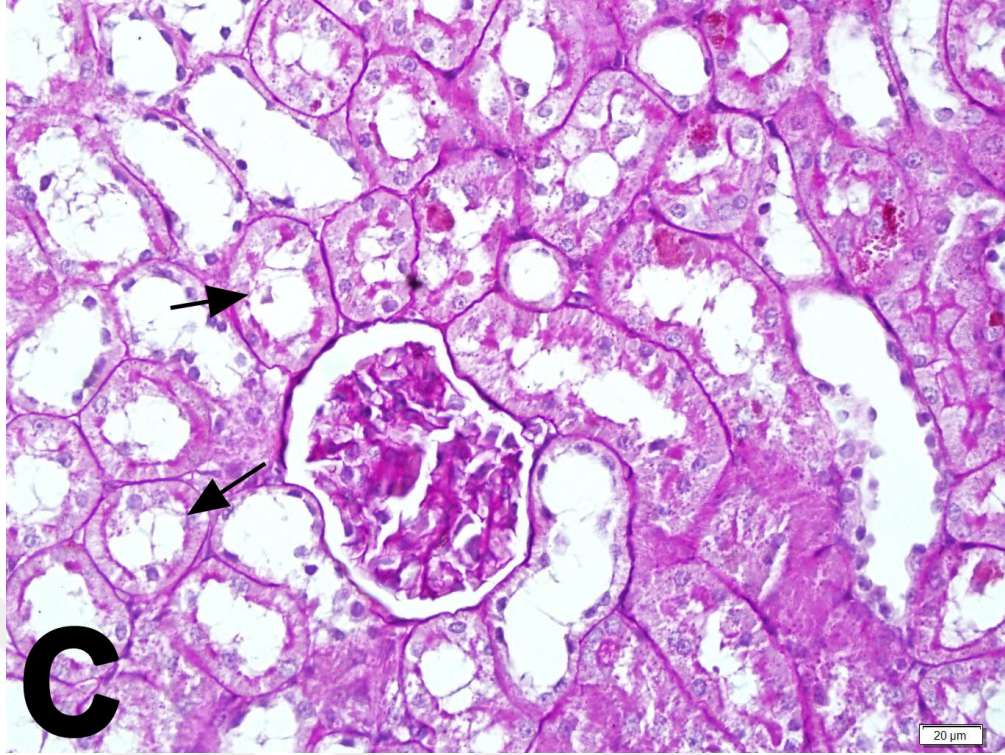
Şekil 12. Deney gruplarının böbrek örneklerinin histopatolojik skoru. ***: $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait PAS boyama yapılan böbrek kesitlerinde kontrol grubunda normal morfolojide PAS pozitif boyanmış bazal membran yapıları ve tübüler apikal fırçamsı kenar morfolojisi gözlenmiştir (Resim 2A). YYD ve YYD+DMSO gruplarında proksimal ve distal tübüllerde PAS pozitif fırçamsı kenarın azaldığı ve hasarlı glomerül gözlenmiştir (Resim 2B ve C). YYD+APS grubunda ise tübüler ve glomerüler PAS pozitifliğinin kontrole benzer olduğu gözlenmiştir.

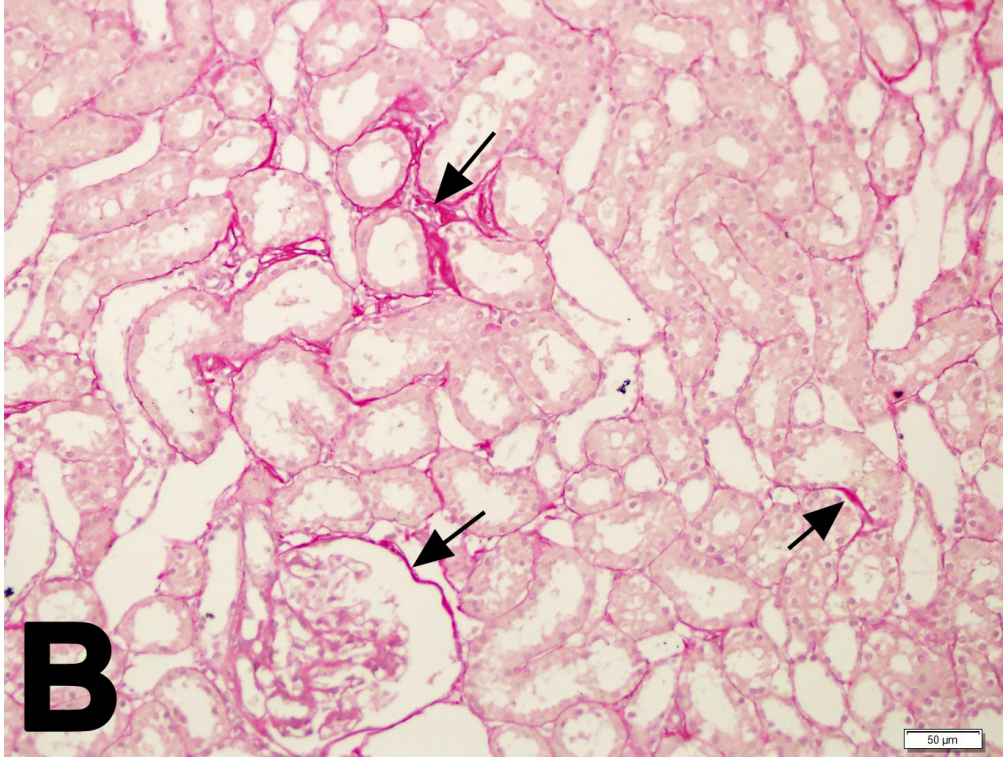
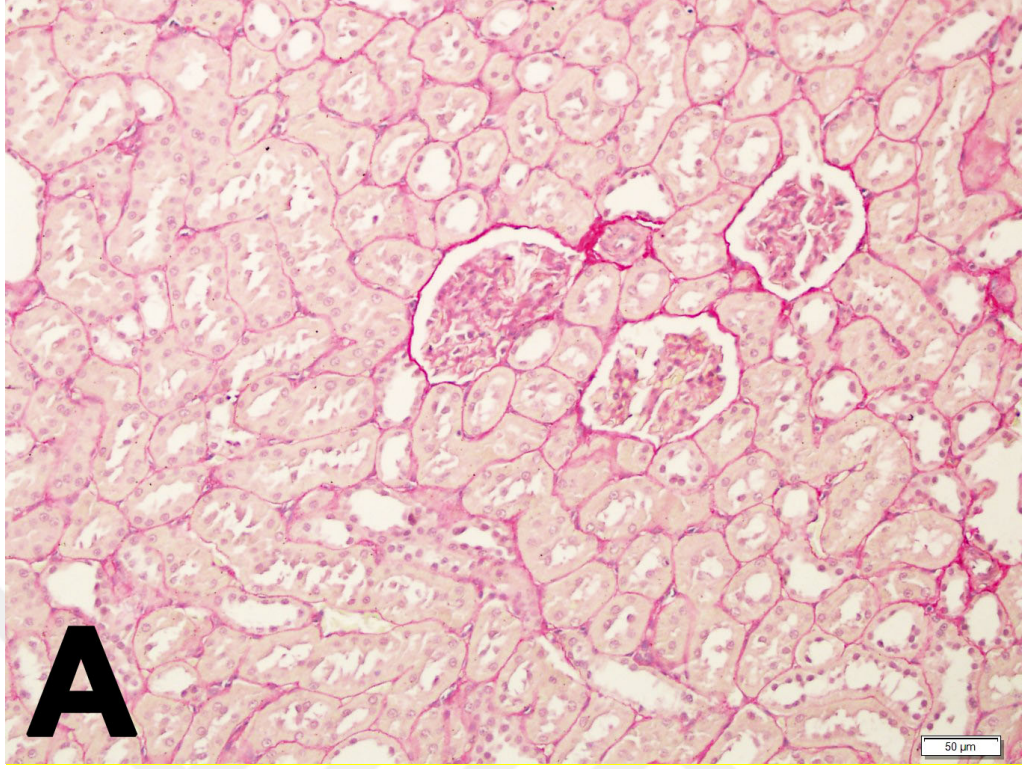
Deney gruplarına ait pikrosirius kırmızısı boyama yapılan böbrek kesitlerinde kontrol grubunda interstisyel bağ dokuda kolajen dağılımının normal olduğu gözlenmiştir (Resim 3A). YYD (Resim 3B) ve YYD+DMSO (Resim 3C) gruplarında renal cisimciklerin ve tübüllerin çevresinde kolajen artışı gözlenirken; YYD+APS (Resim 3D) grubunda ise kontrole benzer olduğu gözlenmiştir.



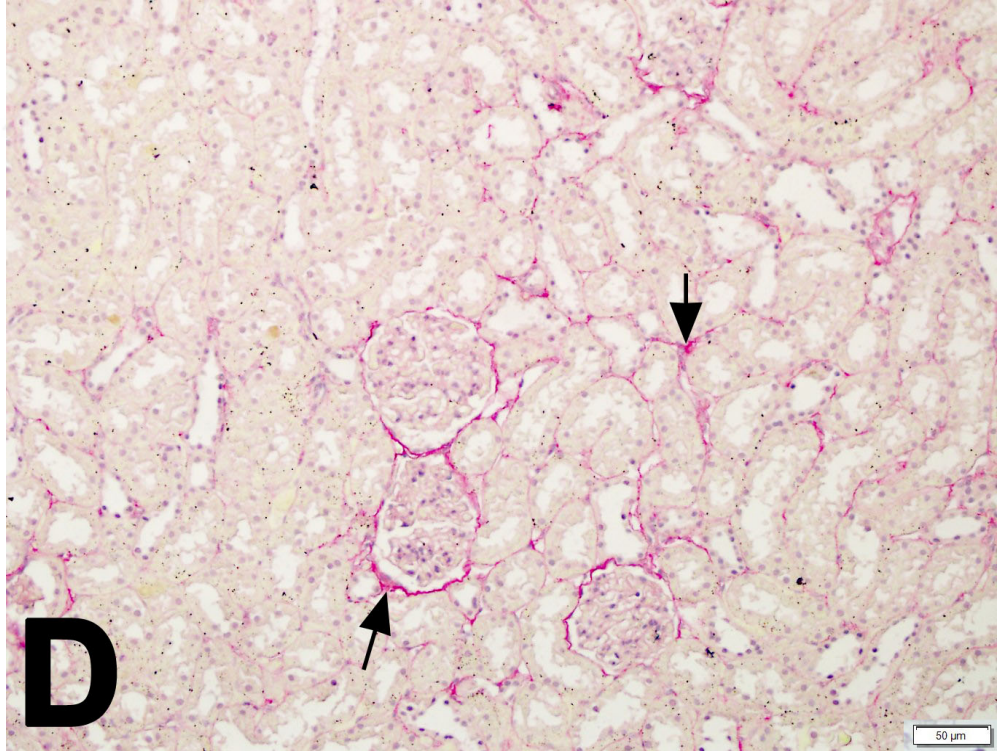
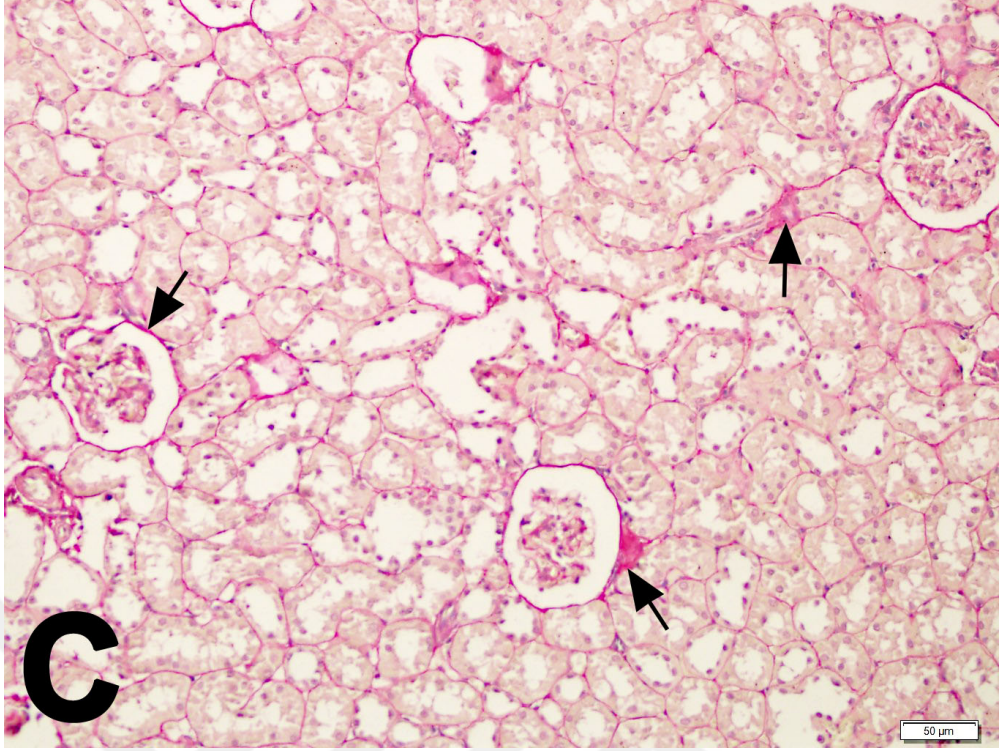
Resim 2. Deney gruplarının böbrek dokularına ait PAS ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A), YYD (B) grupları. Ok: tübüllerde azalmış PAS pozitif fırçası kenar; *:hasarlı glomerülde düzensiz PAS pozitif boyanma. Ölçek: 50 µm.



Resim 2-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait PAS ile boyalı preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. Ok: tübüllerde azalmış PAS pozitif fırçamsı kenar. Ölçek: 50 µm.

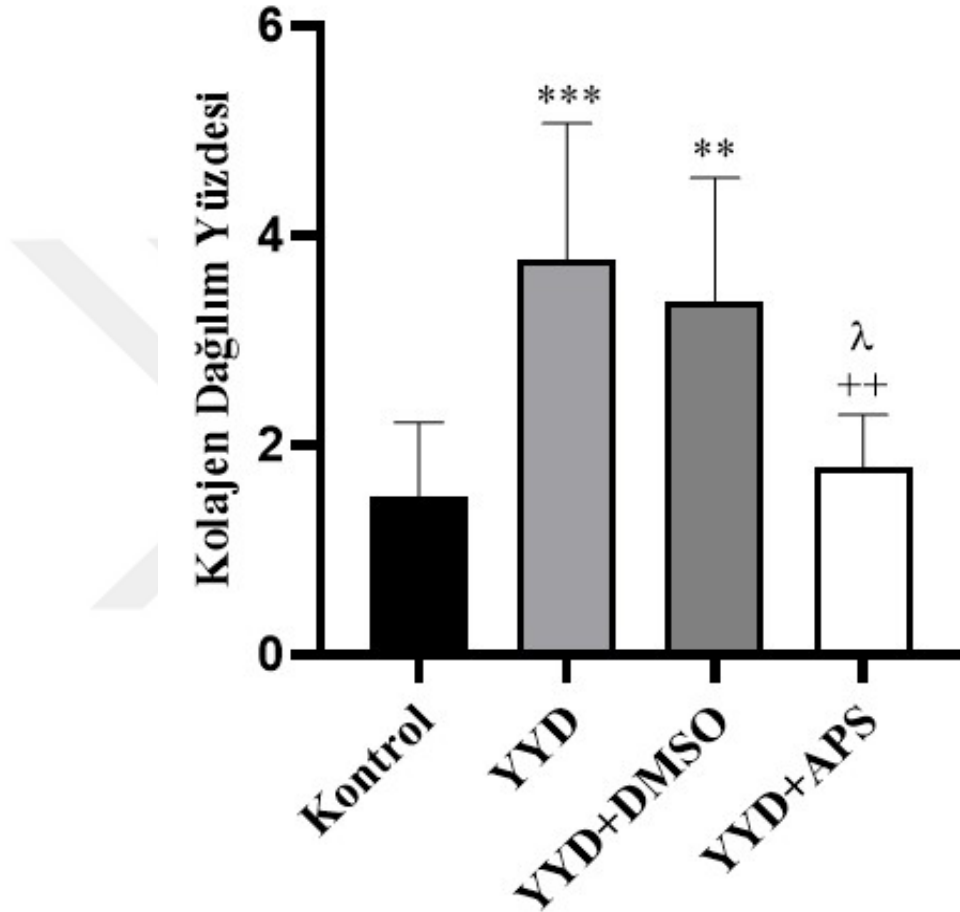


Resim 3. Deney gruplarının böbrek dokularına ait pikrosirius kırmızısı ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. Ok: kolajen artışı. Ölçek:50 µm.



Resim 3-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait pikrosirius kırmızısı ile boyalı preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. Ok: kolajen artışı. Ölçek:50 µm.

Deney gruplarına ait böbrek örneklerinin kolajen artışı değerlendirildiğinde YYD ($p<0,001$) ve YYD+DMSO ($p<0,01$) gruplarında kolajen dağılım yüzdesinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunun ise YYD ($p<0,01$) ve YYD+DMSO ($p<0,05$) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş gözlenmiştir (Şekil 13).



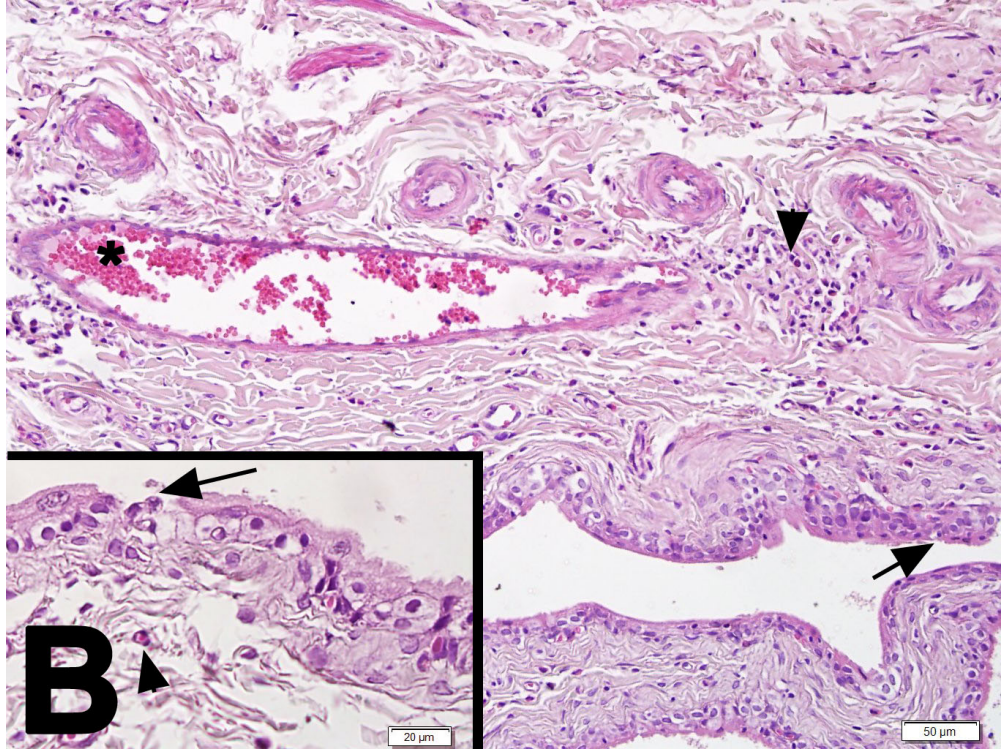
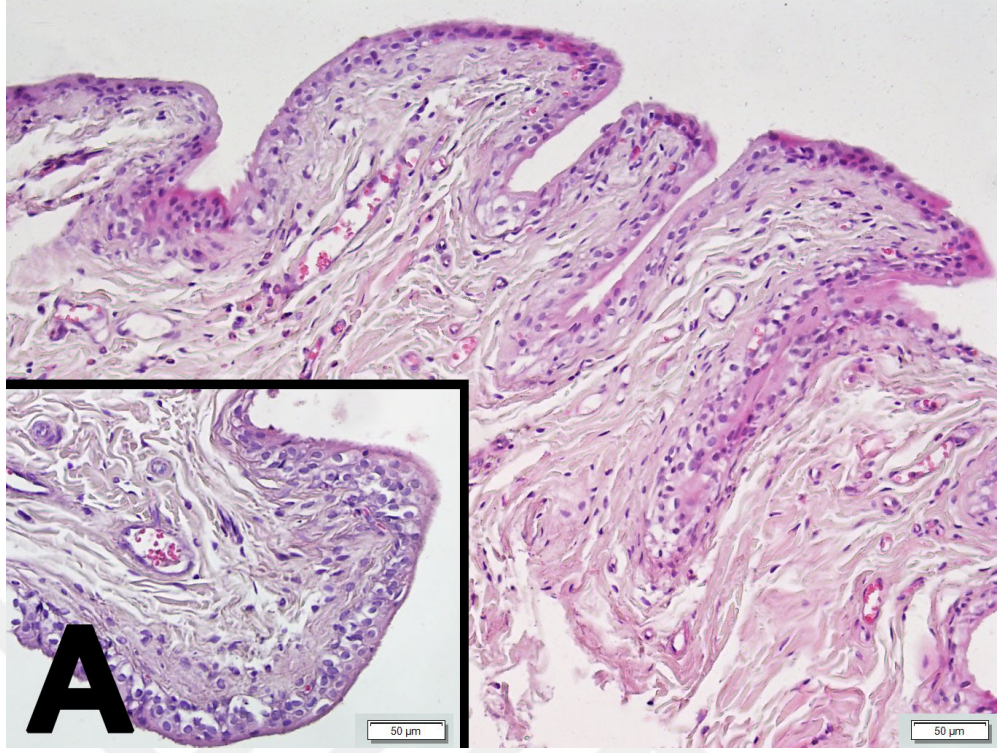
Şekil 13. Deney gruplarına ait böbrek dokusunda kolajen dağılım yüzdesi. **: $p<0,01$ ve ***: $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait H&E boyama yapılan mesane kesitlerinde kontrol grubuna ait mesane dokusunda normal morfolojide mukoza ve kas tabakası gözlenmiştir (Resim 4A).

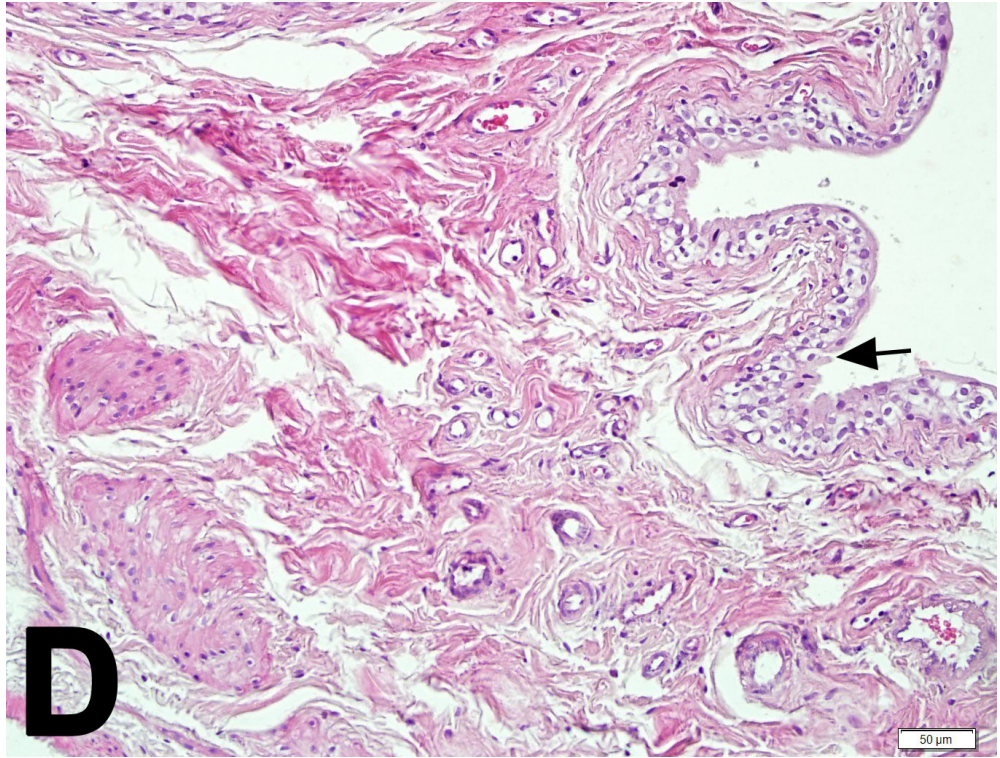
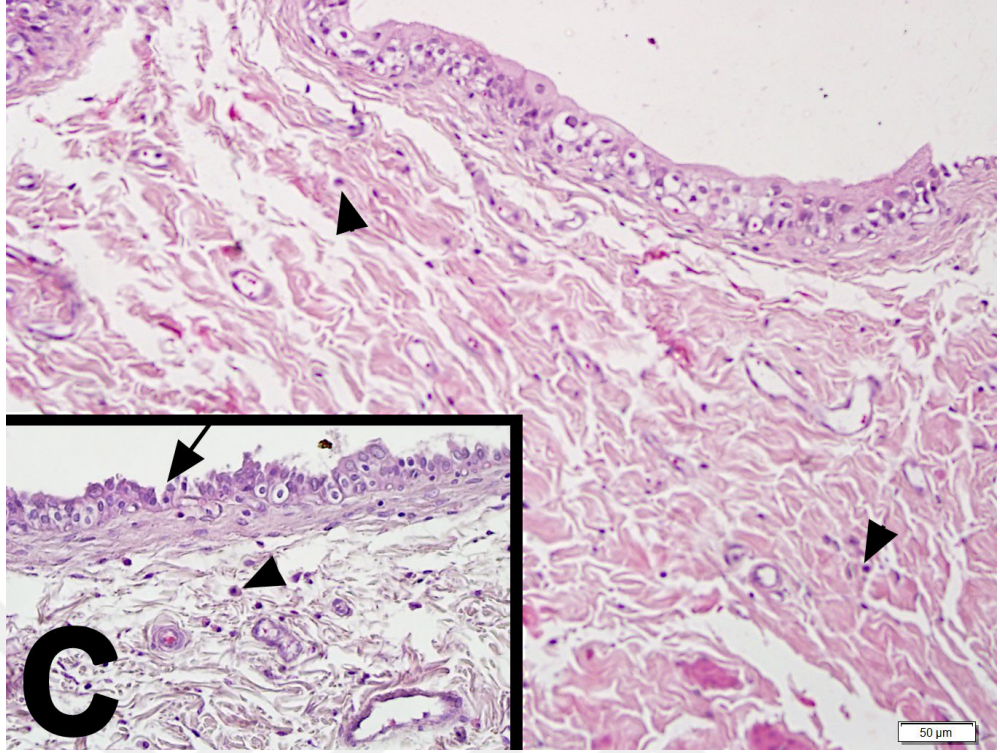
YYD grubunda hafif düzeyde epitel hasarı, lamina propriada vasküler konjesyon ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Resim 4B).

YYD+DMSO grubunda da YYD grubundaki gibi hafif düzeyde epitel hasarı, lamina propriada vasküler konjesyon ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Resim 4C).

YYD+APS grubunda ise lokal epitel hasarı görülmekle birlikte genel olarak düzgün morfolojiye sahip olduğu gözlenmiştir (Resim 4D).

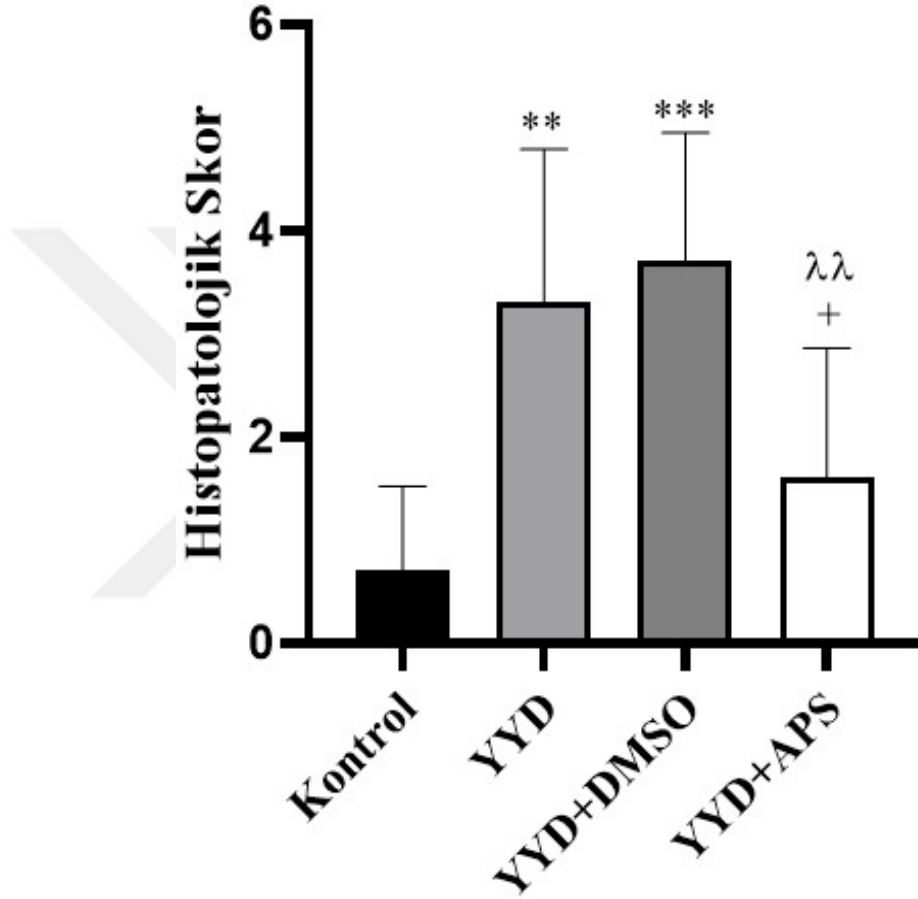


Resim 4. Deney grupları mesane dokularına ait H&E ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A), YYD (B) grupları. Ok: hafif düzeyde epitel hasarı; *: vasküler konjesyon; ok başı: enflamatuvar hücre infiltrasyonu. Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.



Resim 4-Devamı. Deney grupları mesane dokularına ait H&E ile boyalı preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. Ok: hafif düzeyde epitel hasarı; *: vasküler konjesyon; ok başı: enflamatuvar hücre infiltrasyonu. Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.

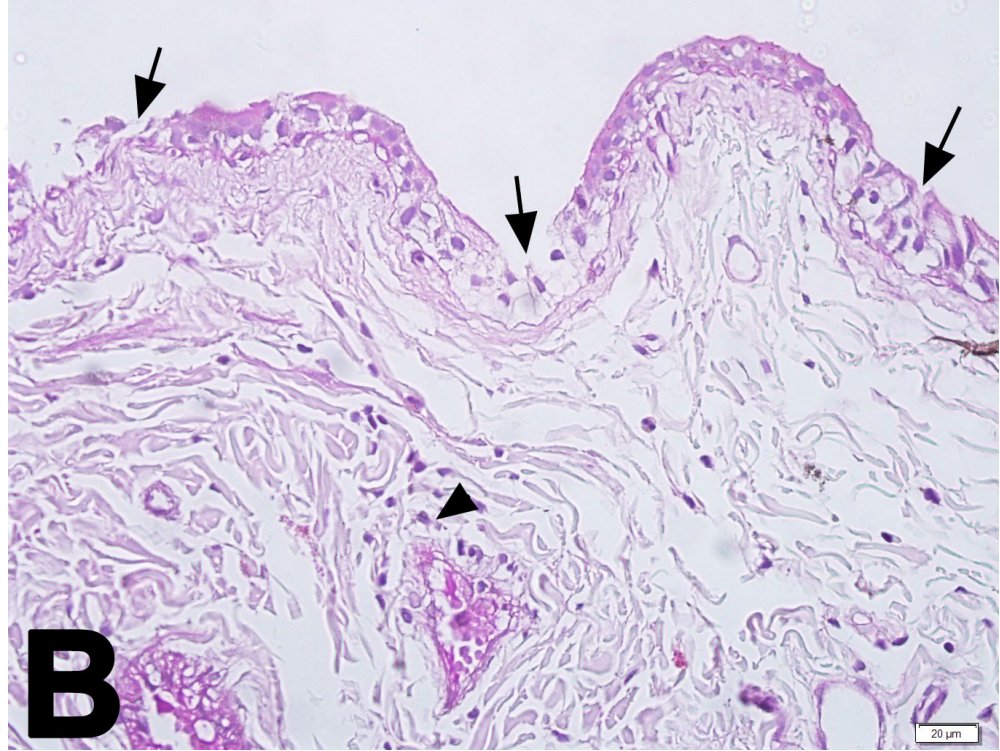
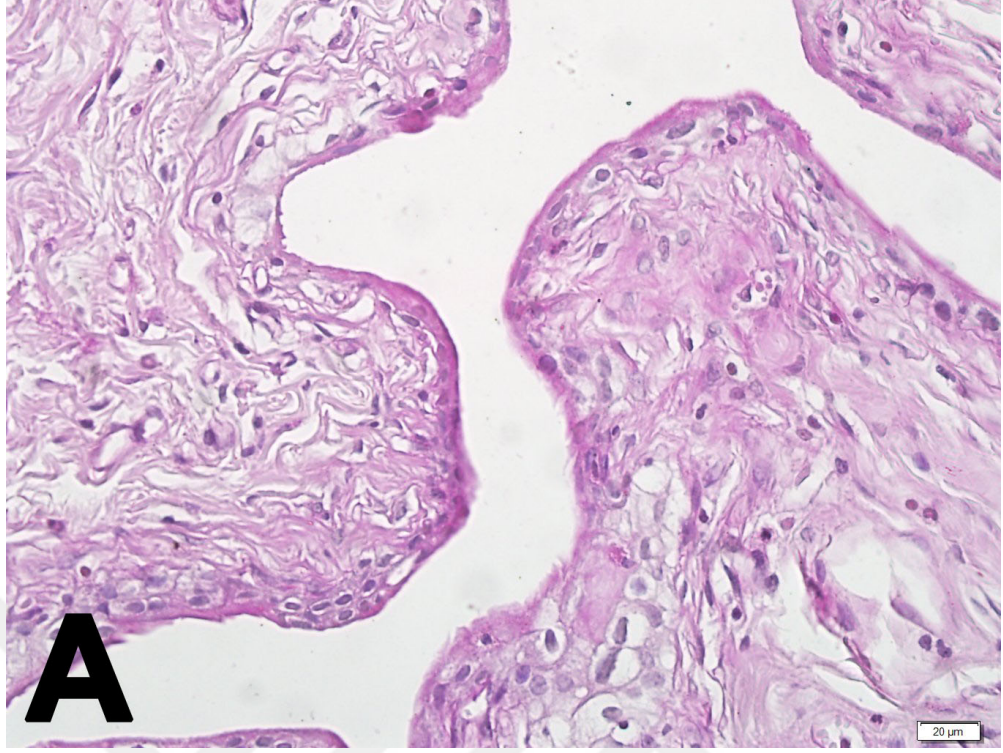
Deney gruplarına ait mesane örneklerinin histopatolojik değerlendirilmesinde YYD ($p<0,01$) ve YYD+DMSO ($p<0,001$) gruplarının kontrol grubuna kıyasla daha yüksek hasar skoruna sahip olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunun ise YYD ($p<0,05$) ve YYD+DMSO ($p<0,01$) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalarak kontrole yaklaştığı gözlenmiştir (Şekil 14).



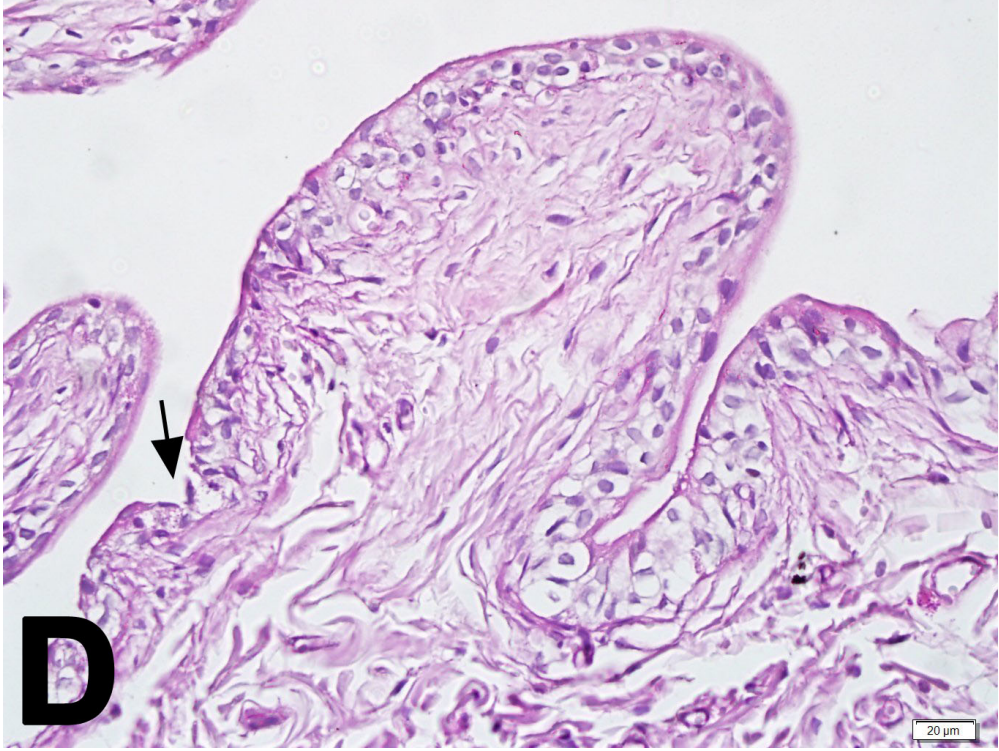
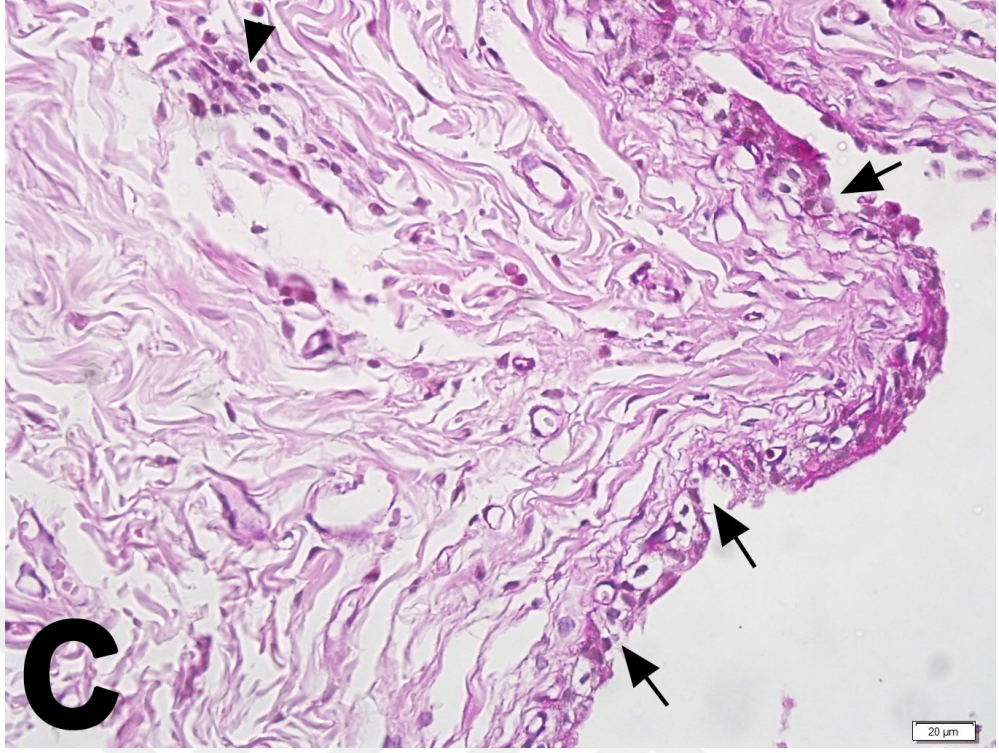
Şekil 14. Deney gruplarının mesane örneklerinin histopatolojik skoru. **: $p<0,01$ ve ***: $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λλ: $p<0,01$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait PAS boyama yapılan mesane kesitlerinde kontrol grubunun PAS pozitif boyanmış apikal yüzeyi olan düzenli morfolojide ürotelyumun olduğu gözlenmiştir (Resim 5A). YYD ve YYD+DMSO gruplarında PAS pozitif boyanmış apikal yüzey alanlarında azalma olan ürotelyumda düzensizlik ve enflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlenmiştir (Resim 5B ve C). YYD+APS grubunda ise kontrole yakın düzeyde PAS pozitif boyanmış apikal yüzeyi olan düzenli morfolojide ürotelyum gözlenmiştir (Resim 5D).

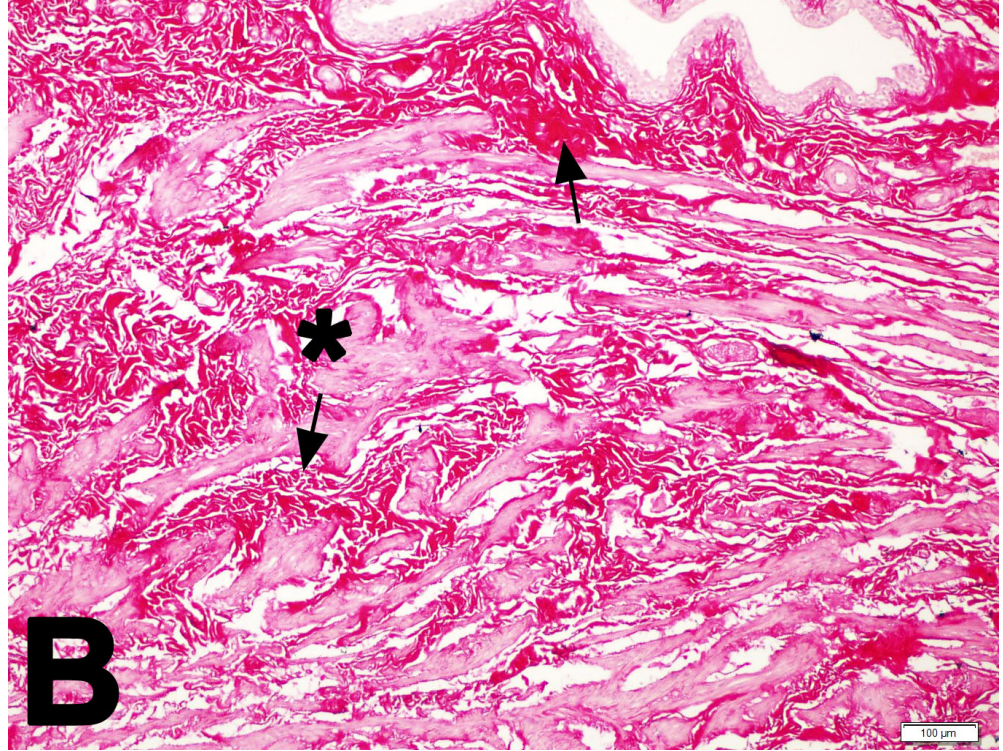
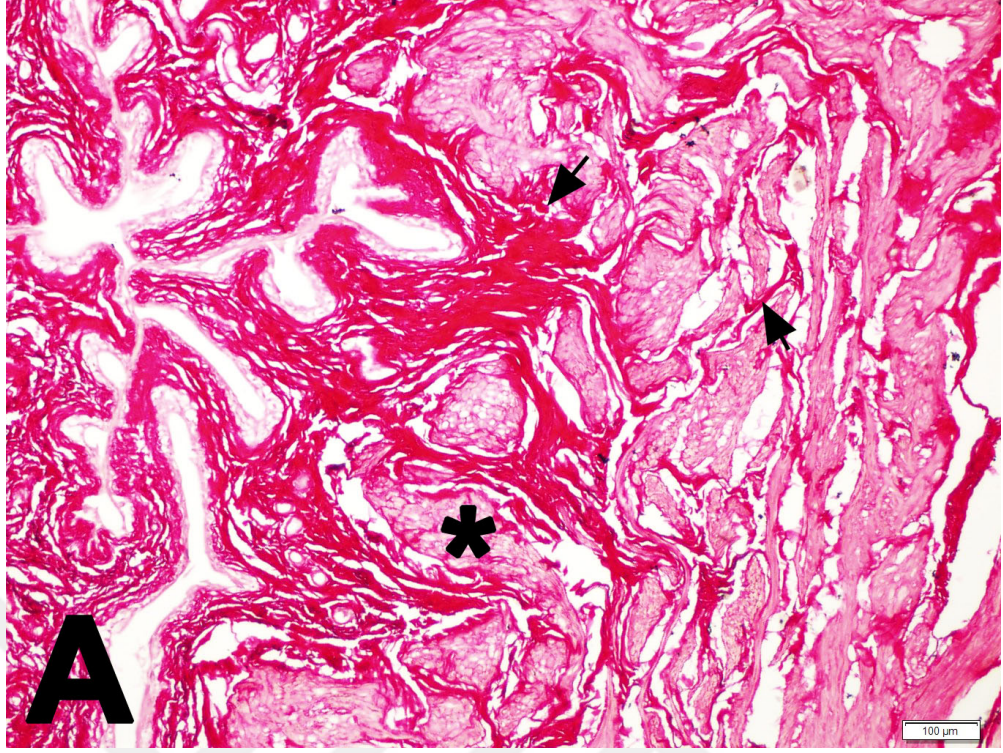
Deney gruplarına ait pikrosirius kırmızısı boyama yapılan mesane kesitlerinde kontrol grubunda normal morfolojide lamina propria ve kas tabakası ve kas demetlerinin etrafında kolajen lifleri varlığı gözlenmiştir (Resim 6A). YYD (Resim 6B) ve YYD+DMSO (Resim 6C) gruplarında kas liflerinin organizasyonun bozulduğu ve kas tabakasında kolajen liflerin artışı gözlenirken; YYD+APS (Resim 6D) grubunda ise kontrole benzer olduğu gözlenmiştir.



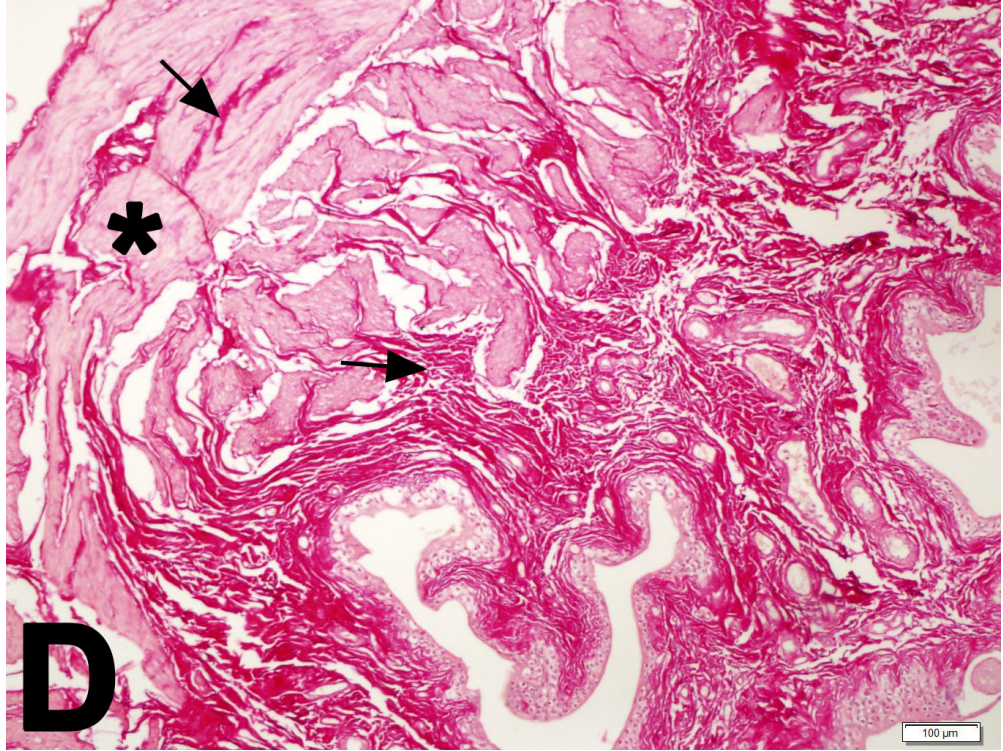
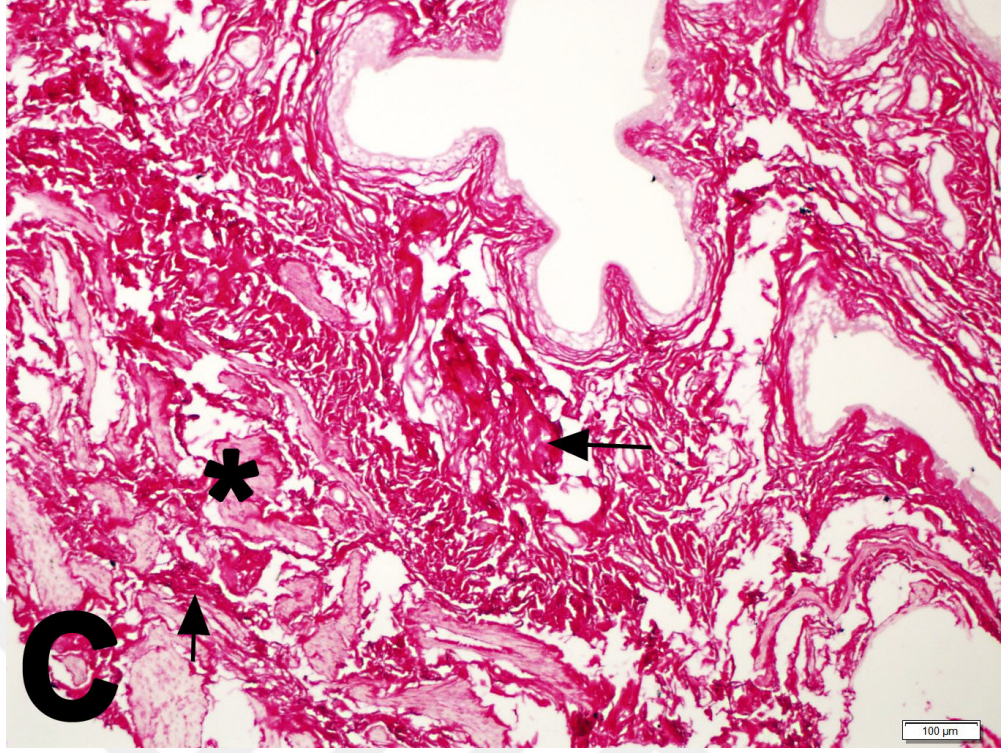
Resim 5. Deney grupları mesane dokularına ait PAS ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. Ok: apikal ürotelyumda düzensizlik; ok başı: enflamatuvar hücre infiltrasyonu. Ölçek: 50 µm.



Resim 5-Devamı. Deney grupları mesane dokularına ait PAS ile boyalı preparatların temsili mikroagrafları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. Ok: apikal ürotelyumda düzensizlik; ok başı: enflamatuvar hücre infiltrasyonu. Ölçek: 50 µm

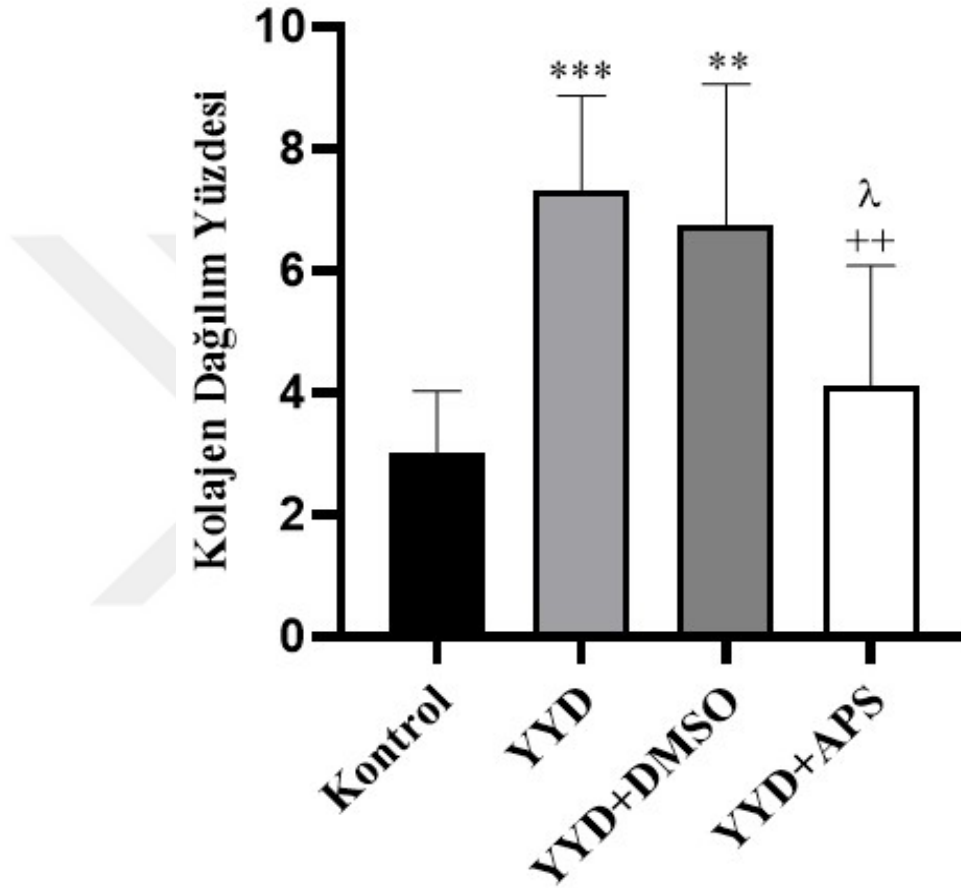


Resim 6. Deney grupları mesane dokularına ait pikrosirius kırmızısı ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. *: kas lifleri; ok: kolajen artışı. Ölçek:10 µm.



Resim 6-Devamı. Deney grupları mesane dokularına ait pikrosirius kırmızısı ile boyalı preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. *: kas lifleri; ok: kolajen artışı. Ölçek:10 µm.

Deney gruplarına ait mesane örneklerinin kolajen artışı değerlendirildiğinde YYD ($p<0,001$) ve YYD+DMSO ($p<0,01$) gruplarında kolajen dağılım yüzdesi kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunun ise YYD ($p<0,01$) ve YYD+DMSO ($p<0,05$) gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir (Şekil 22).



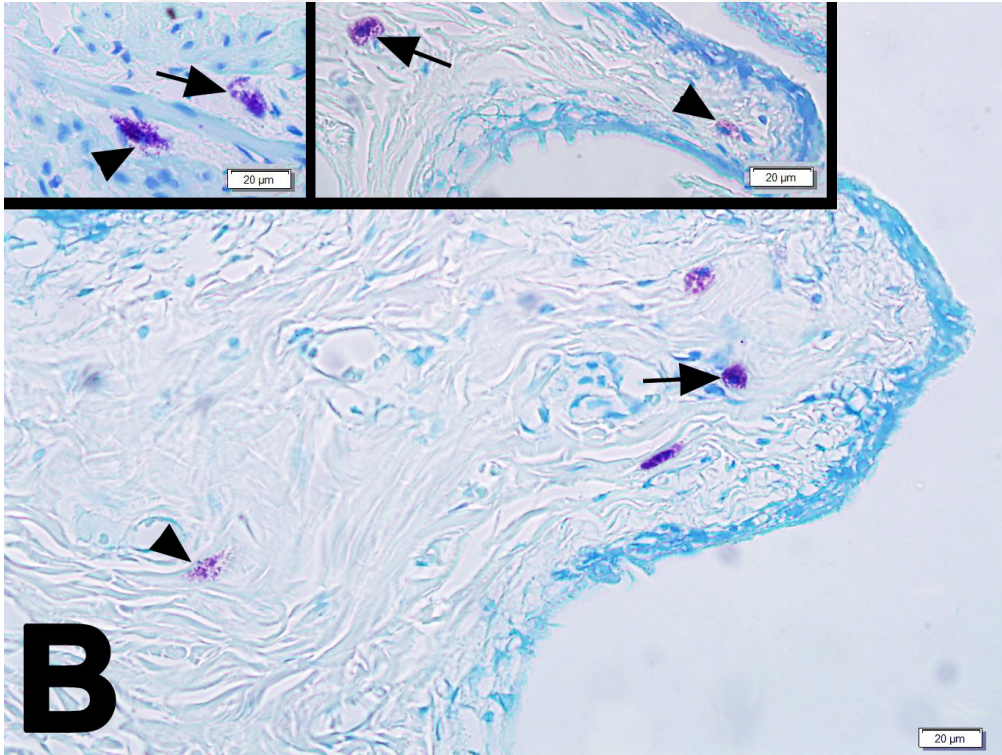
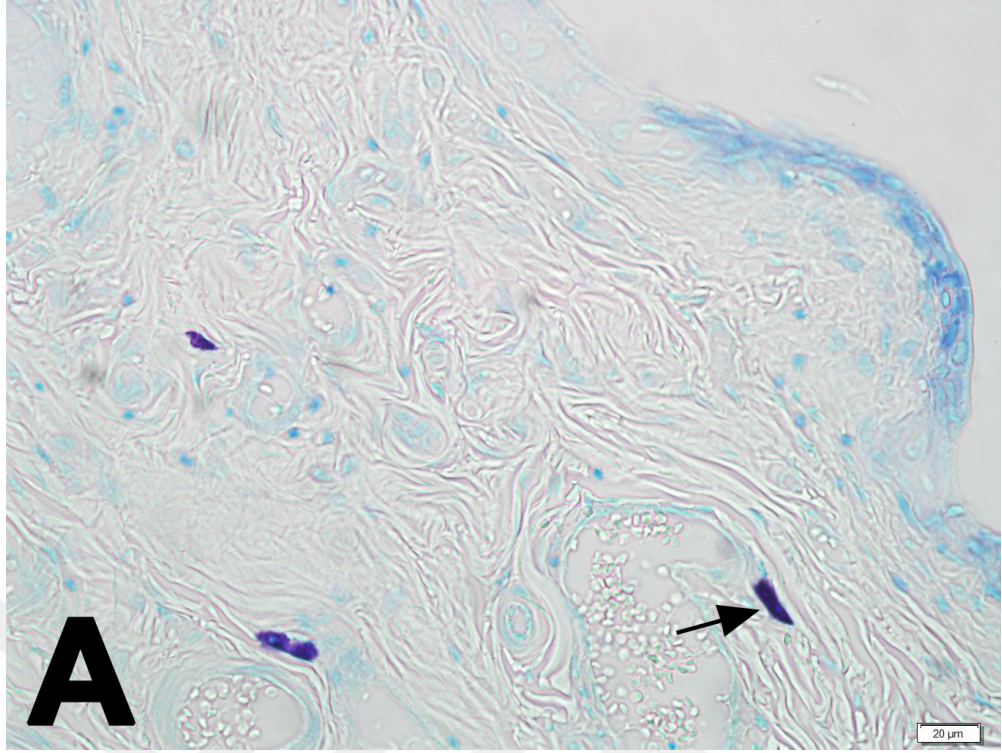
Şekil 15. Deney gruplarına ait mesane dokusunda kolajen dağılım yüzdesi. **: $p<0,01$ ve **: $p<0,001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait asitli toludin mavisi boyama yapılan mesane kesitlerinde kontrol grubunda lamina propriada az sayıda granüllü mast hücresi gözlenmiştir (Resim 7A).

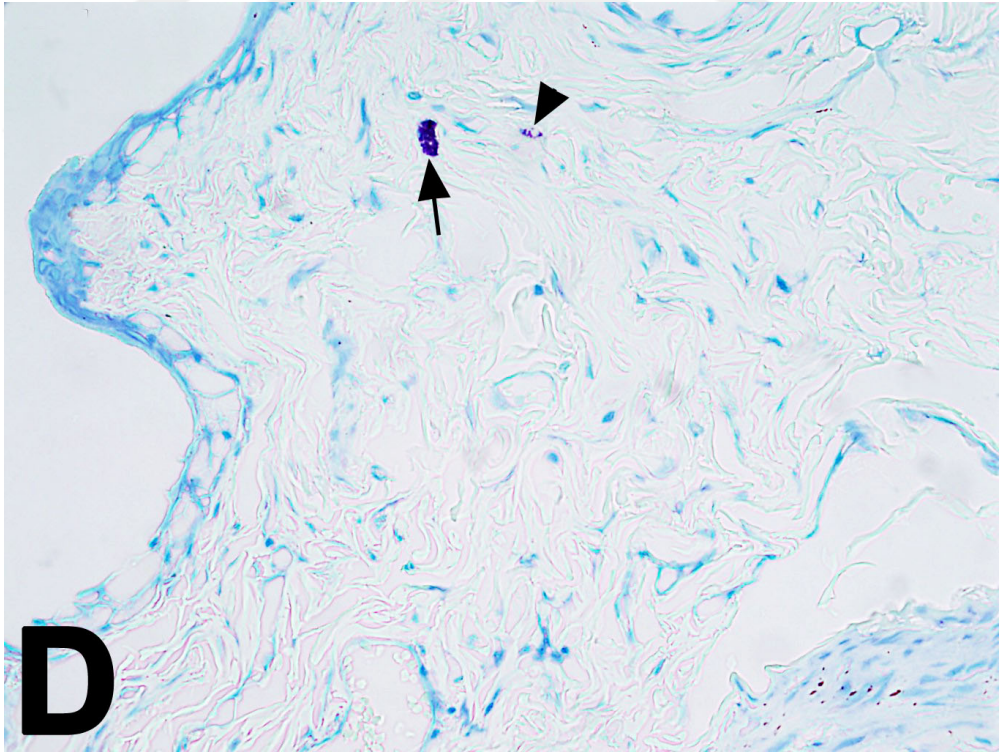
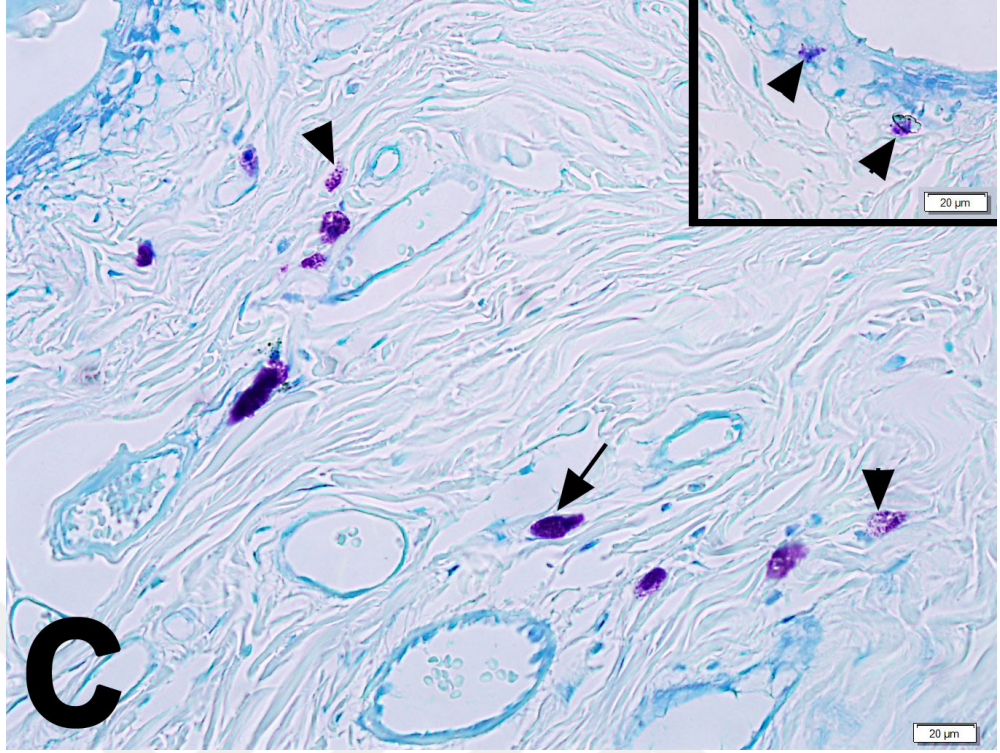
YYD grubunda lamina propriada ve kas tabakasında granüllü ve degranüle olmuş mast hücresi sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ürotelyum içine göç etmiş mast hücreleri gözlenmiştir (Resim 7B).

YYD+DMSO grubunda da lamina propriada ve kas tabakasında granüllü ve degranüle olmuş mast hücresi sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Ayrıca ürotelyum içine göç etmiş mast hücreleri gözlenmiştir (Resim 7C).

YYD+APS grubunda ise lamina propriada ve kas tabakasında granüllü ve degranüle olmuş mast hücresi sayısında azalma olduğu gözlenmiştir (Resim 7D)



Resim 7. Deney grupları mesane dokularına ait asitli toluidin mavisi ile boyalı preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. Ok: mast hücresi; ok başı: degranüle olmuş mast hücresi. Ölçek:20 µm, inset: 20 µm.



Resim 7-Devamı. Deney grupları mesane dokularına ait asitli toluidin mavisi ile boyalı preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. Ok: mast hücresi, ok başı: degranüle olmuş mast hücresi. Ölçek:20 µm, inset: 20 µm.

4.4. İmmünohistokimya Bulguları

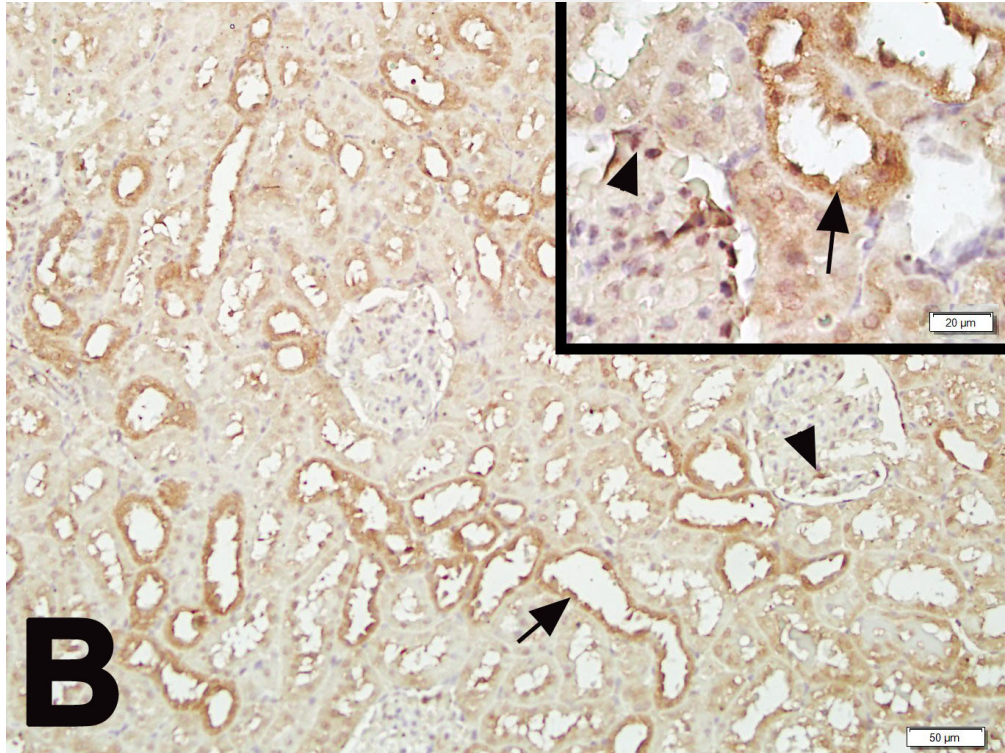
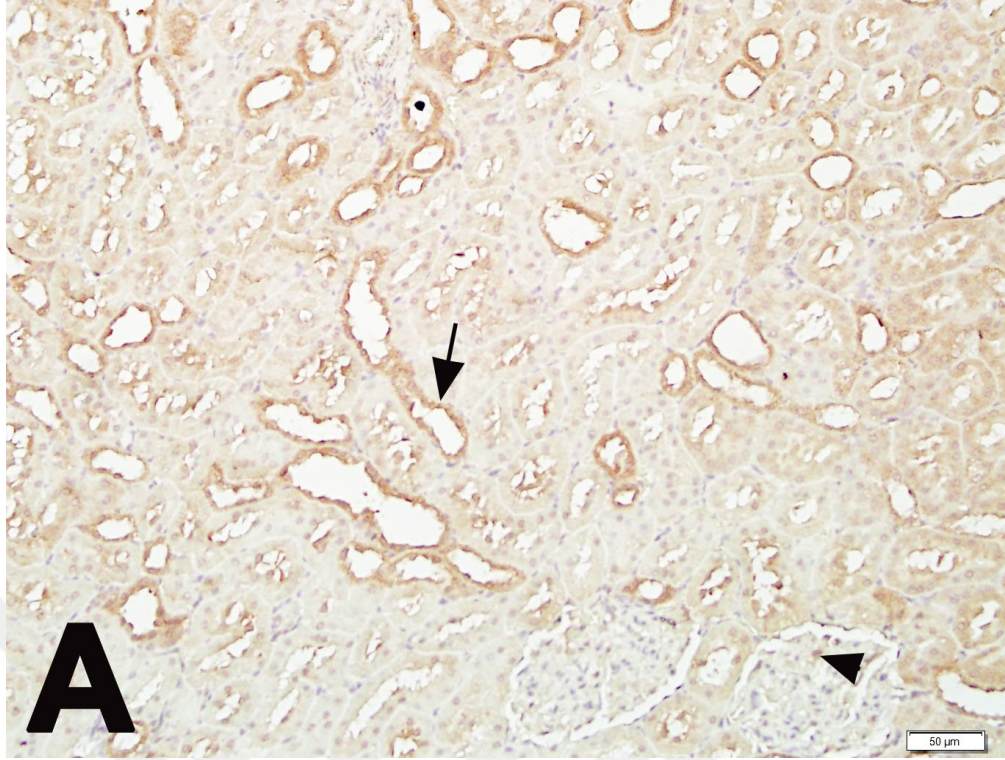
4.4.1. NOX-2, NF-κB, TGF-β1 ve PCNA immünohistokimya bulguları

Böbrek dokularının NOX-2 immünohistokimyasal incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda NOX-2 immünpozitif tübül epitel hücreleri ve glomerüler hücreler gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında ise kontrol grubuna göre artmış NOX-2 immünpozitif tübül epitel hücreleri ve glomerüler hücreler gözlenmiştir. YYD+APS grubunda kontrole benzer olduğu gözlenmiştir (Resim 8).

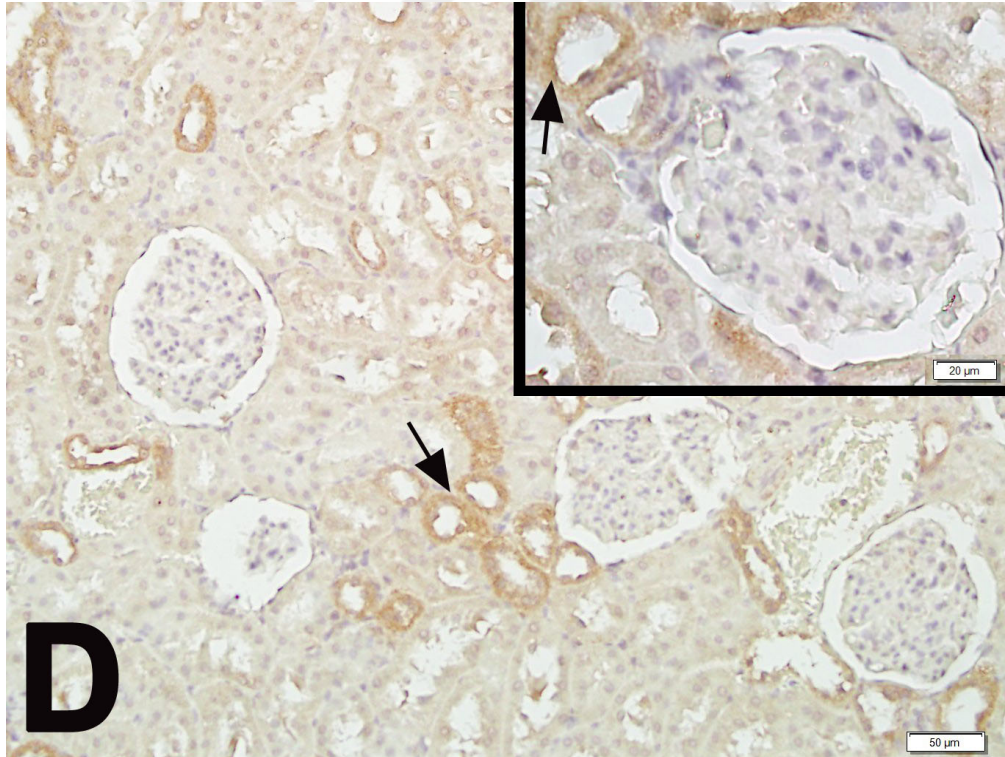
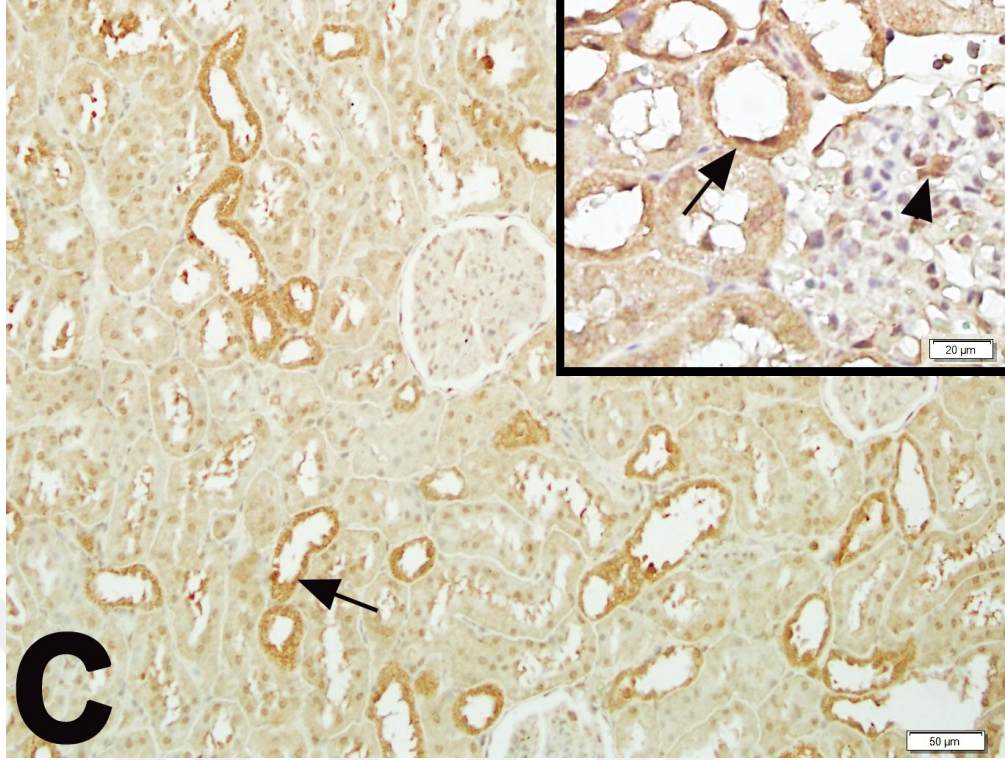
Böbrek dokularının NF-κB immünohistokimyasal incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda NF-κB immünpozitif tübül epitel hücreleri ve glomerüler hücreler gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında ise kontrol grubuna göre NF-κB immünpozitif tübül epitel hücrelerinde glomerüler mezangiyal hücrelerde artış gözlenmiştir. Özellikle bu gruplarda NF-κB immünpozitif makula densa hücrelerindeki artış dikkat çekmektedir. YYD+APS grubunda kontrole benzer NF-κB immünpozitif boyanma gözlenmiştir (Resim 10).

Böbrek dokularının TGF-β1 immünohistokimyasal incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda TGF-β1 immünpozitif tübül glomerüler mezangiyal hücrelerde ve interstisyumdaki hücrelerde gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında ise kontrol grubuna göre TGF-β1 immünpozitif glomerüler mezangiyal hücrelerde ve interstisyumdaki hücrelerde artış olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunda kontrole benzer TGF-β1 immünpozitif boyanma gözlenmiştir (Resim 9).

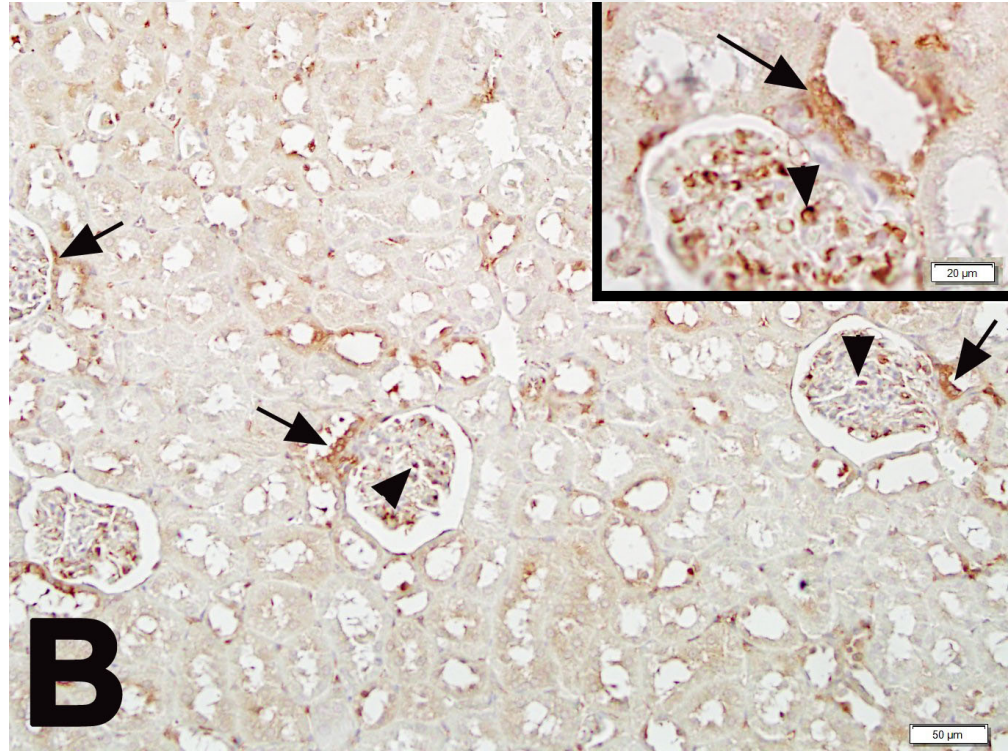
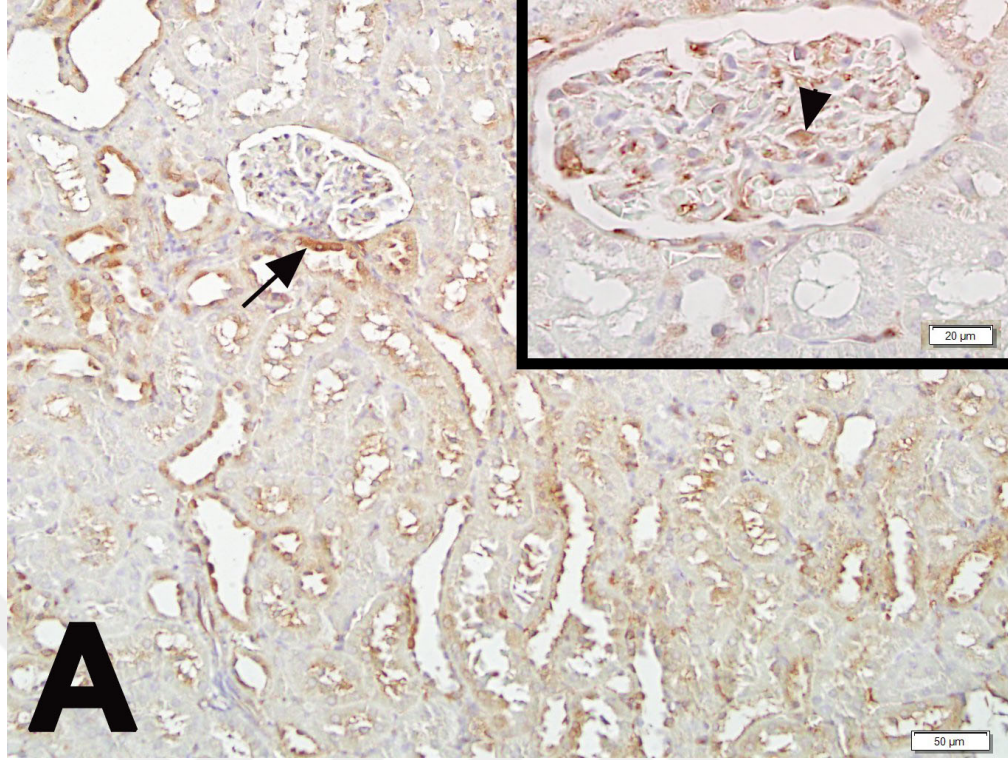
Böbrek dokularının PCNA immünohistokimyasal incelenmesi sonucunda tüm deney gruplarında PCNA immünpozitif tübül hücrelerinin varlığı gözlenmiştir. Gruplar arasında boyanan hücre yoğunluğu açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Resim 10).



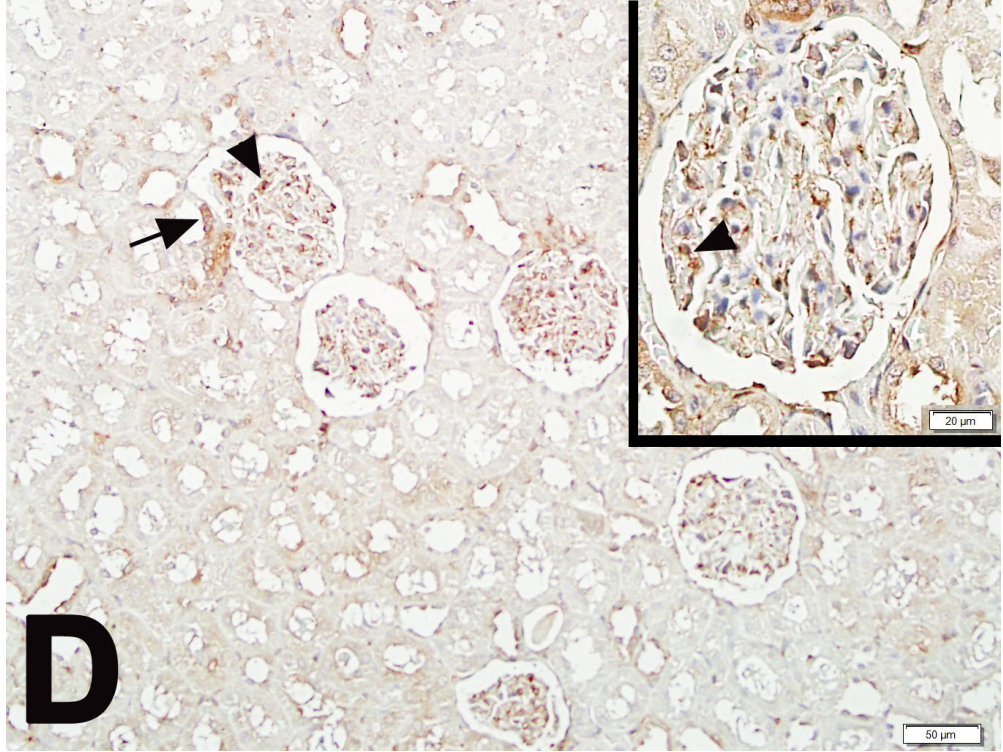
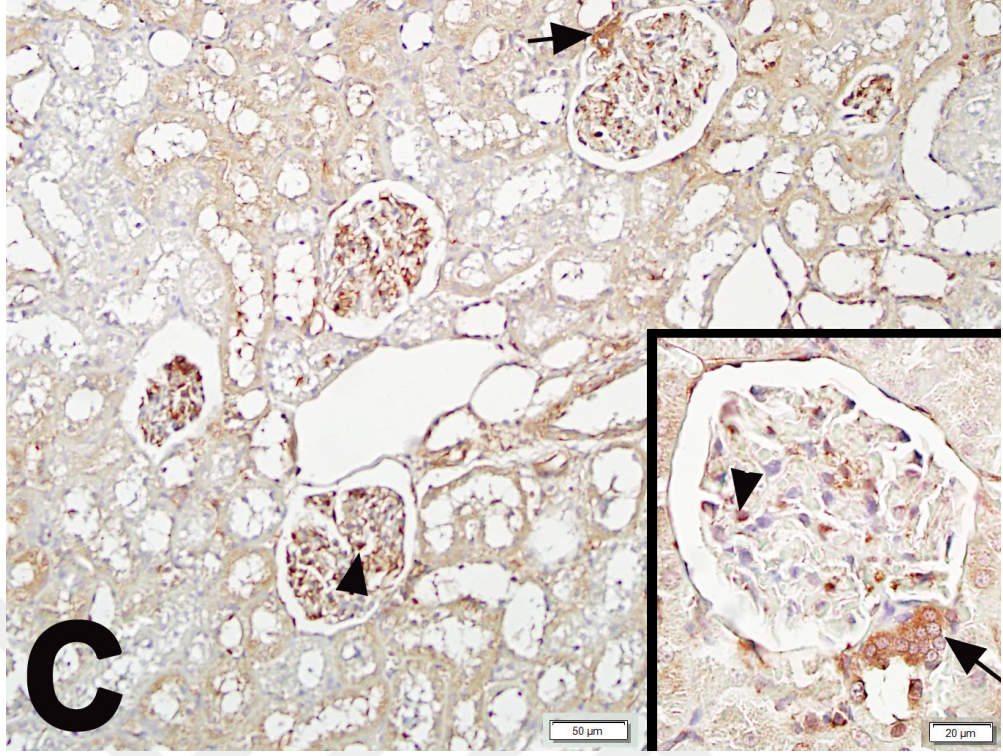
Resim 8. Deney gruplarının böbrek dokularına ait NOX-2 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. NOX-2 immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok) ve glomerül hücreleri (ok başı). Ölçek: 50 µm, 20 µm.



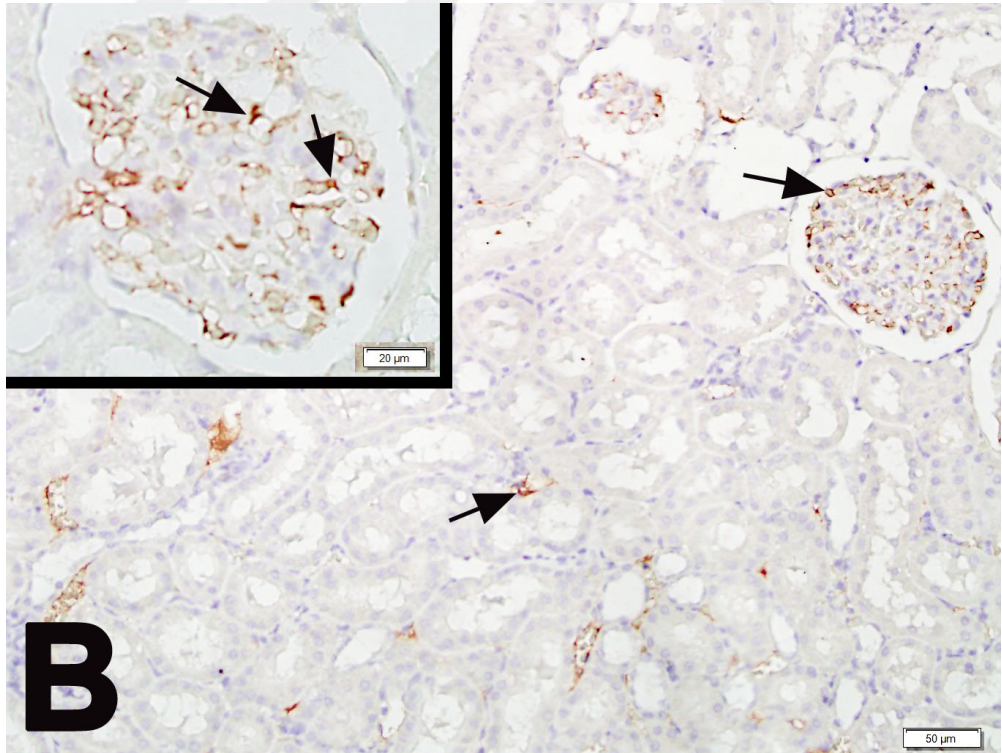
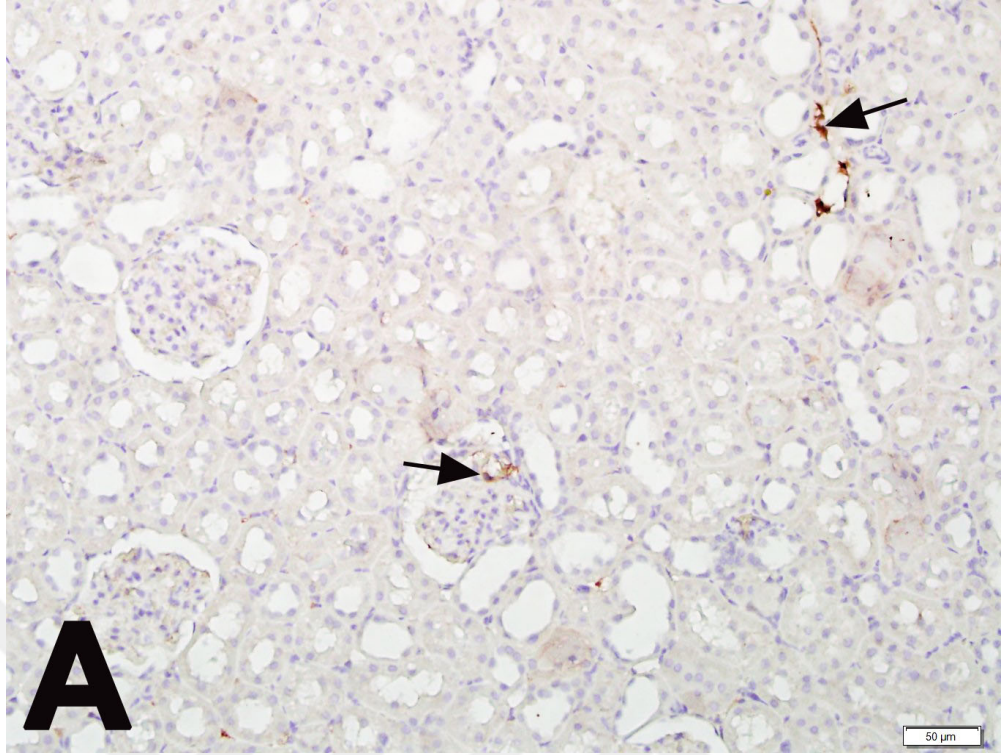
Resim 8-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait NOX-2 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. NOX-2 immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok) ve glomerül hücreleri (ok başı). Ölçek: 50 µm, 20 µm.



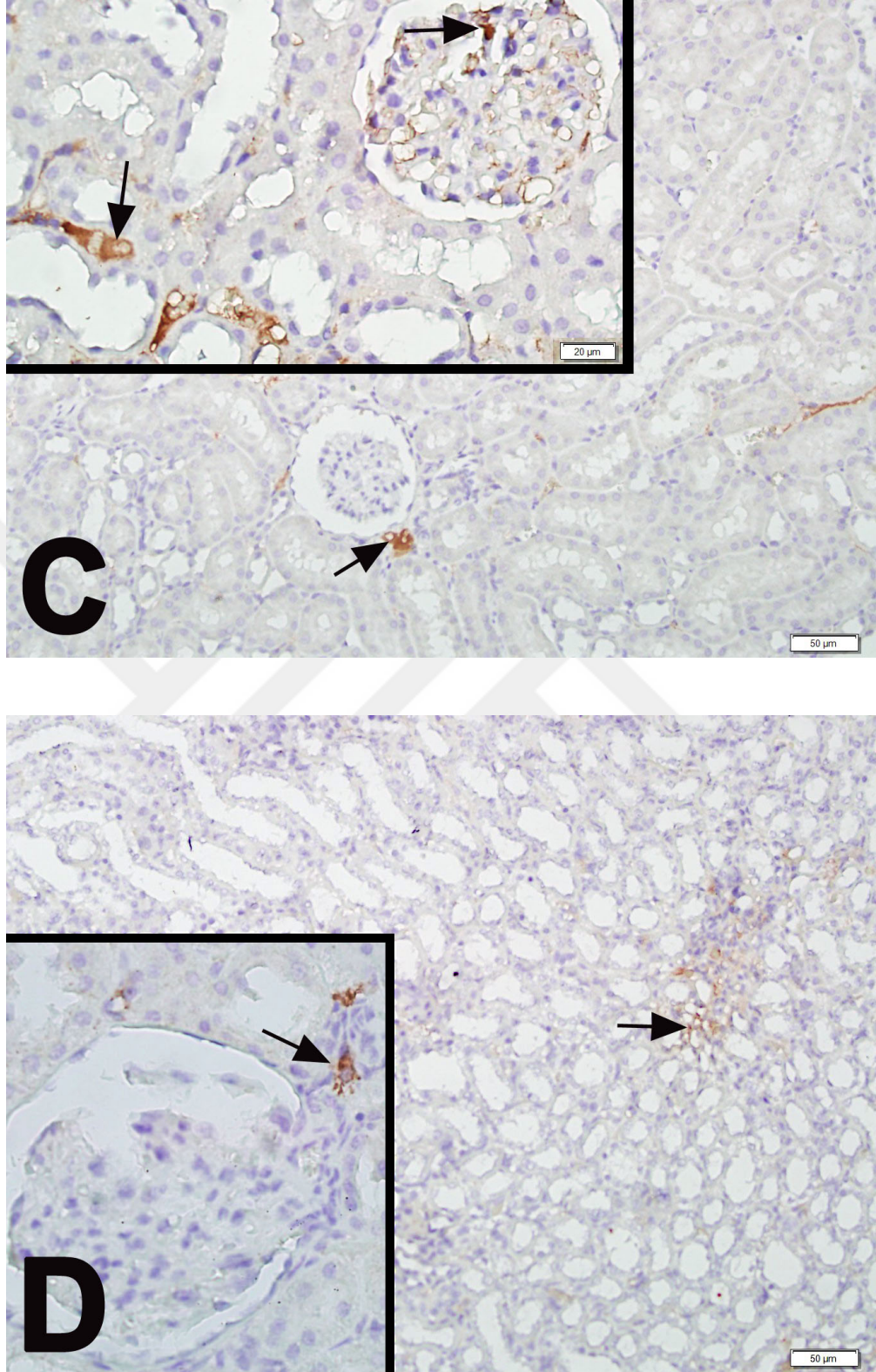
Resim 9. Deney gruplarının böbrek dokularına ait NF- κ B immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrogramları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. NF- κ B immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok) ve glomerül hücreleri (ok başı). Ölçek: 50 μ m, 20 μ m.



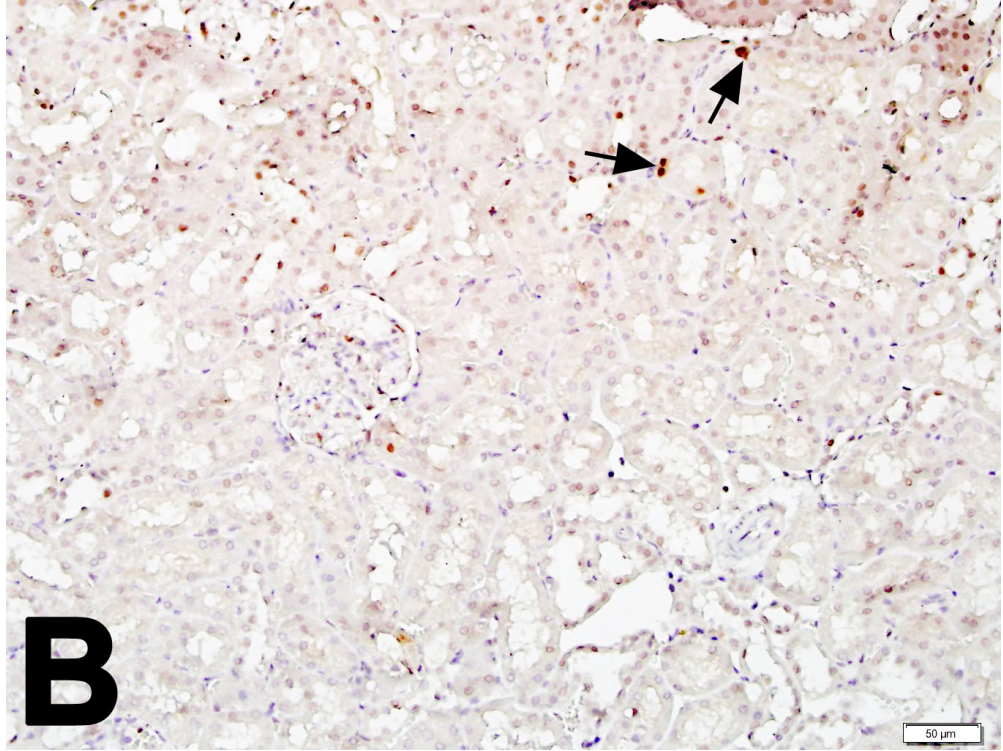
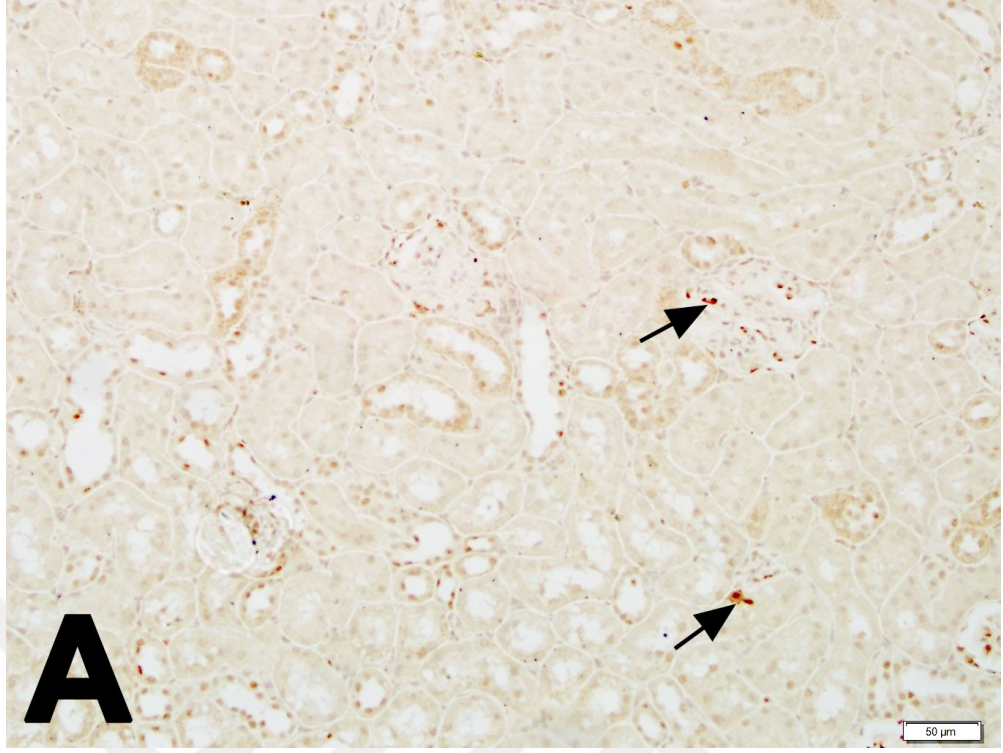
Resim 9-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait NF- κ B immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. NF- κ B immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok) ve glomerül hücreleri (ok başı). Ölçek: 50 μ m, 20 μ m.



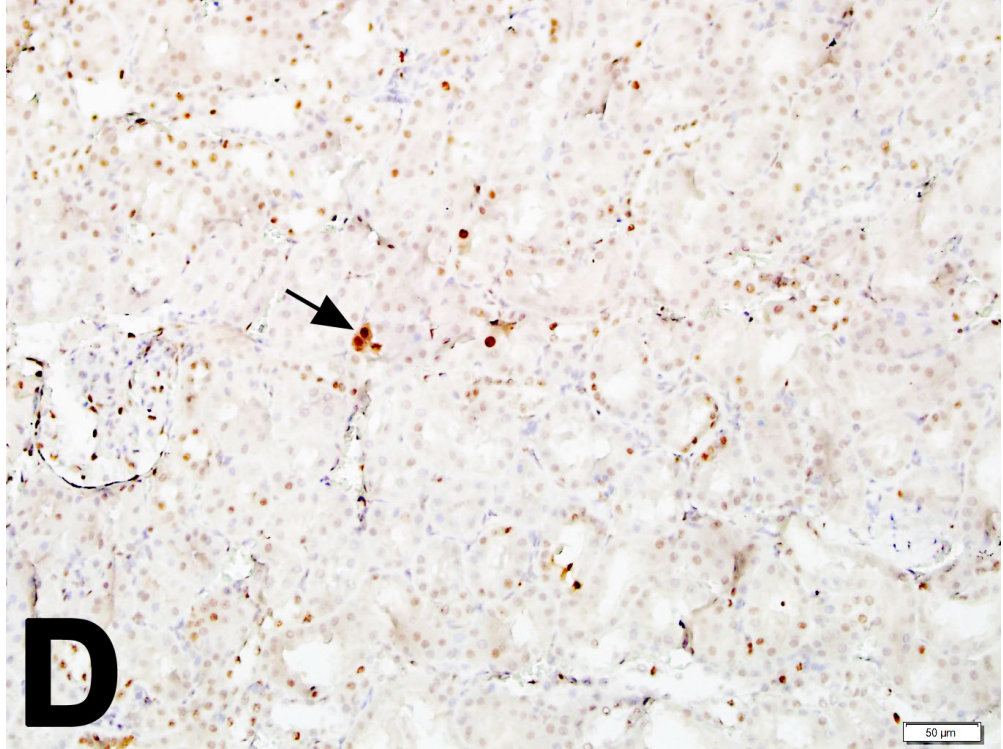
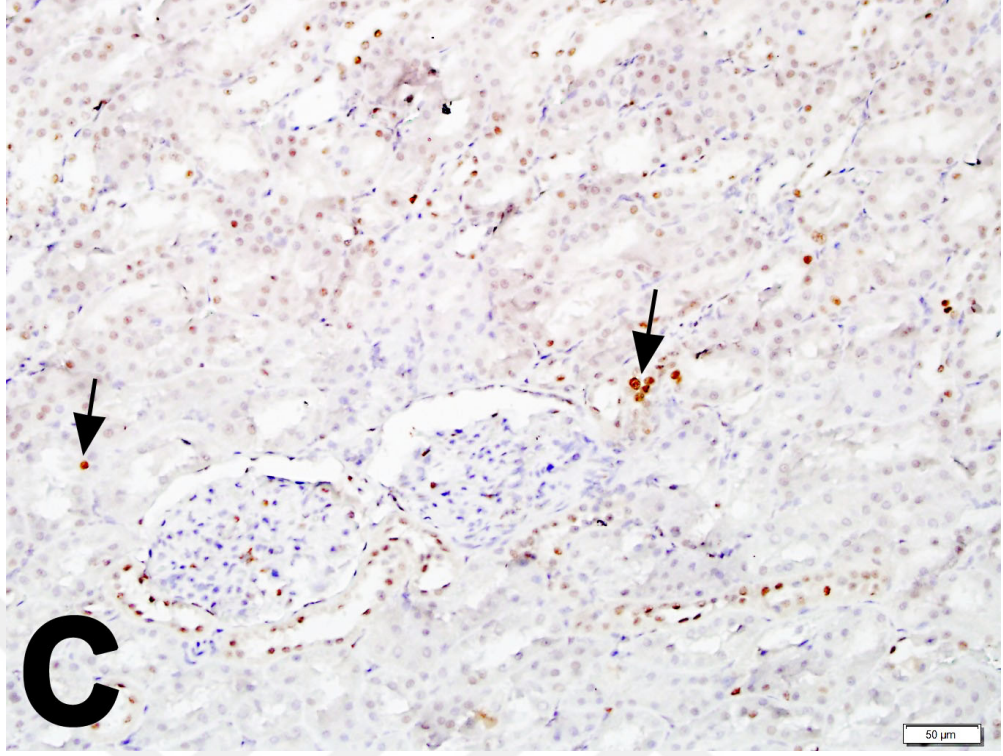
Resim 10. Deney gruplarının böbrek dokularına ait TGF- β 1 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. TGF- β 1 immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok) ve glomerül hücreleri (ok başı). Ölçek: 50 μ m, 20 μ m.



Resim 10-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait TGF- β 1 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikroagrafları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. TGF- β 1 immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok) ve glomerül hücreleri (ok). Ölçek: 50 μ m, 20 μ m.

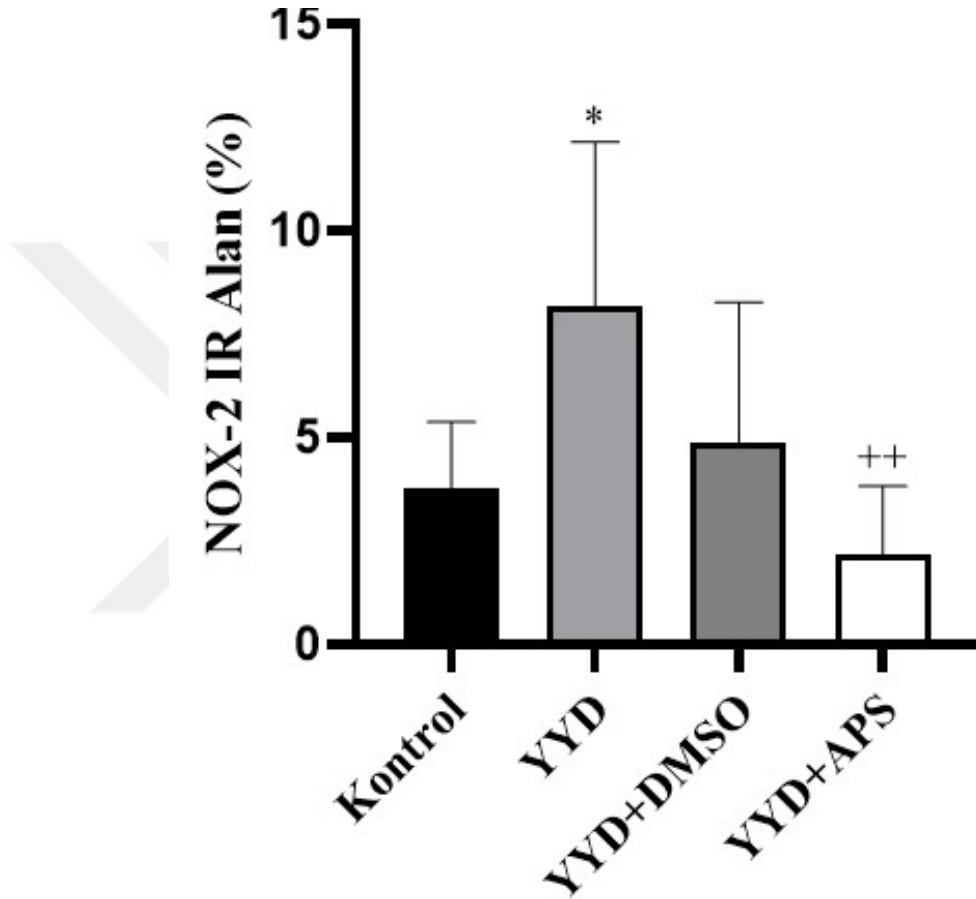


Resim 11. Deney gruplarının böbrek dokularına ait PCNA immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrogramları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. PCNA immün pozitif tübül epitel hücreleri (ok). Ölçek: 50 µm.



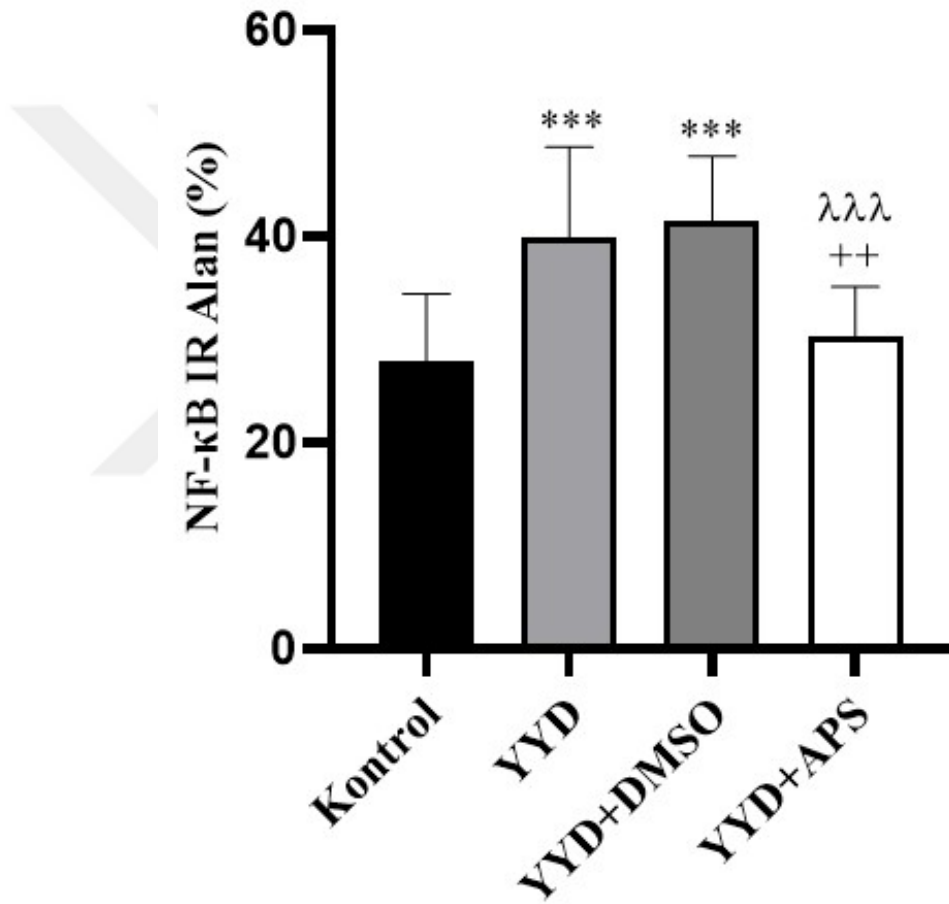
Resim 11-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait PCNA immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. PCNA immünopozitif tübül epitel hücreleri (ok). Ölçek: 50 µm.

Deney gruplarına ait böbrek örneklerinin NOX-2 immünreaktif (IR) alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,05$) kontrol grubuna göre artış olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunda ($p<0,01$) ise YYD grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş gözlenmiştir (Şekil 16).



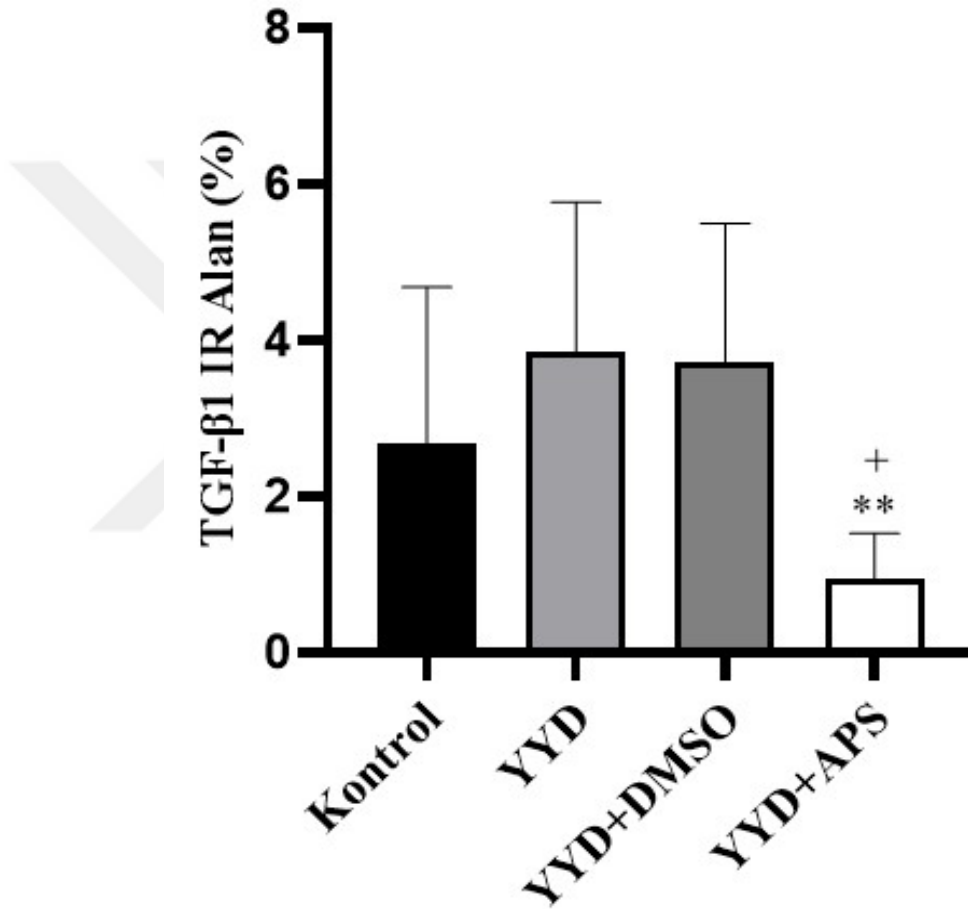
Şekil 16. Deney gruplarında böbrek NOX-2 IR alan yüzdesi grafiği. *: $p<0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait böbrek örneklerinin NF- κ B IR alan yüzdesi değerlendirilmesinde. YYD ve YYD+DMSO grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0,001$). YYD+APS grubunda IR alan yüzdesi YYD ($p<0,01$) ve YYD+DMSO ($p<0,001$) gruplarına kıyasla azalma olduğu gözlenmektedir (Şekil 17).



Şekil 17. Deney gruplarında böbrek NF- κ B IR alan yüzdesi grafiği. ***: $p<0,0001$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; ++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λλλ: $p<0,001$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait böbrek örneklerinin TGF- β 1 IR alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD ve YYD+DMSO gruplarında kontrol grubuna kıyasla TGF- β 1 IR alan yüzdesi artmış olmakla birlikte istatistiksel anlamlı bulunmamıştır. YYD+APS grubunda ise TGF- β 1 IR alan yüzdesinde YYD ($p<0,05$) ve YYD+DMSO ($p<0,01$) gruplarına kıyasla düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 18).

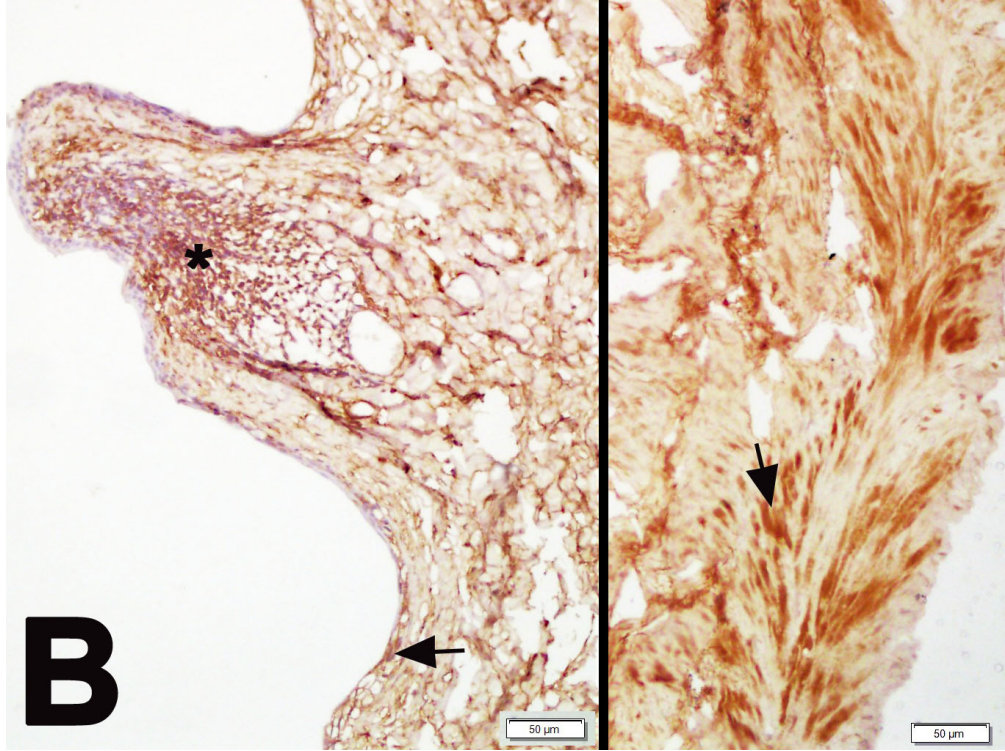
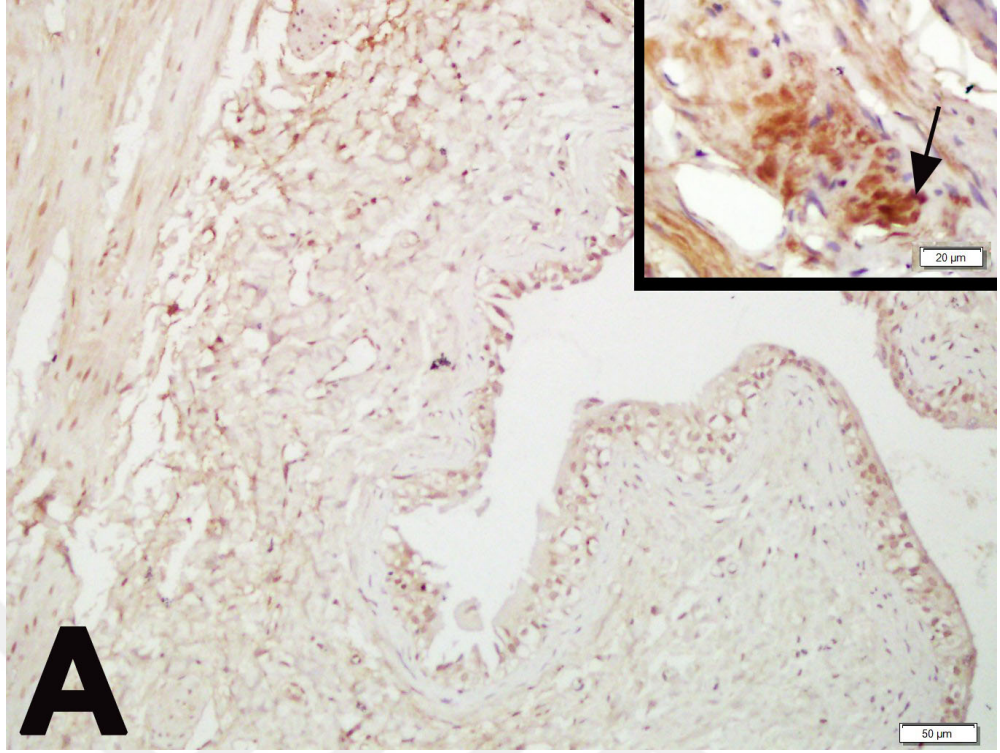


Şekil 18. Deney gruplarında böbrek TGF- β 1 IR alan yüzdesi grafiği. **: $P<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

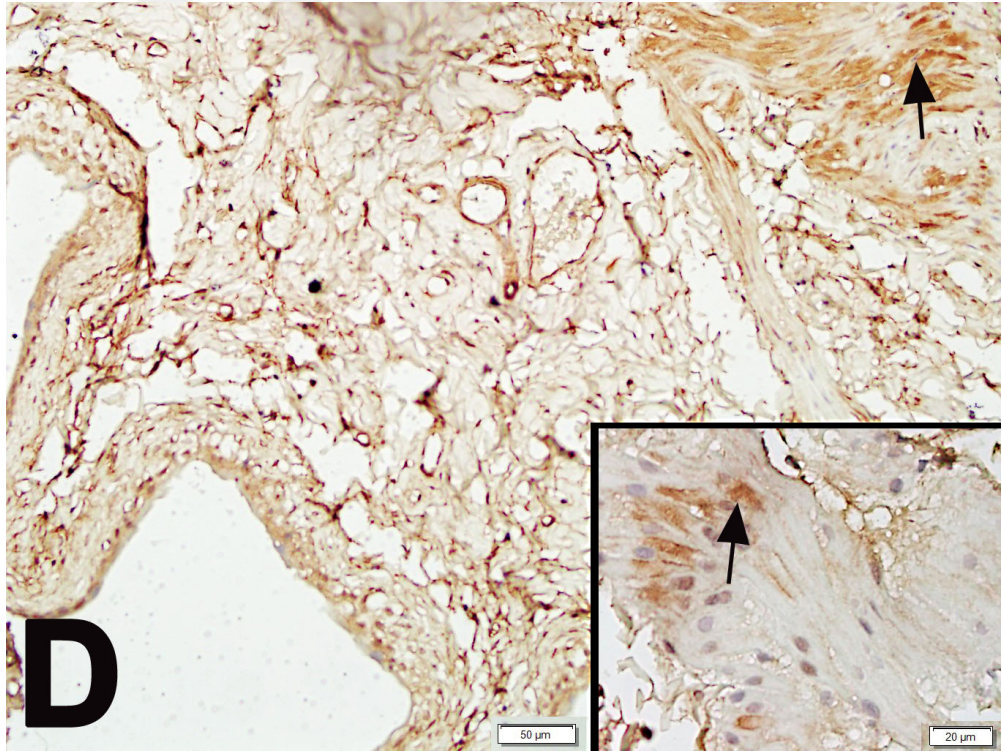
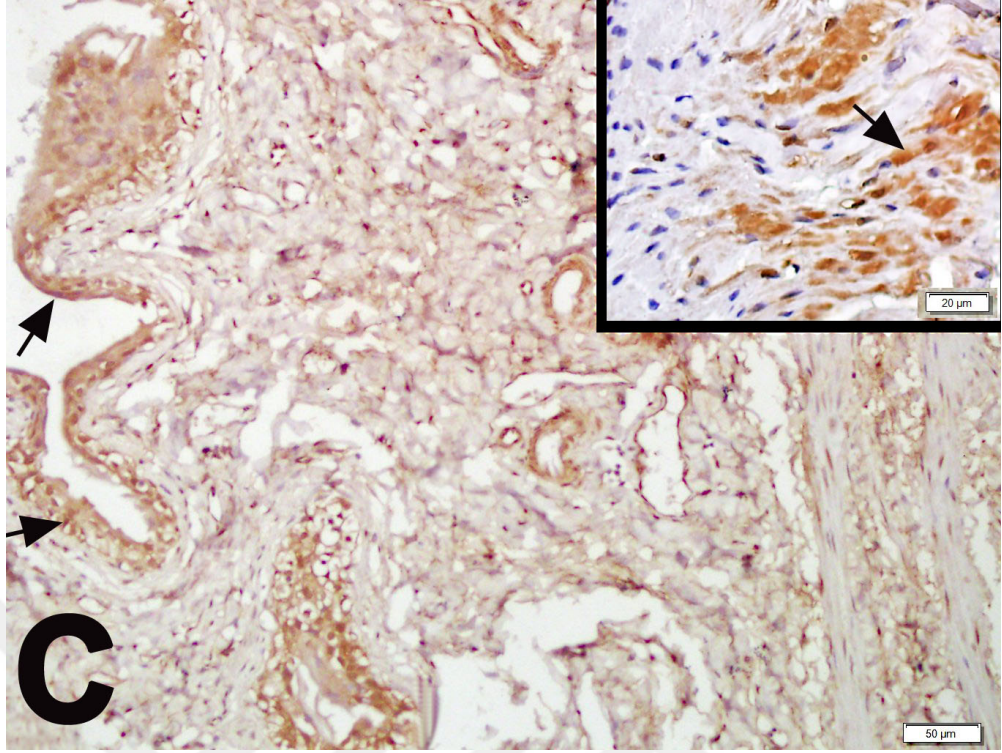
Mesane dokularının NOX-2 immünohistokimyasal incelemesinde kontrol grubunda genel anlamda boyanmanın az olduğu; ancak lokal kas tabakasında boyanma olduğu gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında, ürotelyumdaki hücrelerin bir kısmında, lamina propriada yer alan enflamatuvar hücrelerde ve kas tabakasında lokal boyanma gözlenmiştir. YYD+APS grubunda ise NOX-2 immünopozitif hücrelerin azaldığı gözlenmiştir (Resim 12).

Mesane dokularının NF- κ B immünohistokimyasal incelemesinde kontrol grubunda genel anlamda boyanmanın az olduğu gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında ürotelyum bazal tabakasında ve lamina propriada yer alan enflamatuvar hücrelerde yoğun boyanma gözlenmiştir. YYD+APS grubunda ise NF- κ B immünopozitif boyanmış hücrelerin azaldığı gözlenmiştir (Resim 13).

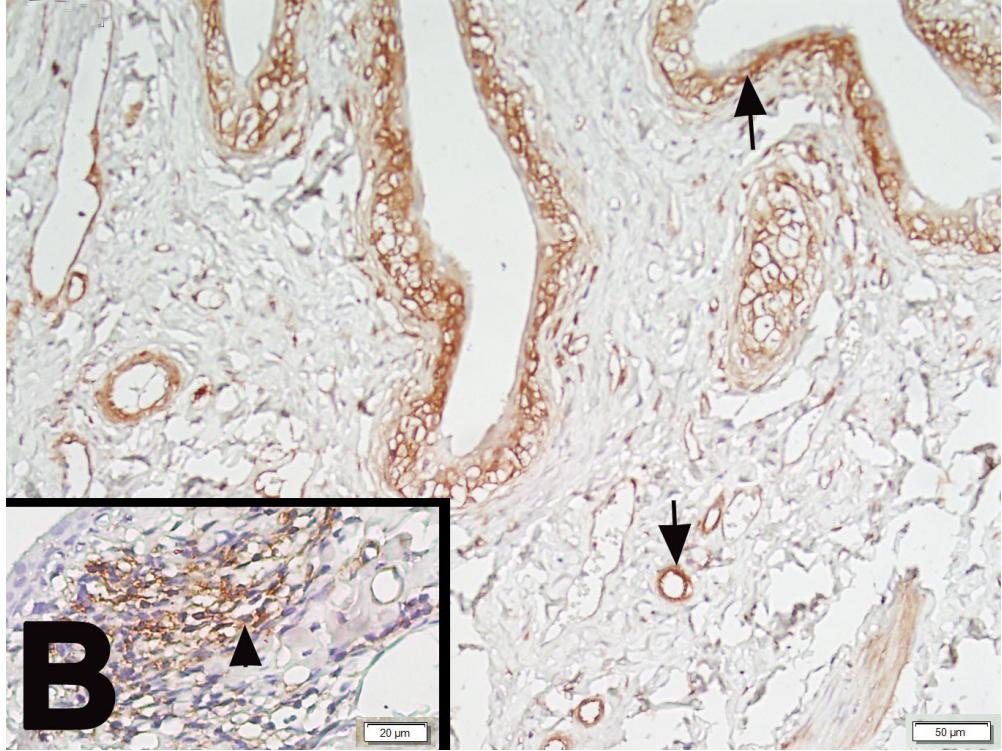
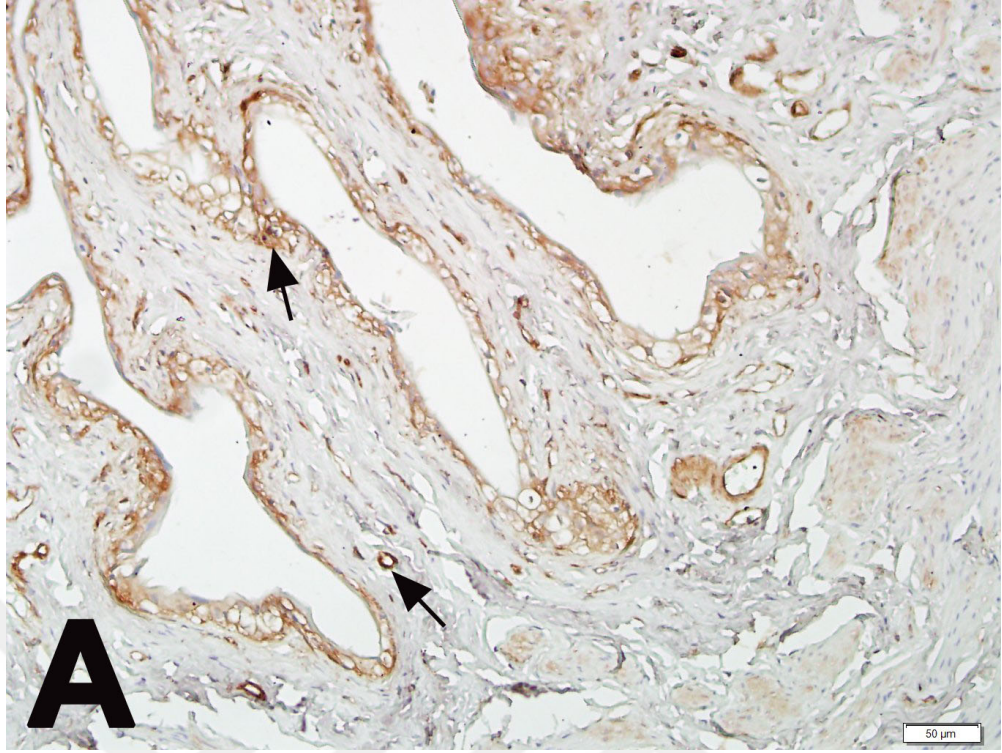
Mesane dokularının PCNA immünohistokimyasal incelemesinde tüm deney gruplarında ürotelyumun bazal tabakasındaki epitelyum hücrelerinde PCNA immüno pozitif hücreler gözlenmiştir. Gruplar arasında boyanan hücre yoğunluğu açısından anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Resim 14).



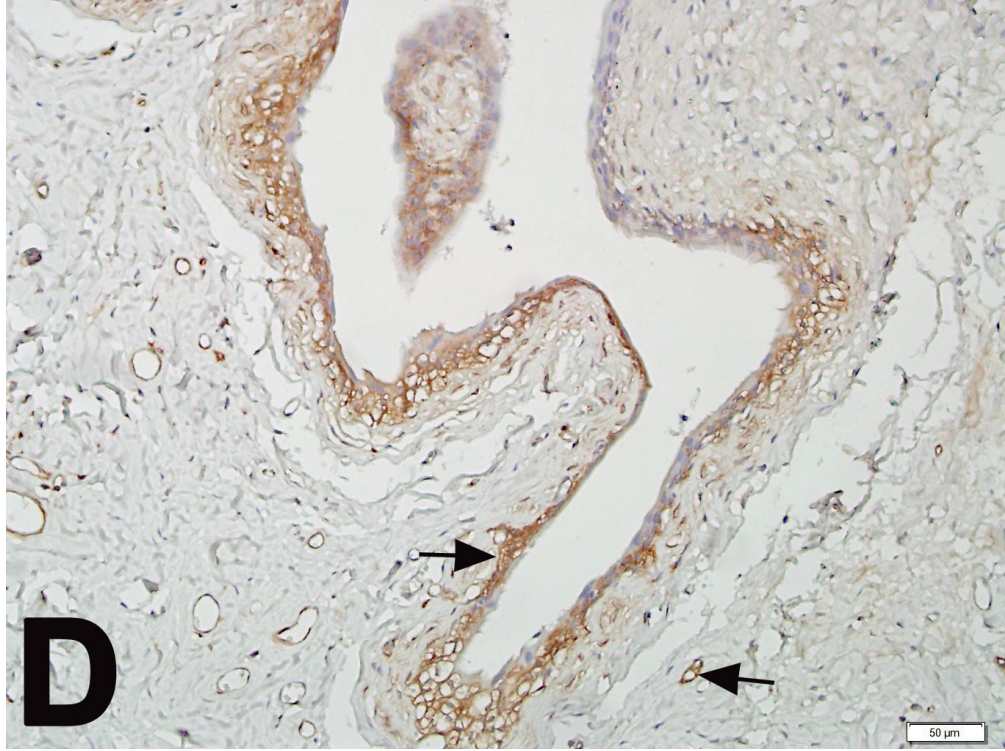
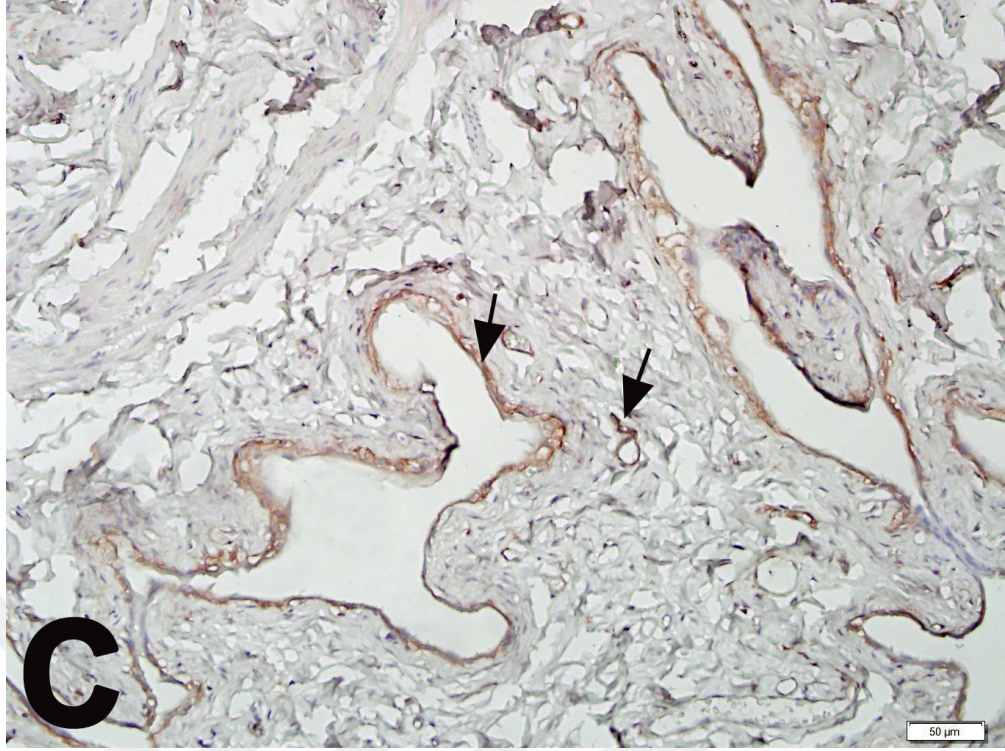
Resim 12. Deney gruplarının mesane dokularına ait NOX-2 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. NOX-2 immün pozitif ürotelyal epitel hücreleri (ok), enflamatuvar hücreler (yıldız) ve düz kas hücreleri (ok, B inset). Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm (A) ve 50 µm (B).



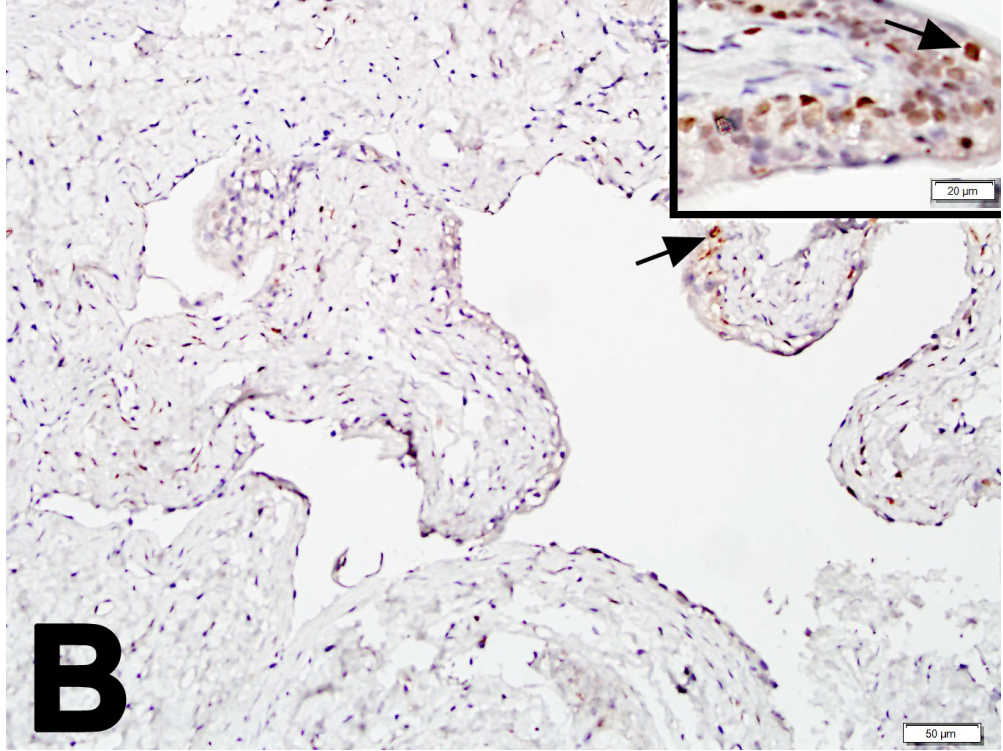
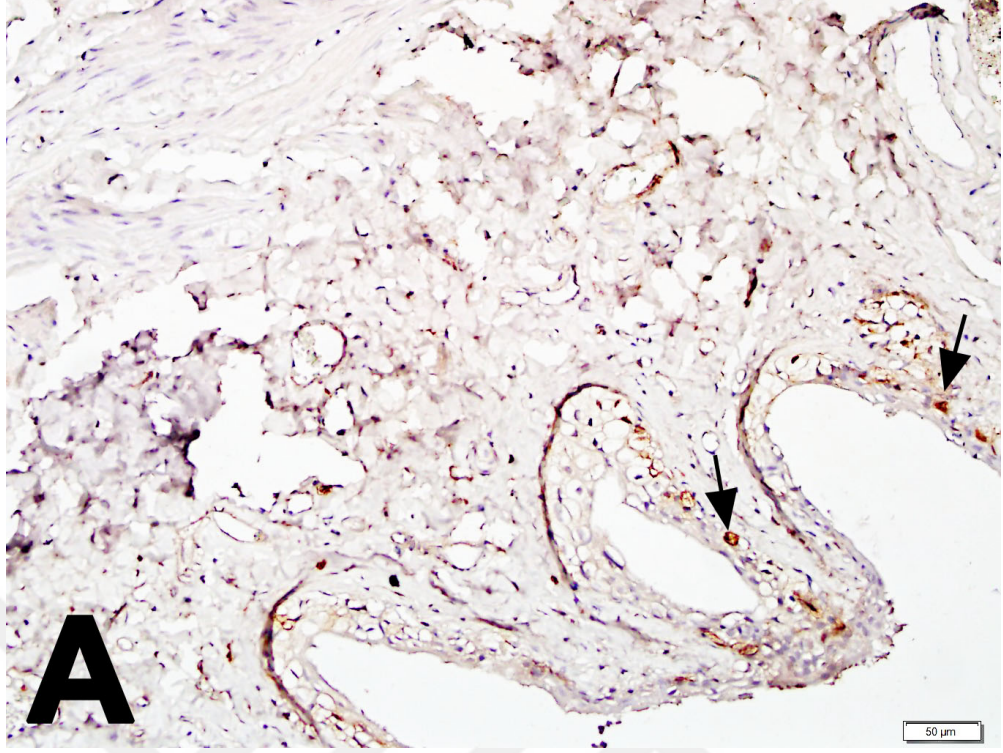
Resim 12-Devamı. Deney gruplarının mesane dokularına ait NOX-2 immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. NOX-2 immün pozitif ürotelyal epitel hücreleri (ok, C) ve düz kas hücreleri (ok, C inset ve D). Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.



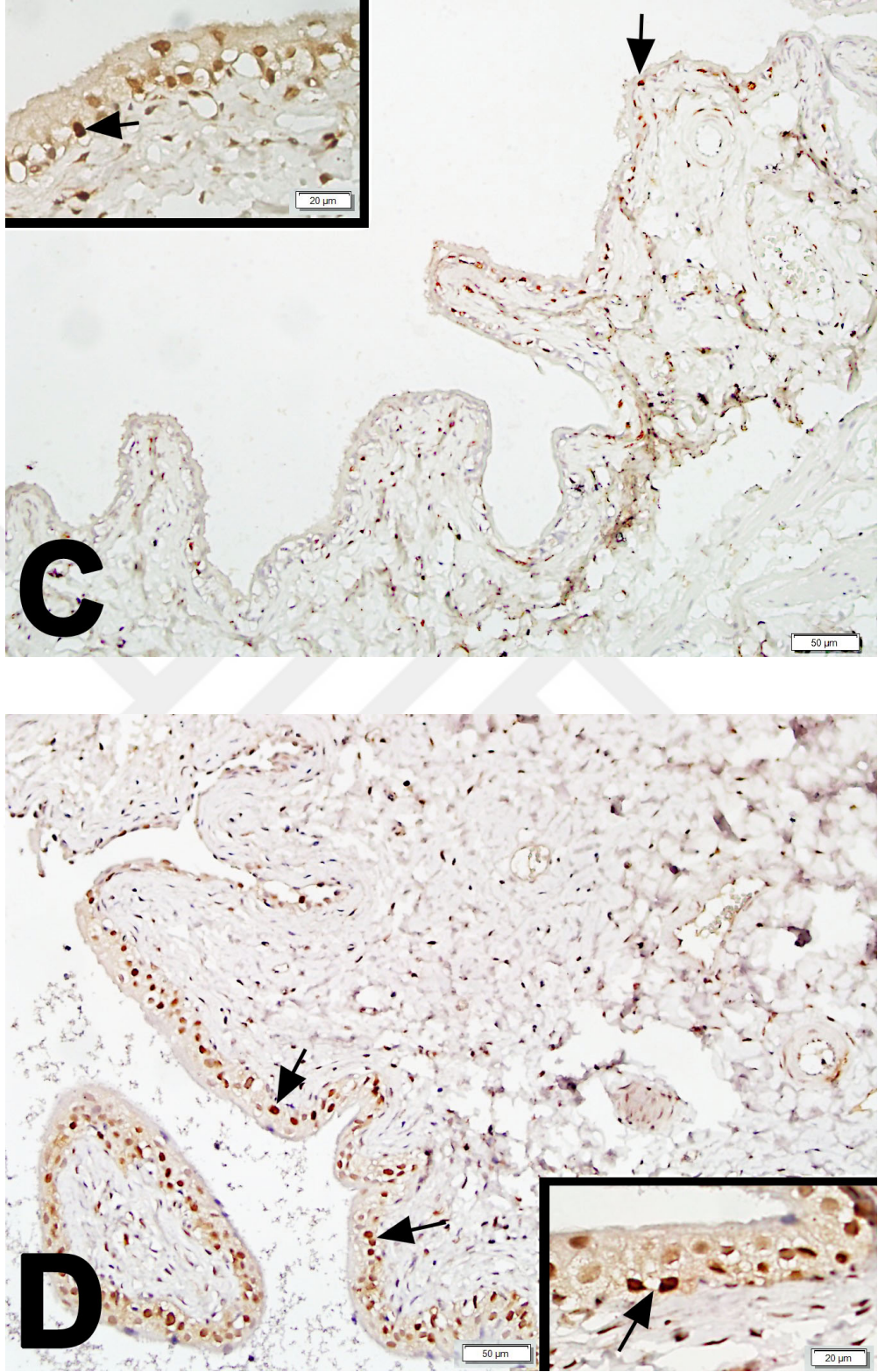
Resim 13. Deney gruplarının mesane dokularına ait NF- κ B immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. NF- κ B immün pozitif ürotelyal epitel hücreleri (ok) ve enflamatuvar hücreler (ok başı). Ölçek: 50 μ m, inset: 20 μ m.



Resim 13-Devamı. Deney gruplarının mesane dokularına ait NF- κ B immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. NF- κ B immün pozitif ürotelyal epitel hücreleri (ok). Ölçek: 50 μ m.

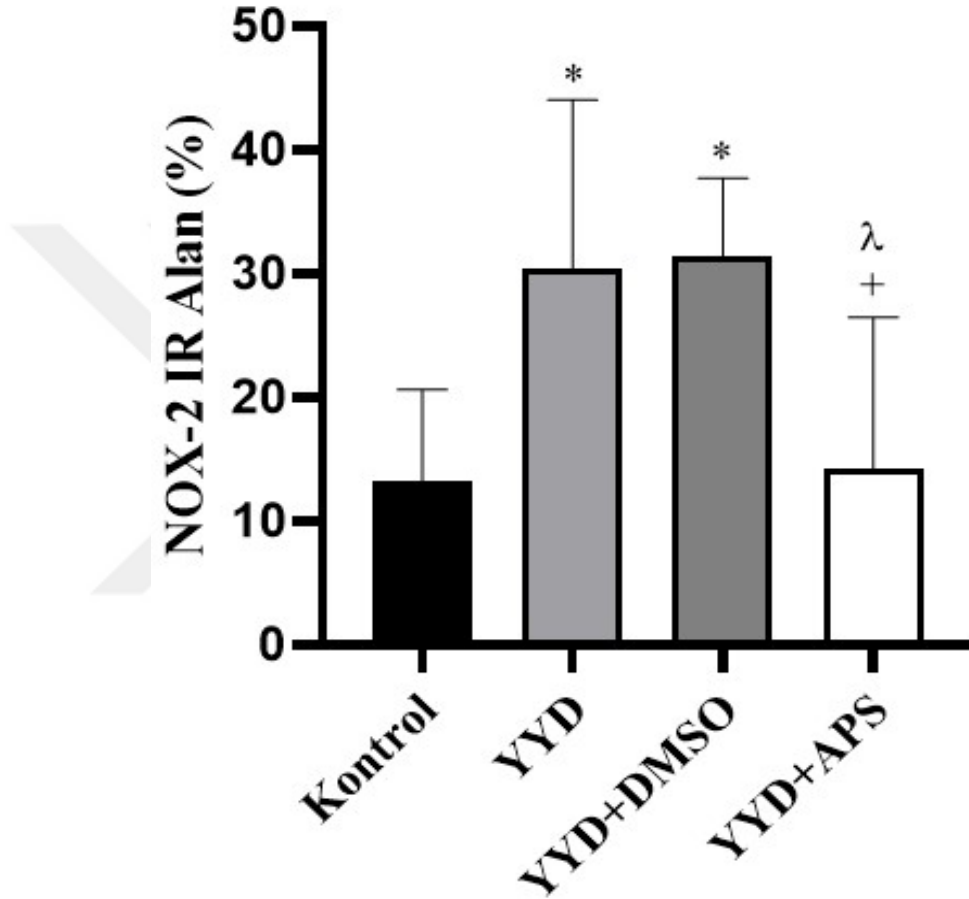


Resim 14. Deney gruplarının mesane dokularına ait PCNA immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikroagrafları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. PCNA immün pozitif ürotelyumun bazal tabakasındaki epitel hücreleri (ok). Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.



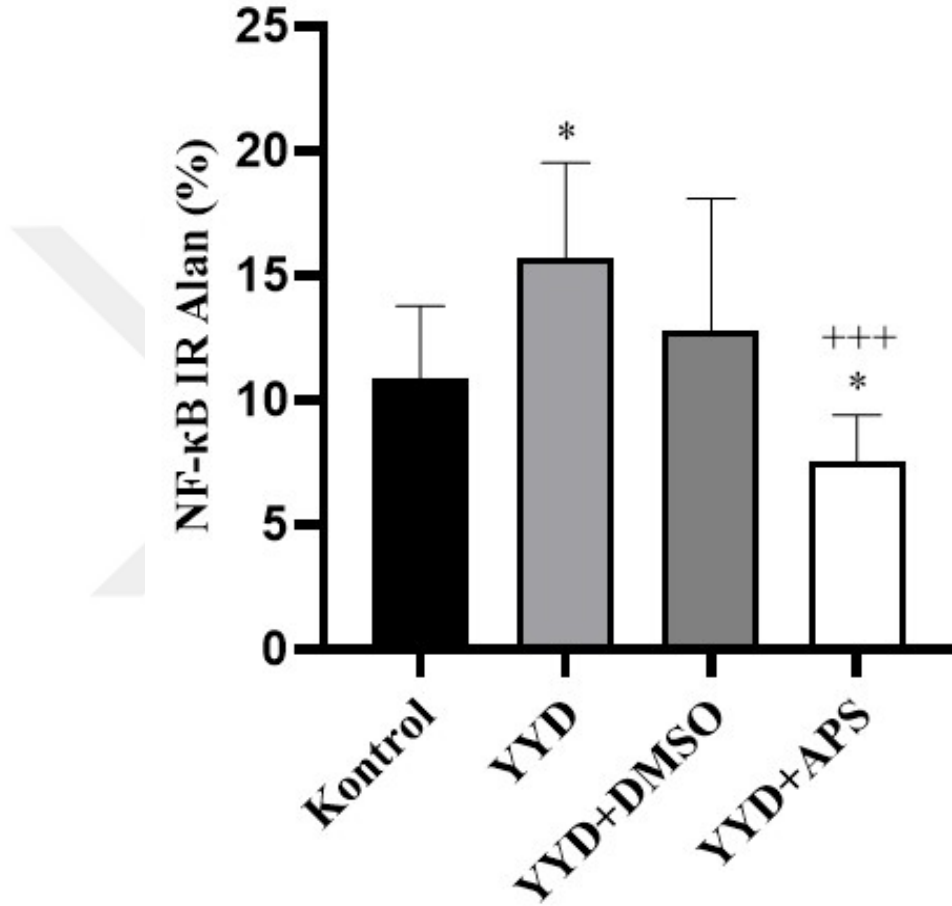
Resim 14-Devamı. Deney gruplarının mesane dokularına ait PCNA immünohistokimyası uygulanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. PCNA immün pozitif ürotelyumun bazal tabakasındaki epitel hücreleri (ok). Ölçek: 50 µm, inset: 20 µm.

Deney gruplarına ait mesane örneklerinin NOX-2 IR alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD ve YYD+DMSO gruplarında ($p<0,05$), kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunda ($p<0,05$) ise YYD ve YYD+DMSO gruplarına kıyasla düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Deney gruplarında mesane NOX-2 IR alan yüzdesi grafiği. *: $p<0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

Deney gruplarına ait mesane örneklerinin NF- κ B IR alan yüzdesi değerlendirilmesinde YYD grubunda ($p<0,05$) kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. YYD+APS grubunda ise YYD ($p<0,001$) ve kontrol gruplarına ($p<0,05$) kıyasla düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 20).



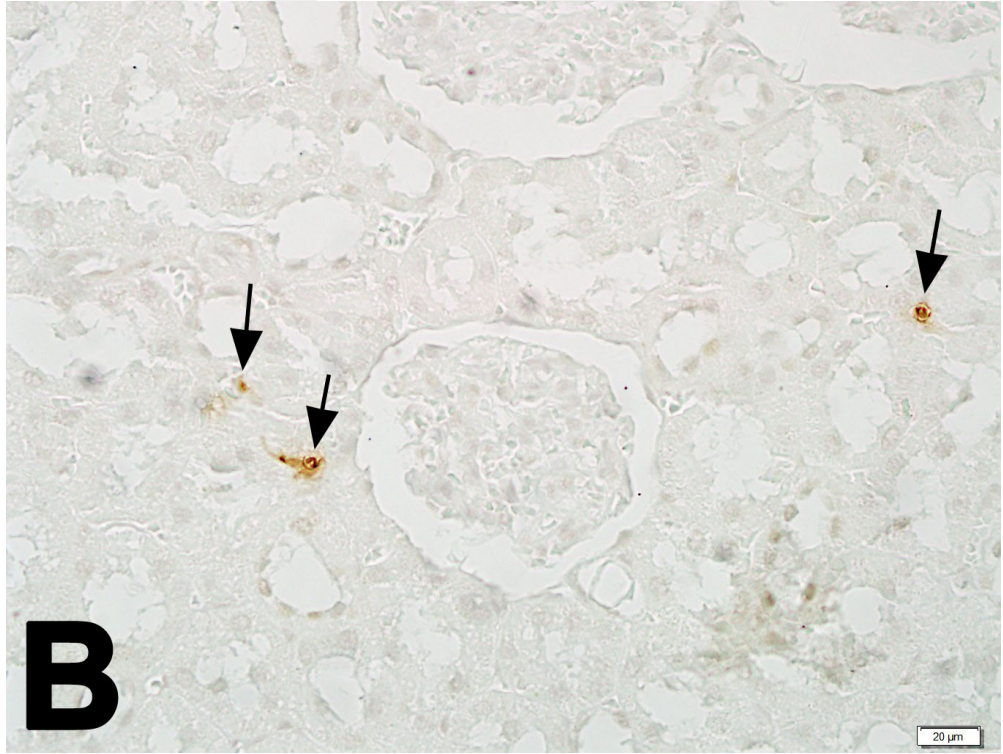
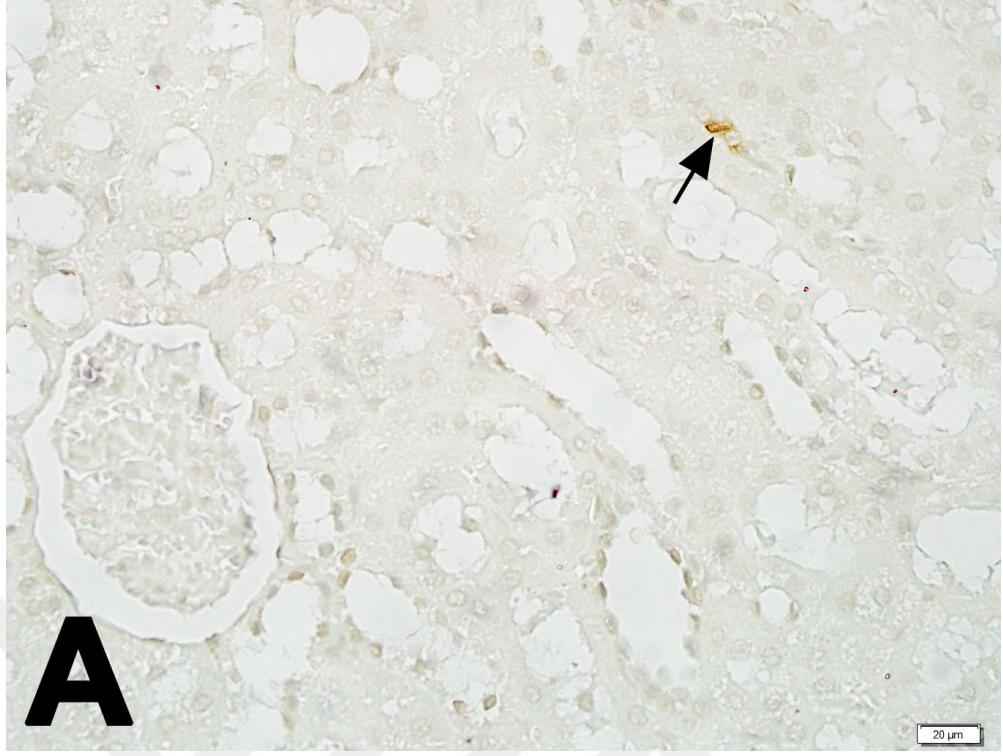
Şekil 20. Deney gruplarında mesane NF- κ B IR alan yüzdesi grafiği. *: $p<0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +++: $p<0,01$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında.

4.4.2. TUNEL Bulguları

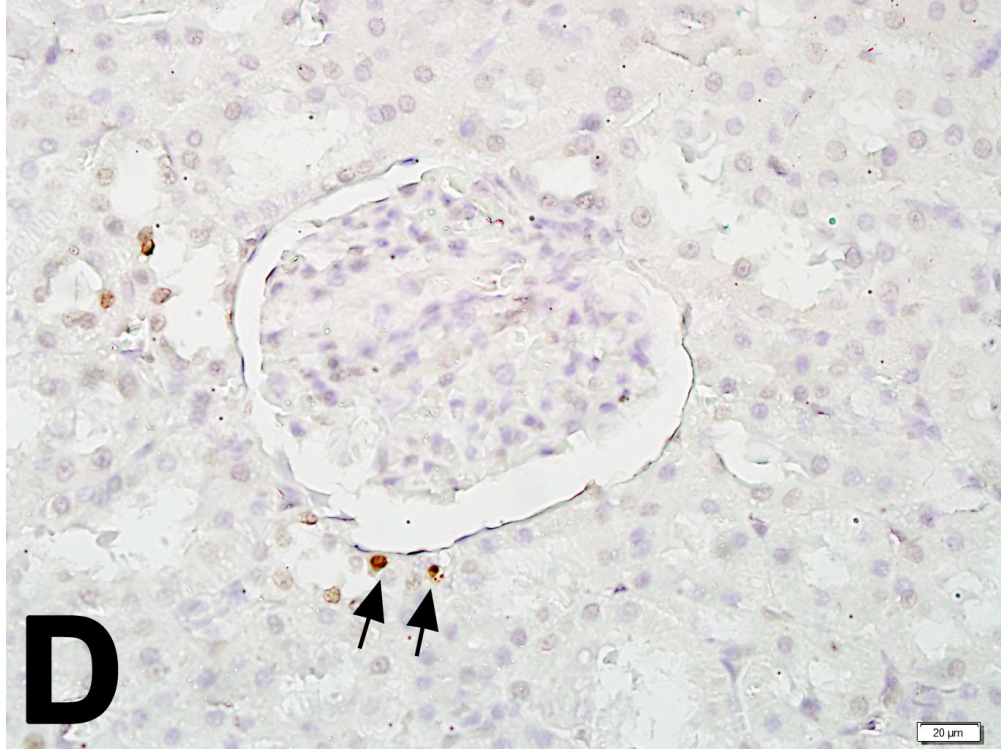
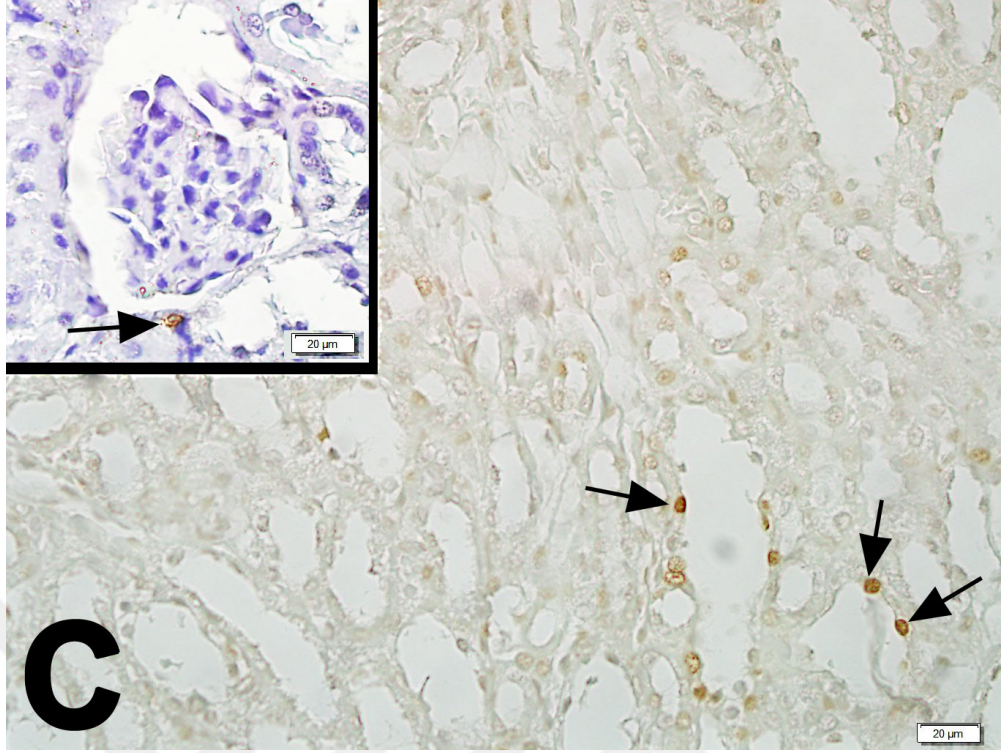
Böbrek dokularının TUNEL metodu incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda TUNEL pozitif tübül epitel hücreleri gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında ise kontrol grubuna göre artmış TUNEL pozitif tübül epitel hücreleri gözlenmiştir. YYD+APS grubunda TUNEL pozitif tübül epitel hücrelerinin azaldığı gözlenmiştir (Resim 15).

Mesane dokularının TUNEL metodu incelenmesi sonucunda kontrol grubunda az sayıda TUNEL pozitif hücreler gözlenmiştir. YYD ve YYD+DMSO gruplarında ise kontrol grubuna göre artmış TUNEL pozitif hücreler gözlenmiştir. YYD+APS grubunda TUNEL pozitif tübül epitel hücrelerinin azaldığı gözlenmiştir (Resim 16).

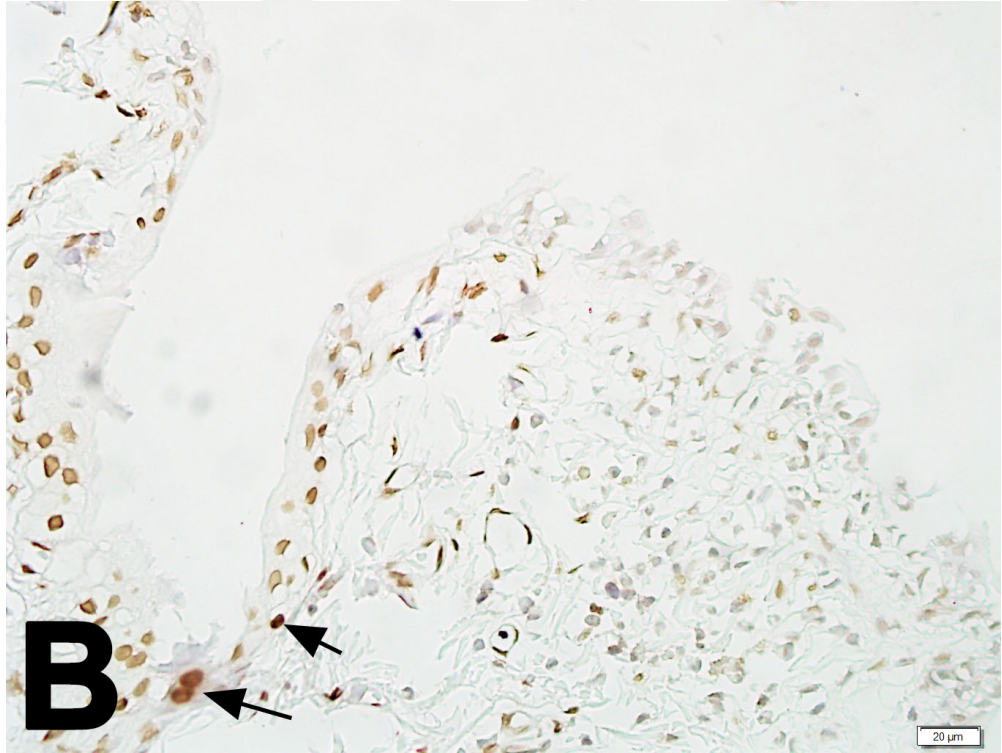
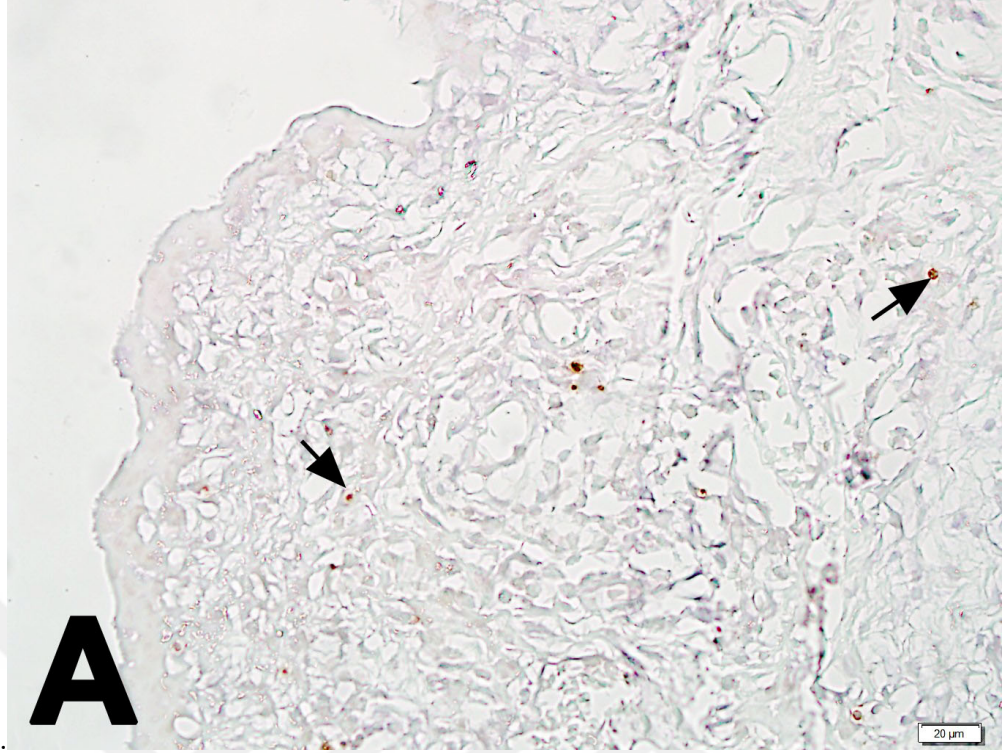
Deney gruplarına ait böbrek (Şekil 20A) ve mesane (Şekil 20B) örneklerine ait TUNEL pozitif hücre sayısı değerlendirmesinde; böbrekte YYD grubunda ($p<0,05$) kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu, YYD+APS grubunda ise YYD ($p<0,05$) grubuna kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Mesanede YYD, YYD+DMSO ve YYD+APS gruplarında kontrol grubuna ($p<0,05$) kıyasla yüksek, YYD+APS grubunda ise YYD ($p<0,05$) ve YYD+DMSO ($p<0,05$) gruplarına kıyasla düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 20).



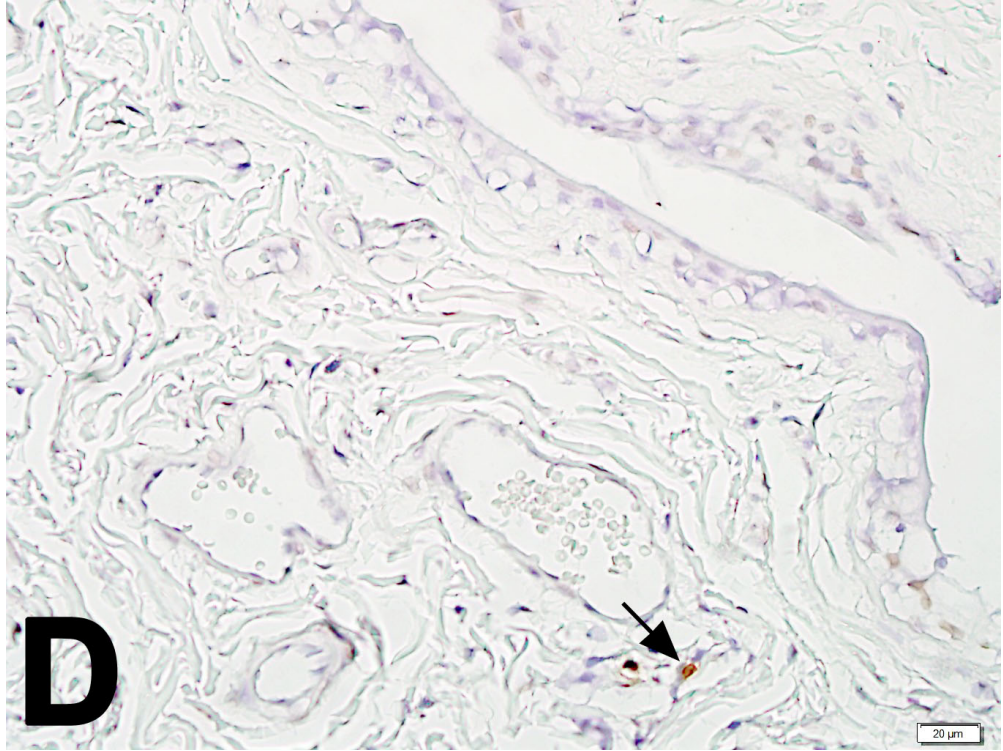
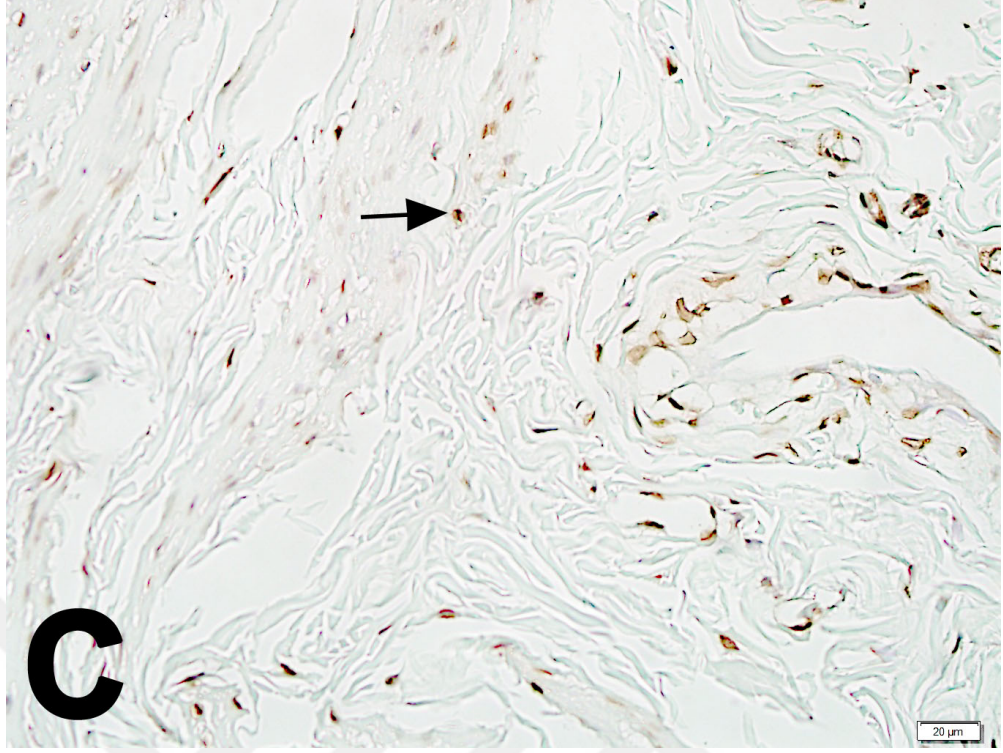
Resim 15. Deney gruplarının böbrek dokularına ait TUNEL ile boyanmış preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. TUNEL pozitif hücreler (ok). Ölçek: 50 µm.



Resim 15-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait TUNEL ile boyanmış prepratların temsili mikrogramları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. TUNEL pozitif hücreler (ok). Ölçek: 50 µm, inset:20 µm.

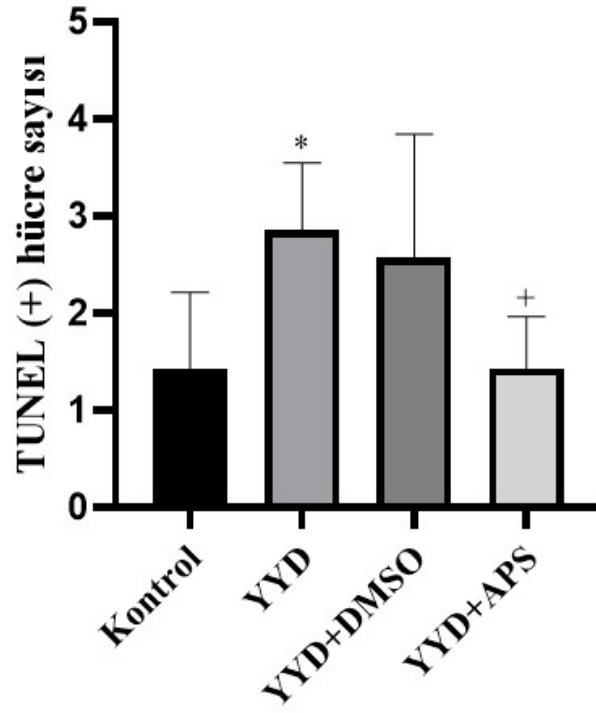


Resim 16. Deney gruplarının mesane dokularına ait TUNEL ile boyanmış preparatların temsili mikrografları. Kontrol (A) ve YYD (B) grupları. TUNEL pozitif hücreler (ok). Ölçek: 50 µm.

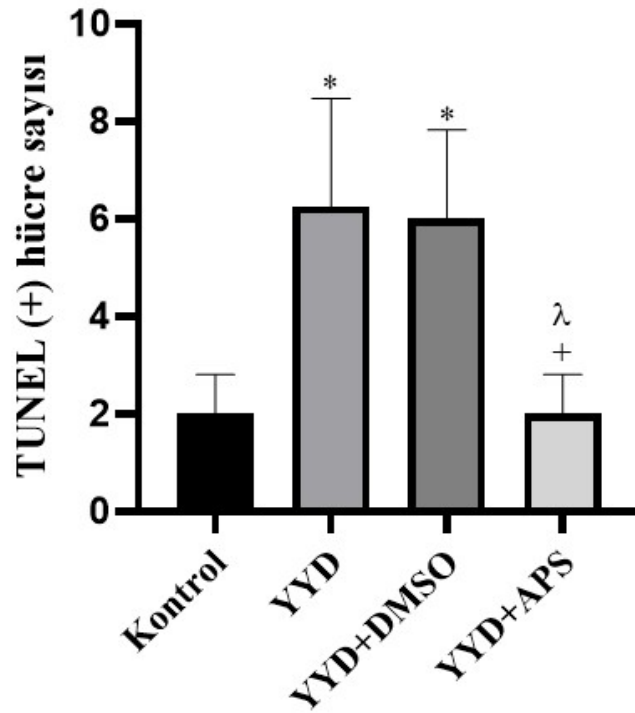


Resim 16-Devamı. Deney gruplarının böbrek dokularına ait TUNEL ile boyanmış preparatların temsili mikrografları. YYD+DMSO (C) ve YYD+APS (D) grupları. TUNEL pozitif hücreler (ok). Ölçek: 50 µm, inset:20 µm.

A)

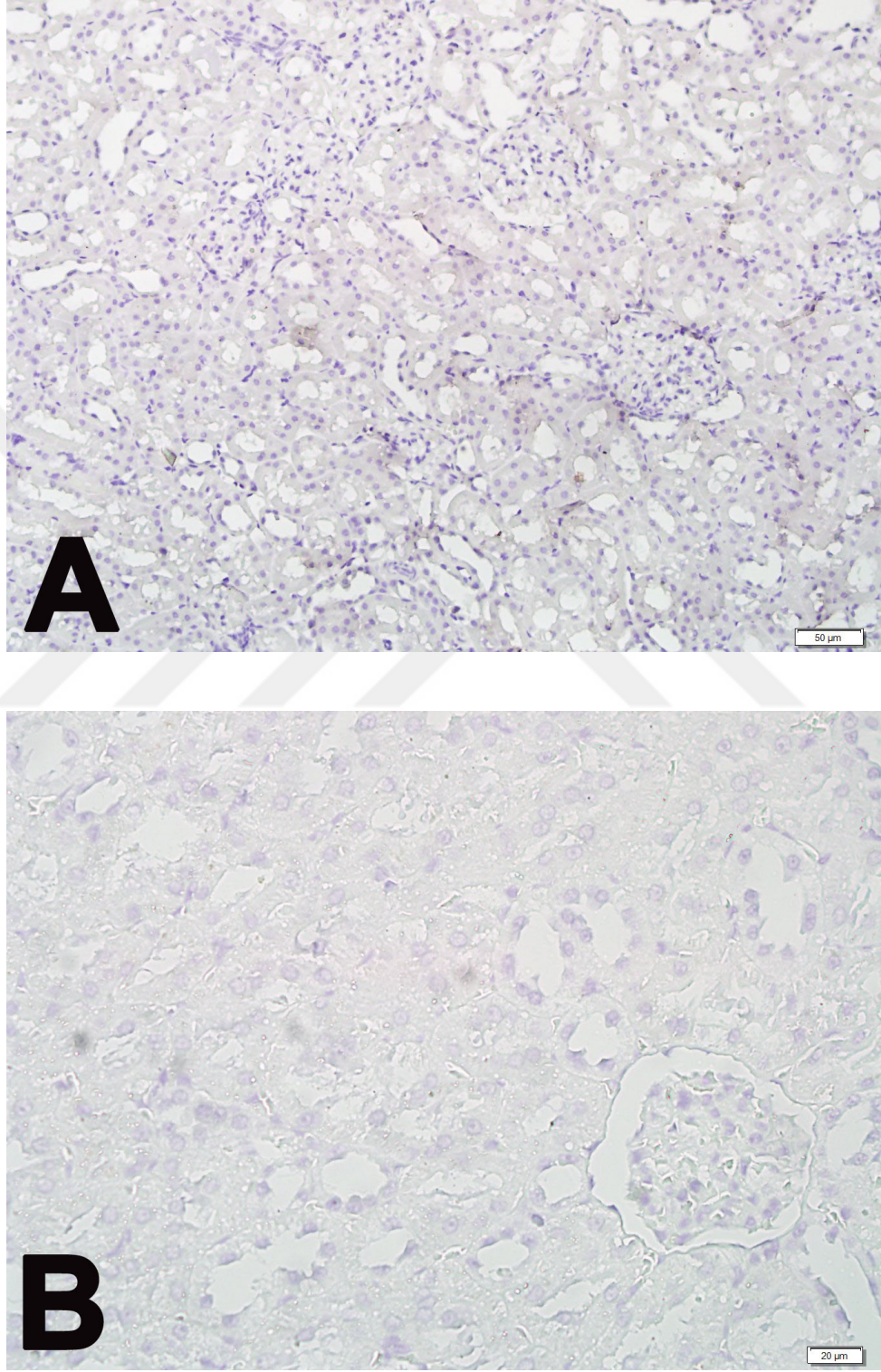


B)



Şekil 21. Deney gruplarında böbrekte (A) ve mesanede (B) TUNEL pozitif hücre sayısı grafiği. *: $p<0,05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; +: $p<0,05$ YYD grubu ile karşılaştırıldığında; λ: $p<0,05$ YYD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında.

İmmunhistokimyasal boyamalar ve TUNEL sitokimyasına ait negatif kontrol örneklerinde spesifik bir boyanma gözlenmemiştir (Resim 17).



Resim 17. Böbrekte TUNEL (B) ve immünhistokimya (B) boyamalarına ait negatif kontrol örnekleri. Ölçek: 50 µm.

5. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Çalışmamızda, YYD ile indüklenmiş obez sıçanlarda vücut ağırlığının ve serum total kolesterol, trigliserit ve leptin seviyesinin arttığı, HDL seviyesinin ise azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca obez sıçanların böbrek ve mesane dokularında MDA, 8-OHdG ve MPO seviyelerinin yükseldiği, GSH seviyesinin ise düştüğü gözlenmiştir. Biyokimyasal sonuçlarla paralel bir şekilde obez sıçanların böbreklerinde renal cisimcik ve tübül hasarı, interstisyel kolajen artışı; mesanede ürotelyum hasarı, vasküler konjesyon, degranüle mast hücrelerinde ve kas tabakasında kolajen yoğunluğunda artış gözlenmiştir. İlaveten, NOX-2 ve NFκ-B immünpozitif hücrelerin ve apoptotik hücrelerin hem böbrek hem de mesanede arttığı; TGF-β1 immünpozitif hücrelerin ise böbrekte arttığı gözlenmiştir. APS uygulamasının YYD ile indüklenmiş obez sıçanların serum lipid profillerini, böbrek ve mesanede değerlendirilen tüm biyokimyasal ve histolojik parametreleri iyileştirdiği gözlenmiştir.

Yetişkin insanlarda kilo artışıyla VKİ'nin otuz ve üzeri olması obez olarak tanımlanır. Obezite; metabolik sendrom, tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, non alkolik yağlı karaciğer hastalığı, kronik böbrek hastalığı, aşırı aktif mesane ve kanser (böbrek ve mesane) pek çok hastalığın altta yatan sebebi olarak gibi karşımıza çıkmaktadır [2, 3, 5, 43]. Obezitenin sebebi sedanter yaşam, yüksek kalorili beslenme (fruktoz veya YYD), genetik, mikrobiyota değişiklikleri ve enfeksiyon olabilmektedir [65]. YYD ile beslenme sonucu kemirgenlerde yapılan çalışmalar, vücut ağırlığının arttığını göstermiştir [6, 12, 16, 20, 66-68]. Obezitenin tedavisinde her ne kadar egzersiz yer alsın da obez bireylerde fiziksel aktivite ile kilo vermek solunum [69] ve kas iskelet sistemini [70] etkileyen mekanik sebeplerden ötürü zordur. Nefes alma ve yürüme aktivitesini sınırlandırarak hareketsiz yaşam tarzına sebep olur. Bu etkiler kilo kaybını daha zor hale getirir ve hasta kısır döngüye girer. Obezitenin tedavisinde yeri olan kilo vermede oksidatif stresin önemli rolü vardır [71]. Obez bireyin kilo vererek indiği vücut ağırlığını uzun süre tutması zordur; çünkü obezitede beyin vücut ağırlığı için yeni bir “referans vücut ağırlığı” belirler. Oksidatif stres ve leptininin de düzenleyici rol oynadığı nöro-hormonal mekanizmalar ile kilo kaybından önceki referans vücut ağırlığına hızlıca tekrar ulaşır

[72]. Bu nedenle, obezitede görülen sağlık sorunlarını tedavi etmek için farmakoterapötik müdahaleler gerektirdiğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda obezitede özellikle NOX-2 aracılı ROT üretimi NF- κ B, IL-6, TGF- β 1 gibi enflamatuvar ve profibrotik yolları aktive ederek üriner sisteme hasar verdiği gösterilmiştir [12, 73]. Farelerde APS uygulamasının, YYD grubuna kıyasla gıda tüketiminin değişmemesine rağmen ağırlık azalması olduğunu belirten bir çalışmada bu etkiyi enflamasyonu ve insülin direncini düşürmesi, yağ dokuda leptini baskılaması üzerine etkisi ile açıklanmıştır [16]. Çalışmamızda da YYD, YYD+DMSO, YYD+APS gruplarındaki sıçanların vücut ağırlığı kontrol grubundakilere kıyasla artmasıyla birlikte APS tedavisi sonrası YYD+APS grubundaki sıçanların ağırlıklarında YYD grubuna kıyasla anlamlı derecede azalma olduğu bulunmuştur.

Obezite kanda serbest yağ asitlerinin artışı ve beyaz yağ dokusun birikimi ile ilişkilidir [25]. Yağ dokusu kanda düzeyi artan yağ asitlerini depolar. Mevcut adipositler depolamak için yeterli gelmemesi durumunda adiposit hipertrofisi ve hiperplazisi gözlenir [7]. Yağ dokunun kapasitesinin aşılması durumunda böbrekte ve diğer organlarda ektopik lipit birikimi gözlenir [4, 9]. Böbrekte lipit alımına eşlik eden CD36 reseptörü olduğu gösterilmiştir. CD36 mutasyonu olan farelerde lipit birikimi olmadığı ve böbrek tübül epiteli ve podositte lipit birikimine bağlı mitokondriyal ROT oluşmadığı böylelikle apoptoz görülmeyeceği belirtilmiştir [11, 74]. Başka bir çalışmada insan detrüsör kas hücre hattında serbest yağ asitlerinin bu hücrelerde M₃ reseptörü üzerine olumsuz etki ederek mesane kasının kontraksiyon gücünde azalmaya sebep olduğu bulunmuştur [75]. Obez hayvanlarda kan glikozu, serum trigliserit ve kolesterol seviyelerinde artış ve HDL seviyesinde ise düşüş olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda YYD ile beslenme sonucu serum kolestrol [6, 43, 68, 76], trigliserit [6, 16, 68, 76], leptin [16, 19, 77] düzeyinin yükseldiği ve HDL seviyesinin düştüğü [6] gösterilmiştir. Çalışmalar lipit toksisitesinin yarattığı oksidatif hasara karşı üriner sistemin duyarlı olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, YYD ve YYD+DMSO gruplarına ait serum leptin, trigliserit ve kolestrol değerlerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde arttığı, HDL düzeylerinin ise azaldığı görüldü. YYD+APS grubunda ise, APS

uygulamasının serum lipit profillerinin ve leptin düzeyinin kontrol seviyelerine gelmesini sağladığı gözlenmiştir.

Obezitenin bir hiperleptinemi durumu olduğu görülmüştür [78]. Hipertrofik yağ dokusu tarafından salgılanan adipokinlerden biri olan leptin, santral sinir sisteminde ve periferik dokuda doğrudan leptin reseptörüne (OB-R) bağlanır. Leptinin ana görevi iştah kontrolü olsa da böbrek ve mesane gibi periferik dokularda da reseptörünün bulunduğu, parakrin etkiyle NF-κB aktivasyonu yaptığı gösterilmiştir [78, 79]. YYD ile indüklenmiş non alkolik yağlı karaciğer hastalığında uzak organ olan böbrek hasarının serum leptin yüksekliğinin mezangiyal hücrelerde artmış enflamasyona sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca leptin ve NOX-2 nakavt farelerde serum kolesterol ve trigliserit düzeyi yüksek olmasına rağmen böbrek tübül epiteli ve mezangiyal hücrelerde enflamasyonun olmaması bu ilişkiyi göstermiştir [19]. Bu çalışmada da serum leptin düzeyinin yanısıra, böbrek ve mesanede NOX-2, NFκ-B immünpozitif hücrelerin arttığı, MPO seviyesinin yükseldiği ve histolojik doku hasarının arttığı gözlenmiştir. APS uygulaması ile serum leptin seviyesinin ve enflamasyon belirteçlerinin ise düştüğü gözlenmiştir.

Fazla miktarda lipitten zengin beslenme sonucu dolaşımdaki serbest yağ asitleri yağ dokusunun kapasitesinin aşılmasına ve böbrek gibi ektopik organlarda birikmesine sebep olduğu bildirilmiştir [4]. Çalışmalar, serum ve dokuda fazla bulunan serbest yağ asitlerinin vücuttaki oksidatif strese yol açan önemli maddelerden biri olduğunu göstermiştir. Mitokondriden zengin olması nedeniyle böbrek tübül epitelyum hücrelerinin [4] ve mesane kas hücrelerinin [27] oksidatif strese duyarlı olduğunu göstermiştir. ROT'un artması lipit peroksidasyonuna ve lipit peroksidasyon ürünü MDA artışına yol açar [6]. YYD ile indüklenen obezitenin böbrek hasarına yol açtığı ve MDA düzeyinin arttığı gösterilmiştir [76]. Ayrıca obezitede antioksidan bileşik olan GSH'nin seviyesinin azaldığı gösterilmiştir [6]. İskemi reperfüzyon ile indüklenen testis hasarında 20 ve 40 mg/kg dozlarda uygulanan NOX-2 inhibitörü olan APS'nin MDA seviyesini düşürdüğü ve GSH düzeyini yükselttiği gösterilmiştir [35]. Çalışmamızda YYD ve YYD+DMSO grubunun böbrek ve mesane dokularında MDA düzeyinin arttığı ve GSH düzeyinin azaldığı; buna karşın YYD+APS grubunda bu iki parametrenin kontrol grubunun seviyesine geldiği gözlenmiştir.

ROT artışında diğer bir hedef haline gelen DNA hasarı sonucu mutasyon, hatalı replikasyon, apoptozis veya kanser oluşumu görülür [33]. En yaygın DNA hasar belirteçlerinden biri 8-OHdG'dir. YYD ile indüklenen obezitede 8-OHdG seviyesinin yükseldiği ve apoptozu tetiklediği belirtilmiştir [11, 67, 76]. YYD ile indüklenmiş obez sıçanlarda APS uygulamasının testiste 8-OHdG seviyesini ve apoptozu düşürdüğü gösterilmiştir [36]. Obezitenin mesane hem kanser gelişimi hem de nüks için bir risk faktörü olduğunu göstermiştir [2]. Çalışmalarda leptinin reseptöre bağlanarak JAK/STAT aktivasyonu yaptığı, insülin benzeri büyüme faktörü-1 ile benzer etki gösterdiğini, mesane kanseri hücre hattında invazyonu artırıcı etkisi olduğu gösterilmiştir [79]. Bama mini domuzlarında yapılan çalışmada 23 aylık YYD ve şükrozdan zengin beslenme sonucu yüksek serum lipidleriyle birlikte böbrek dokusunda glutatyon peroksidazın ve proliferatif hücrenin azaldığı, TNF- α , NF- κ B, kaspaz-3 ve apoptotik hücrelerin ise arttığı gözlenmiştir [80]. Arsenik maruziyetine bağlı mesane hasarında artmış 8-OHdG seviyesini APS'nin azalttığı ancak hücre proliferasyonu inhibisyonu yapmadığı belirtilmiştir [33]. Çalışmamızda YYD ve YYD+DMSO gruplarında doku 8-OHdG seviyesinin ve TUNEL pozitif hücre sayısının arttığı; YYD+APS grubunda ise kontrole benzer seviyeye geldiği gözlenmiştir. Çalışmamızda 4 aylık YYD ile beslenme sonucu böbrekte glomerüler ve interstisyel fibrozis, apoptoz ve 8-OHdG düzeyi artışı olduğu, APS uygulamasının bu parametreleri kontrole yakın düzeye getirdiği gözlenmiştir. Bununla birlikte PCNA immünohistokimyası bulgularına göre gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Obezitede görülen organ hasarının oluşmasında oksidatif stresin tek başına değil aynı zamanda enflamatuvar yanıtı da uyararak hasar oluşturduğu gösterilmiştir [14]. Enflamasyon, normalde homeostazın devamı için çeşitli uyaranlara karşı fizyolojik bir tepkidir. Bu ilk uyarıcı işlem sonrası lökositlerden üretilen sitokinler, kemokinler tarafından koordine edilir [71]. NF- κ B bağışıklık, enflamasyon ve hücre büyümesi ile ilgili çeşitli genlerin sinyal kaynaklı ekspresyonuna aracılık eden bir uyarılabilir transkripsiyon faktörleri ailesindendir [81]. NF- κ B, böbrek dokularında TNF- α ve anjiyotensin II kaskadları patofizyolojik süreçlerle aktive edildiği, deneysel ve insan böbrek hastalıkları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [81]. NF- κ B inhibitörlerinin deney hayvanlarında renal enflamasyonu önlediği bildirilmiştir [81].

Çalışmalarda leptinin periferik dokularda bulunan reseptörüne bağlanarak JAK/STAT ve NF-κB aktivasyonu yaptığı gösterilmiştir [79]. YYD ile indüklenmiş böbrek hasarında serum leptin yüksekliğinin mezangiyal hücrelerde enflamasyona sebep olduğu gösterilmiştir [19]. Farelerde lipopolisakkarit ile indüklenen kronik sistit modelinde NF-κB ekspresyonunun arttığı ve enflamasyon sonucu mesanede proliferasyon, fibrozis artışı, fonksiyon kaybı görülmüştür [18].

Artmış ROT aktivitesiyle paralel olarak artmış nötrofil orijinli olan MPO enzim aktivitesinin çeşitli patolojilerde rol oynadığı gösterilmiştir. Akut enflamasyonda yanıtı başlatan, NOX gibi ROT üretilmesi yoluyla kronik enflamasyonun yayılmasında rolü olan klorlayıcı bir enzimdir [82]. Nötrofillerin granüllerinde bulunan MPO'nun aktivasyonunun, obezitenin gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan bir hayvan çalışmasında YYD ile beslenmenin erken evresinde nötrofillerin yağ dokuya sızdıklarını, ROT, TNF-α ve MPO gibi oksidan ve enflamauvar maddeler salınımı olduğunu göstermiştir [83]. Obez ve tip 2 diyabet hastalarının periferik kandaki nötrofil sayılarının ve MPO düzeyinin arttığı gösterilen bir çalışmada MPO düzeyi artışı ile metabolik hastalıkların paralellik gösterdiğini belirtmiştir [84]. Obez kişilerde erken bir enflamasyon belirteci olan MPO'nun ve insülin direnci gelişiminde bir risk faktörü olduğu belirtilmiştir [28]. APS'nin endotel hücrelerinde ve çeşitli lökosit tiplerinde ROT ve MPO tarafından aktive edilen NOX-2'nin alt birimi olan p47phox'ın translokasyonunu önlediği gösterilmiştir [29]. YYD'de görülen makrofaj infiltrasyonunu ve enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur [28]. Testiste iskemi reperfüzyon hasarında [35], YYD ile indüklenen obez sıçanların kalp ve aortlarında ROT artışının yüksek MPO düzeyine sebep olarak enflamasyona katkıda bulunduğu gösterilmiştir [6]. YYD ile beslenmenin sıçan mezenterinde mast hücre infiltrasyonunu arttırdığı bulunmuştur [85]. Yapılan çalışmalarda diyabetik hastalarda aşırı aktif mesane patolojisinde mesanede apoptotik hücre sayılarının yüksek olduğu ve mast hücrelerine spesifik olan triptaz ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir [86]. Dişi Sprague Dawley sıçanlarda 12 haftalık YYD ile beslenmenin mesanede yapılan ürodinamik çalışmalarda detrüsör kasta potasyum kanallarının artmış aktivitesine bağlı aşırı aktif mesane olduğu gösterilmiştir [27]. Çalışmamızda YYD ve YYD+DMSO gruplarında hem böbrek hem de mesanede NF-κB

immünpozitifliğinin ve doku MPO düzeyinin kontrole göre artmış olduğu, mesanede degranüle ve granüllü mast hücre sayısında artış olduğu; YYD+APS grubunda ise kontrole benzer düzeyde olduğu gözlenmiştir.

YYD ile beslenen diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada böbrek MDA, süperoksit dismutaz, NF- κ B, TGF- β 1 ve TNF- α seviyelerinin arttığı; hücre kültürü çalışmasında ise glomerüler mezanjial hücrelerde NF- κ B sinyal aktivitesini inhibe eden isorhamnetinin ajanı ile enflamatuvar mediyatörlerin üretimini oksidatif stresi azalttığı gösterilmiştir [12]. Çalışmamızda NOX-2, NF- κ B ve TGF- β 1 immünpozitiflik oranı YYD ve YYD+DMSO gruplarında artmış bulunup, YYD+APS grubunda ise immünpozitiflik oranının kontrole benzer olduğu gözlenmiştir.

Obezite görülen yüksek kan lipid konsantrasyonlarının böbrekte birikmesine bağlı erken evrede hipertrofik, geç evrede ise fibrotik lezyonlar görüldüğü belirtilmiştir. Erken evre böbrek dokusu hipertrofisi, glomerüler hücre proliferasyonu ile ilişkilidir. Glomeruloskleroza ve tubulointerstisyel fibrozis geç evrede ortaya çıkmaktadır [87]. TGF- β 1 böbrek yetmezliğine yol açan doku skarlaşmasının ana faktörüdür. Glomerüler kapillerde, interstisyel boşlukta ve arteriollerin etrafında patolojik matriks birikimi, hem nefronun hem de çevresindeki interstisyel boşlukta ve arteriollerin etrafında patolojik matriks birikimi vasküler fonksiyonel kayba sebep olur [60]. TGF- β 1 sinyalinin böbrek tübül epitel hücrelerinin ve fibroblastların miyofibroblasta dönüşümünü indüklediği gösterilmiştir [55, 57]. NOX üzerinden türetilmiş ROT, fibroblastların miyofibroblastlara farklılaşmasına ve hücre dışı matriks proteinlerinin sentezinin bozulmasına sebep olur, TGF- β aracılı fibrozisine kolaylaştırır. NOX'un uyarımıyla üretilen ROT, epitel hücrelerinin apoptozuna da sebep olur. TGF- β aracılı kolajen ekspresyonunda NOX'un bu tür modüle edici etkileri, böbrek fibroblastlarında gözlenmiştir [61]. Çalışmalarda lipopolisakkaritle indüklenen kronik sistit modelinde enflamasyona bağlı mesane duvarının hiperplazisi, tip 1 ve 3 kolajen ekspresyonun arttığı (fibrozis) ve sonuç olarak mesanenin kompliyansının azaldığı görülmüştür [18]. TGF- β 1 sinyal yolağının doğrudan hedeflenmesi, hücre farklılaşması, apoptoz ve immün homeostazın düzenlenmesindeki fizyolojik işlevlerini etkileyecektir. Bu nedenle fibrozis sürecinde TGF- β 1 haricinde bir mekanizma üzerinden fibrozisi önlemek organ yetmezliğinin

önüne geçmenin bir hedefi haline geldiği görülmektedir [62]. Serbest yağ asitlerinin detrüör kas hücre hattında fibrozisi tetiklediği ve mesane kasının kontraksiyon gücünde azalmaya sebep olduğu bulunmuştur [75]. Dokularda kolajen artışını gösterebilmek için tip 1 ve tip 3 kolajeni seçici boyayan pikrosirius kırmızısı boyaması yapılır [88]. NOX-2 ilişkili oksidatif hasar sonucu böbrekte glomerüler ve interstisyel kolajen artışı olduğu gösterilmiştir [89]. YYD ile indüklenen obezitede mesanede kas demetlerinin arasında kolajen artışı gözlenmiştir [20]. Çalışmamızda YYD ve YYD+DMSO gruplarında böbrek interstisyel bağ dokuda ve glomerül çevresinde; mesanede ise kas tabakasında kolajen artışı gözlenmiştir. YYD+APS grubunda ise kontrole yakın olduğu gözlenmiştir. Ayrıca yapılan TGF- β 1 immünohistokimyasında YYD ve YYD+DMSO gruplarının böbreklerinde immünopozitifliğinin arttığını, YYD+APS grubunda ise kontrole yakın olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada YYD ile indüklenmiş obez sıçanların böbrek ve mesane örneklerinde APS uygulamasının ROT'a karşılık antioksidan etki göstererek, enflamasyonu ve apoptozu azaltarak, böbrek ve mesane hasarının azaltılmasına, oksidan, antioksidan, enflamatuvar ve profibrotik parametrelerin normal seviyeye yaklaşmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada obezitenin oluşturduğu böbrek ve mesane hasarında APS'nin antioksidan etkisi ile histolojik hasarı onararak kontrol düzeylerine getirdiği, obezite ile oluşmuş böbrek ve mesane hasarının iyileştirilmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Obezite patofizyolojisinin ve aposininin koruyucu etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileri moleküler ve fonksiyonel araştırmaların yapılmasının uygun olduğu düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Yaghchiyan M, Roshangar L, Farhangi MA, Mesgari-Abbasi M, Rafiei L, Shahabi P. Histologic, Metabolic, and Inflammatory Changes in the Liver of High-fat Diet-induced Obese Rats before and after Vitamin D Administration. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2019;17;18(4):402-411.
2. Lin Y, Wang Y, Wu Q, Jin H, Ma G, Liu H, Wang M, Zhang Z, Chu H. Association between obesity and bladder cancer recurrence: A meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2018;480:41-46.
3. Powers SA, Ryan TE, Pak ES, Fraser MO, McClung JM, Hannan JL. Chronic high-fat diet decreased detrusor mitochondrial respiration and increased nerve-mediated contractions. *Neurourol Urodyn* 2019;38(6):1524-1532.
4. Yamamoto T, Takabatake Y, Takahashi A, Kimura T, Namba T, Matsuda J, Minami S, Kaimori JY, Matsui I, Matsusaka T, Niimura F, Yanagita M, Isaka Y. High-Fat Diet-Induced Lysosomal Dysfunction and Impaired Autophagic Flux Contribute to Lipotoxicity in the Kidney. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(5):1534-1551.
5. Corey KE, Kaplan LM. Obesity and liver disease: the epidemic of the twenty-first century. *Clin Liver Dis* 2014;18(1):1-18.
6. Acikel Elmas M, Cakıcı SE, Dur IR, Kozluca I, Arınc M, Binbuga B, Bingol Ozakpınar O, Kolgazi M, Sener G, Ercan F. Protective effects of exercise on heart and aorta in high-fat diet-induced obese rats. *Tissue Cell* 2019;57:57-65.
7. WHO. 2018. Obesity and overweight [Online]. Available: <https://www.who.int/en/newsroom/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Son Erişim Tarihi:01.09.2021].
8. Ejerblad E, Fored CM, Lindblad P, Fryzek J, McLaughlin JK, Nyrén O. Obesity and risk for chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(6):1695-702.
9. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 2012;148(5):852-71.
10. Modaresi A, Nafar M, Sahraei Z. Oxidative stress in chronic kidney disease. *Iran J Kidney Dis* 2015;9(3):165-79.
11. Hua W, Huang HZ, Tan LT, Wan JM, Gui HB, Zhao L, Ruan XZ, Chen XM, Du XG. CD36 Mediated Fatty Acid-Induced Podocyte Apoptosis via Oxidative Stress. *PLoS One* 2015;10(5):e0127507.
12. Qiu S, Sun G, Zhang Y, Li X, Wang R. Involvement of the NF- κ B signaling pathway in the renoprotective effects of isorhamnetin in a type 2 diabetic rat model. *Biomed Rep* 2016;4(5):628-634.
13. Jiang F, Liu GS, Dusting GJ, Chan EC. NADPH oxidase-dependent redox signaling in TGF- β -mediated fibrotic responses. *Redox Biol* 2014;20;2:267-72.
14. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol* 2011;29:415-45.
15. Mostafa DK, Nasra RA, Zahran N, Ghoneim MT. Pleiotropic protective effects of Vitamin D against high fat diet-induced metabolic syndrome in rats: One for all. *Eur J Pharmacol* 2016;792:38-47.
16. Meng R, Zhu DL, Bi Y, Yang DH, Wang YP. Apocynin improves insulin resistance through suppressing inflammation in high-fat diet-induced obese mice. *Mediators Inflamm* 2010;2010:858735.

17. Wolf G, Ziyadeh FN. Leptin and renal fibrosis. *Contrib Nephrol* 2006;151:175-183.
18. Lai J, Ge M, Shen S, Yang L, Jin T, Cao D, Xu H, Zheng X, Qiu S, Wang K, Wei Q, Li H, Ai J. Activation of NFKB-JMJD3 signaling promotes bladder fibrosis via boosting bladder smooth muscle cell proliferation and collagen accumulation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2019;1865(9):2403-2410.
19. Alhasson F, Seth RK, Sarkar S, Kimono DA, Albadrani MS, Dattaroy D, Chandrashekar V, Scott GI, Raychoudhury S, Nagarkatti M, Nagarkatti P, Diehl AM, Chatterjee S. High circulatory leptin mediated NOX-2-peroxynitrite-miR21 axis activate mesangial cells and promotes renal inflammatory pathology in nonalcoholic fatty liver disease. *Redox Biol* 2018;17:1-15.
20. de Souza AC, Gallo CBM, Passos MCDF, Crocchia C, Miranda GL, Sampaio FJB, Gregório BM. Effect of a high-fat diet on the rat bladder wall and bioactive action of Brazil nut oil. *Int Braz J Urol*. 2019;45(1):161-168.
21. Muller CR, Leite APO, Yokota R, Pereira RO, Americo ALV, Nascimento NRF, Evangelista FS, Farah V, Fonteles MC, Fiorino P. Post-weaning Exposure to High-Fat Diet Induces Kidney Lipid Accumulation and Function Impairment in Adult Rats. *Front Nutr* 2019;6:60.
22. Mimura I, Nangaku M. The suffocating kidney: tubulointerstitial hypoxia in end-stage renal disease. *Nat Rev Nephrol*. 2010;6(11):667-78.
23. Declèves AE, Sharma K, Satriano J. Beneficial Effects of AMP-Activated Protein Kinase Agonists in Kidney Ischemia-Reperfusion: Autophagy and Cellular Stress Markers. *Nephron Exp Nephrol* 2014;6:10.1159/000368932.
24. Lakkis JI, Weir MR. Obesity and Kidney Disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 2018;61(2):157-167.
25. Manna P, Jain SK. Obesity, Oxidative Stress, Adipose Tissue Dysfunction, and the Associated Health Risks: Causes and Therapeutic Strategies. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015;13(10):423-44.
26. McPherson KC, Shields CA, Poudel B, Fizer B, Pennington A, Szabo-Johnson A, Thompson WL, Cornelius DC, Williams JM. Impact of obesity as an independent risk factor for the development of renal injury: implications from rat models of obesity. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2019;316(2):316-327.
27. Li N, Ding H, Li Z, Liu Y, Wang P. Effect of high-fat diet-induced obesity on the small-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel function affecting the contractility of rat detrusor smooth muscle. *Int Urol Nephrol*. 2019;51(1):61-72.
28. Wang Q, Xie Z, Zhang W, Zhou J, Wu Y, Zhang M, Zhu H, Zou MH. Myeloperoxidase deletion prevents high-fat diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes* 2014;63(12):4172-85.
29. Stolk J, Hiltermann TJ, Dijkman JH, Verhoeven AJ. Characteristics of the inhibition of NADPH oxidase activation in neutrophils by apocynin, a methoxy-substituted catechol. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994;11(1):95-102.
30. Ma MW, Wang J, Dhandapani KM, Wang R, Brann DW. NADPH oxidases in traumatic brain injury - Promising therapeutic targets? *Redox Biol*. 2018;16:285-293.
31. Li GY, Cui WS, Zhou F, Gao ZZ, Xin H, Liu T, Li WR, Gong YQ, Bai GY, Guo YL, Xin ZC. Pathology of urethral fibromuscular system related to parturition-induced stress urinary incontinence and TGF- β 1/Smad pathway. *Mol Cell Biochem*. 2012;364(1-2):329-35.

32. Liu F, Fan LM, Michael N, Li JM. In vivo and in silico characterization of apocynin in reducing organ oxidative stress: A pharmacokinetic and pharmacodynamic study. *Pharmacol Res Perspect*. 2020;8(4):e00635.
33. Suzuki S, Arnold LL, Pennington KL, Kakiuchi-Kiyota S, Cohen SM. Effects of co-administration of dietary sodium arsenite and an NADPH oxidase inhibitor on the rat bladder epithelium. *Toxicology* 2009;261(1-2):41-6.
34. K ro lu KM,  evik  ,  ener G, Ercan F. Apocynin alleviates cisplatin-induced testicular cytotoxicity by regulating oxidative stress and apoptosis in rats. *Andrologia* 2019;51(4):e13227.
35.  ener TE, Y ksel M,  zyılmaz-Yay N, Ercan F, Akbal C,  im ek F,  ener G. Apocynin attenuates testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg*. 2015;50(8):1382-7.
36. Hersek,  . Yüksek ya lı diyetle indüklenen obez sıçanlarda aposininin testis üzerine etkisi: Histolojik ve biyokimyasal değerlendirme. Marmara Üniversitesi Sağlık bilimleri enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2019.
37. Junqueira 2016. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas, McGraw-Hill Education.
38. Michael H. Ross, W.P., *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas ( ev: Baykal B)*. Palme Yayınevi, İstanbul, 2014.
39. Eroschenko, V.P., *Di Fiore Histoloji Atlası ( ev: Demir R)*. G ne  Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2013.
40. Erem C. Prevalence of Overweight and Obesity in Turkey. *IJC Metabolic & Endocrine* 2015;8: 38-41.
41. Heymsfield SB, Wadden TA. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*. 2017;376(3):254-266.
42. Knight JA. Physical inactivity: associated diseases and disorders. *Ann Clin Lab Sci*. 2012;42(3):320-37.
43. Stemmer K, Perez-Tilve D, Ananthakrishnan G, Bort A, Seeley RJ, Tsch p MH, Dietrich DR, Pfluger PT. High-fat-diet-induced obesity causes an inflammatory and tumor-promoting microenvironment in the rat kidney. *Dis Model Mech*. 2012;5(5):627-35.
44. S leymanlar G, Uta  C, Arinsoy T, Ate  K, Altun B, Altıparmak MR, Ecder T, Yılmaz ME,  amsarı T, Ba ci A, Odabas AR, Serdenge ti K. A population-based survey of Chronic RENal Disease In Turkey--the CREDIT study. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(6):1862-71.
45. de Vries AP, Ruggenenti P, Ruan XZ, Praga M, Cruzado JM, Bajema IM, D'Agati VD, Lamb HJ, Pongrac Barlovic D, Hojs R, Abbate M, Rodriquez R, Mogensen CE, Porrini E; ERA-EDTA Working Group Diabetes. Fatty kidney: emerging role of ectopic lipid in obesity-related renal disease. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(5):417-26.
46. Kennedy DJ, Chen Y, Huang W, Viterna J, Liu J, Westfall K, Tian J, Bartlett DJ, Tang WH, Xie Z, Shapiro JI, Silverstein RL. CD36 and Na/K-ATPase- 1 form a proinflammatory signaling loop in kidney. *Hypertension* 2013;61(1):216-24.
47. Kovesdy CP, Furth S, Zoccali C; World Kidney Day Steering Committee. Obesity and kidney disease: Hidden consequences of the epidemic. *Physiol Int*. 2017;104(1):1-14.

48. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84.
49. Gorin Y, Block K. Nox4 and diabetic nephropathy: with a friend like this, who needs enemies? *Free Radic Biol Med.* 2013;61:130-42.
50. Feng Y, Cui C, Liu X, Wu Q, Hu F, Zhang H, Ma Z, Wang L. Protective Role of Apocynin via Suppression of Neuronal Autophagy and TLR4/NF- κ B Signaling Pathway in a Rat Model of Traumatic Brain Injury. *Neurochem Res.* 2017;42(11):3296-3309.
51. Hougee S, Hartog A, Sanders A, Graus YM, Hoijer MA, Garssen J, van den Berg WB, van Beuningen HM, Smit HF. Oral administration of the NADPH-oxidase inhibitor apocynin partially restores diminished cartilage proteoglycan synthesis and reduces inflammation in mice. *Eur J Pharmacol.* 2006;531(1-3):264-9.
52. Li M, Liu Z, Zhuan L, Wang T, Guo S, Wang S, Liu J, Ye Z. Effects of apocynin on oxidative stress and expression of apoptosis-related genes in testes of diabetic rats. *Mol Med Rep.* 2013;7(1):47-52.
53. Ghosh AK, Quaggin SE, Vaughan DE. Molecular basis of organ fibrosis: potential therapeutic approaches. *Exp Biol Med (Maywood).* 2013;238(5):461-81.
54. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J.* 2004;18(7):816-27.
55. Meyer A, Wang W, Qu J, Croft L, Degen JL, Collier BS, Ahamed J. Platelet TGF- β 1 contributions to plasma TGF- β 1, cardiac fibrosis, and systolic dysfunction in a mouse model of pressure overload. *Blood* 2012;119(4):1064-74.
56. Uhal BD, Kim JK, Li X, Molina-Molina M. Angiotensin-TGF-beta 1 crosstalk in human idiopathic pulmonary fibrosis: autocrine mechanisms in myofibroblasts and macrophages. *Curr Pharm Des.* 2007;13(12):1247-56.
57. Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1776-84.
58. Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest.* 2002;110(3):341-50.
59. Tian M, Neil JR, Schiemann WP. Transforming growth factor- β and the hallmarks of cancer. *Cell Signal.* 2011;23(6):951-62.
60. Leaf IA, Duffield JS. What can target kidney fibrosis? *Nephrol Dial Transplant.* 2017;32(suppl_1):i89-i97.
61. Bondi CD, Manickam N, Lee DY, Block K, Gorin Y, Abboud HE, Barnes JL. NAD(P)H oxidase mediates TGF-beta1-induced activation of kidney myofibroblasts. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(1):93-102.
62. Böttinger EP, Bitzer M. TGF-beta signaling in renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13(10):2600-10.
63. Koyuncuoğlu T, Yıldırım A, Dertsiz EK, Yüksel M, Ercan F, Yeğen BÇ. Estrogen receptor agonists protect against acetaminophen-induced hepatorenal toxicity in rats. *Life Sci.* 2020;263:118561.
64. Koca O, Gokce AM, Akyuz M, Ercan F, Yurdakul N, Karaman MI. A new problem in inflammatory bladder diseases: use of mobile phones! *Int Braz J Urol.* 2014;40(4):520-5.

65. Stenvinkel P, Zoccali C, Ikizler TA. Obesity in CKD--what should nephrologists know? *J Am Soc Nephrol.* 2013;24(11):1727-36.
66. Kim Y, Hwang SD, Lim JH, Kim MY, Kim EN, Choi BS, Kim YS, Kim HW, Park CW. Attenuated Lymphatic Proliferation Ameliorates Diabetic Nephropathy and High-Fat Diet-Induced Renal Lipotoxicity. *Sci Rep.* 2019;9(1):1994.
67. Zhang Q, Xiao X, Zheng J, Li M, Yu M, Ping F, Wang T, Wang X. Shenqi Jiangtang Granule Ameliorates Kidney Function by Inhibiting Apoptosis in a Diabetic Rat Model. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2019;20:3240618.
68. Zhang L, Yang Z, Zhao Y, Yang X, Meng X, Liu J, Liu Y, Yan C, Yan D. Renoprotective effects of Gushen Jiedu capsule on diabetic nephropathy in rats. *Sci Rep.* 2020;10(1):2040.
69. Raveendran R, Wong J, Singh M, Wong DT, Chung F. Obesity hypoventilation syndrome, sleep apnea, overlap syndrome: perioperative management to prevent complications. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2017;30(1):146-155.
70. Kulkarni K, Karssiens T, Kumar V, Pandit H. Obesity and osteoarthritis. *Maturitas.* 2016;89:22-8.
71. Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohanty P, Dandona P. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-kappaB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(11):4476-9.
72. Fothergill E, Guo J, Howard L, Kerns JC, Knuth ND, Brychta R, Chen KY, Skarulis MC, Walter M, Walter PJ, Hall KD. Persistent metabolic adaptation 6 years after "The Biggest Loser" competition. *Obesity (Silver Spring)* 2016;24(8):1612-9.
73. Andersson KE. Oxidative stress and its possible relation to lower urinary tract functional pathology. *BJU Int.* 2018;121(4):527-533.
74. Susztak K, Ciccone E, McCue P, Sharma K, Böttinger EP. Multiple metabolic hits converge on CD36 as novel mediator of tubular epithelial apoptosis in diabetic nephropathy. *PLoS Med.* 2009;2(2):e45.
75. Oberbach A, Schlichting N, Heinrich M, Kullnick Y, Lehmann S, Adams V, Stolzenburg JW, Neuhaus J. Hochfetttdiät induziert molekulare und physiologische Dysfunktionen der Harnblase [High fat diet-induced molecular and physiological dysfunction of the urinary bladder]. *Urologe A.* 2014;53(12):1805-11.
76. Lee M, Zhao H, Liu X, Liu D, Chen J, Li Z, Chu S, Kou X, Liao S, Deng Y, Li H, Xie W. Protective Effect of Hydroxysafflor Yellow A on Nephropathy by Attenuating Oxidative Stress and Inhibiting Apoptosis in Induced Type 2 Diabetes in Rat. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;11:7805393.
77. Bin-Meferij MM, El-Kott AF, Shati A, Eid RA. Ginger extract ameliorates renal damage in high fat diet-induced obesity in rats: biochemical and ultrastructural study. *Int. J. Morphol* 2019;37(2):438-447.
78. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26(11):1407-33.
79. Kashiwagi E, Abe T, Kinoshita F, Ushijima M, Masaoka H, Shiota M, Netto GJ, Eto M, Miyamoto H. The role of adipocytokines and their receptors in bladder cancer: expression of adiponectin or leptin is an independent prognosticator. *Am J Transl Res.* 2020;12(6):3033-3045.

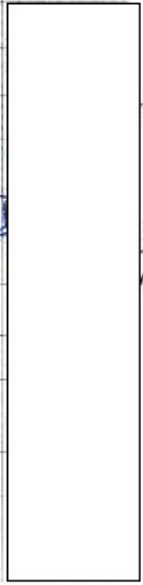
80. Li L, Zhao Z, Xia J, Xin L, Chen Y, Yang S, Li K. A Long-Term High-Fat/High-Sucrose Diet Promotes Kidney Lipid Deposition and Causes Apoptosis and Glomerular Hypertrophy in Bama Minipigs. *PLoS One*. 2015;10(11):e0142884.
81. Zhang H, Sun SC. NF- κ B in inflammation and renal diseases. *Cell Biosci*. 2015;5:63.
82. Brovkovich V, Gao XP, Ong E, Brovkovich S, Brennan ML, Su X, Hazen SL, Malik AB, Skidgel RA. Augmented inducible nitric oxide synthase expression and increased NO production reduce sepsis-induced lung injury and mortality in myeloperoxidase-null mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(1):L96-103.
83. Elgazar-Carmon V, Rudich A, Hadad N, Levy R. Neutrophils transiently infiltrate intra-abdominal fat early in the course of high-fat feeding. *J Lipid Res*. 2008;49(9):1894-903.
84. Wiersma JJ, Meuwese MC, van Miert JN, Kastelein A, Tijssen JG, Piek JJ, Trip MD. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase. *Med Sci Monit*. 2008;14(8):CR406-10.
85. Fodor J, Fabry P, Lojda Z. The effect of long-term administration of diet with high fat content on the number of mast cells in the rat mesentery. *Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med* 1960;333:582-6.
86. Wang CC, Kuo HC. Urothelial Dysfunction and Chronic Inflammation in Diabetic Patients with Overactive Bladder. *Low Urin Tract Symptoms*. 2017 Sep;9(3):151-156. *hypercholesterolemia in rats*. *Kidney Int* 1990;37(3):880-91.
88. Farris AB, Alpers CE. What is the best way to measure renal fibrosis?: A pathologist's perspective. *Kidney Int Suppl* 2014;4(1):9-15.
89. Djamali A, Reese S, Hafez O, Vidyasagar A, Jacobson L, Swain W, Kolehmainen C, Huang L, Wilson NA, Torrealba JR. Nox2 is a mediator of chronic CsA nephrotoxicity. *Am J Transplant*. 2012;12(8):1997-2007.

7. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onay Formu



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	09.2020.mar	ÇALIŞMA	TEZ
	PROJE ADI	Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenmiş Obez Sıçanlarda Aposittin Böbrek Ve Mesane Üzerine Etkilerinin Histolojik Ve Biyokimyasal Olarak İncelenmesi		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Feriha ERCAN		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER		
	DESTEKLEYİCİ			
KARAR BİLGİLERİ	TARİH	10.02.2020		
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yöntem ve sonuçları dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumca onaylanmıştır. Bu karar verimdir. Araştırma sonrasında yapılacak her türlü proje değişikliği (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliğini Etik Kurula bildirilerek proje onayını yenilenmesi gerekmektedir.			
KURUL ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları sağlamak, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sonuçları değerlendirilerek deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.			
Hayvan türü ve sayısı				
ÜYELER				
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/EK Üyeligi	Onaylanan Proje ile İlişkisi	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi HADYEK Başkanı	Yok	
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Prof. Dr. Sırrap ŞİRVANCI	Histoloji- Embriyoloji-Abd	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Prof.Dr. Rezzan GÜLLİAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Doç.Dr. Cürkan SERİ	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Doç. Dr. Dilek AKAKIN	Histoloji- Embriyoloji-Abd	M.Ü. Tıp Fakültesi HADYEK Üyesi	Yok	
Dr. Öğr. Üyesi Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Sağlık Hizmetleri MYO HADYEK Üyesi	Yok	
Vet. Hek. Deniz Mukaddes Türeli	Veteriner Hekim	DEHAMER Sorumlu Veteriner HADYEK Üyesi	Yok	
Alper Şimşek	Serbest	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Yok	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Yok	

Ek 2. İntihal Raporu

ORIGINALITY REPORT

10%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	acikarsiv.ankara.edu.tr Internet	80 words — 1%
2	dergipark.org.tr Internet	58 words — 1%
3	acikerisim.deu.edu.tr Internet	52 words — 1%
4	jecm.omu.edu.tr Internet	38 words — 1%
5	dspace.marmara.edu.tr Internet	36 words — 1%
6	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 Internet	36 words — 1%
7	snims.org Internet	32 words — < 1%
8	tr.ovalengineering.com Internet	27 words — < 1%
9	vantipdergisi.yyu.edu.tr Internet	26 words — < 1%
10	www.eajm.org Internet	

8. ÖZGEÇMİŞ

İsim Soyisim : Fatma KANPALTA
Doğum Tarihi :
Doğum Yeri : İstanbul
Medeni Durum : Bekar
E-Posta :

EĞİTİM DURUMU

Yüksek Lisans/Üniversite : Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi (2010-2016)

Lise : Çapa Anadolu Öğretmen Lisesi (2006-2010)

ÇALIŞMA DURUMU

- TUS Asistanı (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi)

YABANCI DİL

İngilizce

SERTİFİKA BİLGİLERİ

- Akupunktur Uygulamalı Eğitim Kursu (Nisan 2019 / İstanbul Medipol Üniversitesi)
- Deney Hayvanları Kullanımına Ait Eğitim Sertifikası Programı (Ekim2018 / Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezi)

İŞ DENEYİMLERİ

- Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı / TUS Asistanlığı (Temmuz 2018-Halen)
- İstanbul Esenler 110 No'lu Aile Sağlığı Birimi / Aile Hekimi (15.12.2016-19.06.2018)
- İstanbul Esenler Toplum Sağlığı Merkezi / Tabip (09.09.2016-15.12.2016)

ULUSLARARASI BİLDİRİLER

- Kanpalta F; Aktaş B; Şener G; Ercan F “Evaluation of the effects of apocynin on kidney and bladder in high-fat diet-induced obese rats” 1st International Microscopy & Spectroscopy Congress (Oral Presentation), 22-24 September 2021,Online.

ULUSAL BİLDİRİLER

- Kanpalta F; Aktaş B; Şener G; Ercan F. “Yüksek Yağlı Diyetle İndüklenen Obezitenin Böbrek ve Mesane Hasarı Üzerine Myrtus communis Ekstraktının Koruyucu Etkileri”, 25. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, 22-24 Eylül 2021,Online.

ULUSAL HAKEMLİ DERGİDE YAYINLANAN MAKALE

- Fatma Kanpalta, Dilek Özbeyli, Ali Şen, Özge Çevik, Göksel Şener, Feriha Ercan. “Bitter melon (*Momordica charantia*) fruit extract ameliorates methotrexate-induced reproductive toxicity in male rats”, Marmara Medical Journal, Cilt:34, Sayı:3, 2021. doi no:10.5472/marumj.988941.

PROJELER

- Yüksek yağlı diyetle indüklenmiş obez sıçanlarda aposininin böbrek ve mesane üzerine etkilerinin histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi, Feriha Ercan, Fatma Kanpalta. Marmara Üniversitesi BAPKO, Proje no: TTU-2020-10107 (araştırmacı)

BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİK

- Türk Elektron Mikroskopi Derneği
- Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Uzman Hekimleri Derneği (HEMUD)

ÖDÜLLER VE BURSLAR

- Türkiye Elektron Mikroskopi Derneği Genç Araştırmacı Kongre Katılım Bursu, 1st International Microscopy & Spectroscopy Congress (MSC2021/EMK 2021), Online, 22-24 September 2021.