



**MARMARA
ÜNİVERSİTESİ**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***MYRTUS COMMUNIS* (MERSİN) BİTKİSİNİN ÜRİNER SİSTEM
TAŞ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

ÖZNUR GÜLERTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ECZACILIK FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. GÖKSEL ŞENER

2019-İSTANBUL



MARMARA
ÜNİVERSİTESİ

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***MYRTUS COMMUNIS* (MERSİN) BİTKİSİNİN ÜRİNER SİSTEM
TAŞ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

ÖZNUR GÜLERTÜRK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ECZACILIK FAKÜLTESİ
FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. GÖKSEL ŞENER
İkinci Danışman
Dr. Öğretim Üyesi Müşerref Asuman Akgün

2019-İSTANBUL

TEZ ONAYI

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Farmakoloji
Tez Sahibi : Öznur GÜLERTÜRK
Tez Başlığı : Myrtus Communis (Mersin) Bitkisinin Üriner Sistem Taş Hastalığı
Üzerine Etkisinin İncelenmesi
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 11.02.2019

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Göksel ŞENER

Kurumu

M.Ü. Eczacılık Fakültesi

İmza



Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Levent Kabasakal

M.Ü. Eczacılık Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Beril Kadioğlu Yaman

Yeditepe Üniversitesi Eczacılık
Fakültesi



Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..2.0/Şubat/2019. tarih ve 46 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Öznur GÜLERTÜRK

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince ve tez hazırlığım boyunca her zaman ve her konuda desteğini gördüğüm değerli danışman hocam Prof. Dr. Göksel Şener'e ve yine desteklerini esirgemeyen ikinci danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Asuman Akgün'e, Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Levent Kabasakal'a,

Yüksek lisans ders ve deney sürecini birlikte geçirdiğim, deneyler sırasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Büşra Ertaş'a, Arş. Gör. Ayşenur Hazar'a ve Salih Gümrü'ye,

Tez çalışmamın histolojik bulgularının değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Şule Çetinel'e, biyokimyasal parametrelerinin incelenmesinde gösterdiği destekten dolayı Doç. Dr. Özge Çevik'e ve Doç. Dr. Pınar Eker'e, *Myrtus communis* bitki ekstresinin hazırlanmasında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Ali Şen'e,

Zor anlarda yılmayıp mücadele etmemi teşvik eden ve desteklerini esirgemeyen VKV Amerikan Hastanesi eczane müdürü Ecz. Aslı Özyıldırım'a ve eczane sorumlusu Ecz. Ülker Erbey'e,

Attığım her adımda yanımda olan, tezimi yazma sürecimde desteğini eksik etmeyen, mutluluk ve huzur kaynağım, hayat arkadaşım Kadir Er'e,

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyip her zaman yanımda olan ve attığım her adımda bana güvenen aileme,

şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Bu çalışma Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından 12.09.2017 Tarih ve SAG-C-YLP-120917-0513 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
1. ÖZET	1
2. SUMMARY.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	8
4.1. Taş Oluşum Mekanizmaları.....	8
4.1.1. Süpersatürasyon	9
4.1.2. Nükleasyon ve kristal formasyon.....	10
4.1.3. Kristal agregasyonu.....	10
4.1.4. Kristal retansiyonu	11
4.1.5. Randal plakları	12
4.2. Taş Oluşumunu Uyarıcı ve Baskılayıcı Moleküller	13
4.3. Etilen Glikol ve Üriner Sistem Taş Modeli	18

4.4. Myrtus communis – Mersin Bitkisi	19
5. GEREÇ VE YÖNTEM	23
5.1. Myrtus communis bitki ekstresinin hazırlanması	23
5.2. Çalışma Grupları.....	23
5.3. Biyokimyasal İncelemeler	25
5.3.1. İdrarda kalsiyum, sitrat, oksalat ve kreatinin değerlerinin ölçümü	25
5.3.2. Oksidatif DNA hasarı ölçümü.....	25
5.3.3. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini.....	25
5.3.4. Kaspaz-3 aktivite tayini.....	26
5.3.5. Osteopontin düzeylerinin ölçülmesi.....	26
5.3.6. N- asetil- β -glukozaminidaz enzim aktivitesi ölçümü	26
5.4. Histolojik İncelemeler.....	26
5.5. İstatiksel Analiz	27
6. BULGULAR	28
6.1. İdrar Analiz Sonuçları.....	28
6.2. Böbrek Dokusunda Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular	31
6.2.1. Miyeloperoksidaz aktivitesi sonuçları.....	32
6.2.2. Dokuda N-asetil- β -glukozaminidaz enzim aktivitesi sonuçları	33
6.2.3. Kaspaz-3 aktivitesi sonuçları	34
6.2.4. Oksidatif DNA hasarı sonuçları	35
6.2.5. Böbrek dokularında osteopontin düzeyleri	36
6.3. Histolojik Bulgular	37
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
8. KAYNAKLAR.....	43
9. EKLER	47

Ek 1. Etik Kurul Onayı	47
Ek 2. Kongre Bildirisi.....	48
10. ÖZGEÇMİŞ	49

KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

ABY: Akut böbrek yetmezliği

8-OHdG: 8-hidroksideoksiguanozin

CaOx: Kalsiyum oksalat

CaP: Kalsiyum fosfat

COD: Kalsiyum oksalat dihidrat

COM: Kalsiyum oksalat monohidrat

EG: Etilen glikol

İYE: İdrar yolu enfeksiyonu

MC: Myrtus communis - mersin

MPO: Myeloperoksidaz

NAG: N-asetil- β -glukozaminidaz

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey

OPN: Osteopontin

PTH: Parathormon

RNT: Reaktif azot türevleri

ROT: Reaktif oksijen türevleri

THP: Tamm- Horsfall proteini

UA: Ürik asit

UPTF1: Üriner protrombin fragmenti 1

USTH: Üriner sistem taş hastalığı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Taş oluşumunda rol oynayan ardışık mekanizmalar.....	9
Şekil 2. İdrarda ölçülen kalsiyum, sitrat, oksalat ve kreatinin değerleri	29
Şekil 3. Böbrek doku örneklerinde miyeloperoksidaz (MPO) bulguları	32
Şekil 4. Böbrek doku örneklerinde N-Asetil- β -Glukosaminidaz (NAG) aktivitesi bulguları	33
Şekil 5. Böbrek doku örneklerinde kaspaz-3 aktivitesi bulguları	34
Şekil 6. Böbrek doku örneklerinde oksidatif DNA (8-OHdG) hasarı bulguları	35
Şekil 7. Böbrek doku örneklerinde osteopontin (OPN) düzeyleri	36

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Böbrek taşı oluşumu ile ilgili risk faktörleri.....	4
Tablo 2. Böbrek taş oluşumunu baskılayıcı ve uyarıcı moleküller.....	14
Tablo 3. Baskılayıcı moleküllerin etkileri.....	15
Tablo 4. Miyeloperoksidaz enzim aktivitesi tayini için kullanılan tüp örnekleri	25
Tablo 5. 24 saatlik idrar örneklerinde kalsiyum, oksalat, sitrat ve kreatinin düzeyleri ...	28
Tablo 6. Böbrek doku örneklerinde Miyeloperoksidaz (MPO), kaspaz-3 aktivitesi, oksidatif DNA hasarı (8-OHdG), N-asetil- β -glukozaminidaz (NAG) enzim aktivitesi ve osteopontin (OPN) bulguları	31

RESİM LİSTESİ

Resim 1. Üriner sistemde oluşan taşlar	3
Resim 2. Böbrek taşı türleri	6
Resim 3. Taş oluşum mekanizmaları	12
Resim 4. Etilen glikol metabolizması	19
Resim 5. <i>Myrtus communis</i> - mersin bitkisi	20
Resim 6. İdrar örneklerinde invert mikroskopi ile taşların görünümü.....	30
Resim 7. Hematoksilen ve eozin ile boyanmış böbrek dokularının histolojik incelenmesi, büyütme: x 200.....	37

***Myrtus communis* (mersin) bitkisinin üriner sistem taş hastalığı üzerine etkisinin incelenmesi**

Öğrencinin Adı: Öznur GÜLERTÜRK

Danışmanı: Prof. Dr. Göksel ŞENER

Anabilim Dalı: Farmakoloji Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç: Üriner sistem taş hastalığı (USTH), böbrek fonksiyon bozukluğuna ve kalıcı renal hasara yol açabilen önemli bir ürolojik hastalıktır. Bu çalışmada, *Myrtus communis* (MC) bitkisinin taş oluşumunu engelleyici ve taşa bağlı hasara karşı tedavi edici etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Üç aylık erkek, 250-300 g ağırlığında 32 adet Wistar albino sıçan randomize edilerek kontrol, etilen glikol (EG), MC koruyucu tedavili ve MC tedavili olmak üzere dört gruba (n=8) ayrılmıştır. Taş hastalığı modeli için sıçanlara %0,75 EG içeren içme suyu 8 hafta süre ile verilmiştir. Çalışma sonunda hayvanlar metabolik kafeslere alınarak idrarda kalsiyum, oksalat, sitrat ve kreatinin tayinleri için 24 saatlik idrar örnekleri toplanmıştır. Böbrek dokularında histolojik incelemeler ile osteopontin, N-asetil-β-glukozaminidaz (NAG), myeloperoksidaz (MPO), kaspaz-3 aktivitesi, oksidatif DNA hasarı (8-OHdG) tayinleri yapılmıştır.

Bulgular: 24 saatlik idrar örneklerinde EG grubunda kalsiyum, sitrat ve kreatinin düzeyleri azalırken, oksalat düzeyleri artmış, tedavi gruplarında ise kontrol seviyelerine geri dönmüştür. Dokuda MPO, 8-OHdG, kaspaz-3 ve NAG aktivitesi anlamlı olarak artmış ve iki tedavi grubunda da bu değişiklikler geri çevrilmiştir. Histolojik bulgular da biyokimyasal bulguları desteklemiştir.

Sonuç: *Myrtus communis* koruyucu veya tedavi edici ajan olarak kullanıldığında, muhtemelen antioksidan özellikleri ile kristal formasyon ve agregasyonu nedeniyle oluşan kristalüri ve böbrek hasarını önleyebilir. Böylece MC, oksidatif böbrek hücre hasarı ve böbrek taşı oluşumunu önlemede klinik bir uygulama alanına sahip olabilir.

Anahtar Sözcükler: etilen glikol, böbrek hasarı, *myrtus communis*, oksidatif DNA hasarı, kristalüri.

Antiuroolithiasis Activity of *Myrtus communis* extract against Ethylene Glycol Induced Renal Calculi in Rat

Öğrencinin Adı: Öznur GÜLERTÜRK

Danışmanı: Prof. Dr. Göksel ŞENER

Anabilim Dalı: Farmakoloji Anabilim Dalı

2. SUMMARY

Aim: Urinary system stone disease (USSD) is an important urological disease that can lead to renal dysfunction and permanent renal damage. In this study, we evaluated the preventive and curative effects of *Myrtus communis* (MC) extract on USSD in rats.

Materials and methods: Thirty-two Wistar albino rats of 3 months-old were randomized and divided into 4 groups (n=8); control (C), ethylene glycol (EG), EG+preventive MC, EG+curative MC extract groups. USSD was induced by adding 0.75% EG to drinking water of rats for 8 weeks. At the end of the experiment, 24-hour urine was collected to analyze calcium, citrate, and creatinine levels. In kidney tissues, histological analyses and osteopontin, N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG), myeloperoxidase (MPO), caspase-3 activity, oxidative DNA damage (8-OHdG) levels were measured.

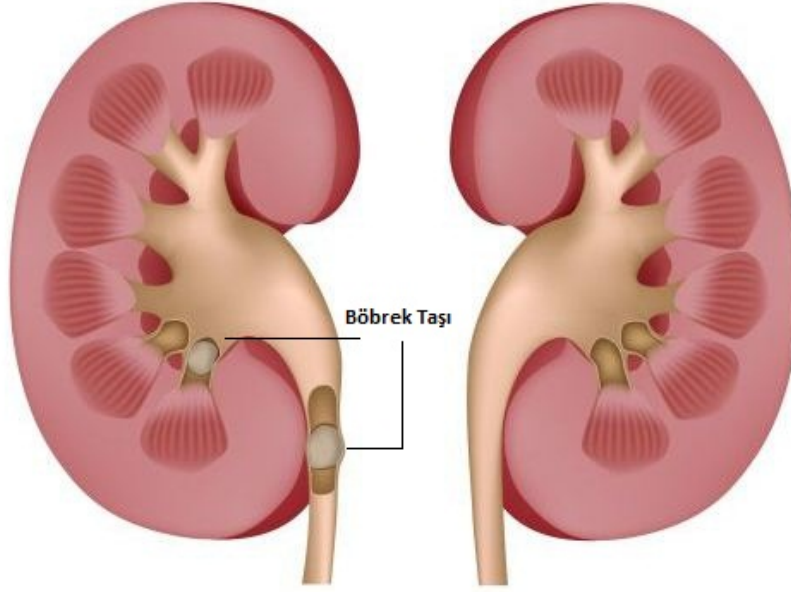
Results: In 24-hour urine samples, calcium, citrate and creatinine levels were decreased in the EG group, while oxalate levels increased and in the treatment groups these parameters returned to control levels. MPO, 8-OHdG, caspase-3 and NAG activity were significantly increased in tissue and these changes were reversed in both treatment groups. Histological findings also supported biochemical findings.

Conclusion: *Myrtus communis* can prevent crystalluria and kidney damage due to crystal formation and aggregation, when used as either a preventive or therapeutic agent probably through antioxidant properties. Thus, MC might have clinical implications in preventing oxidative renal cell injury and ultimately kidney stone formation.

Key words: Ethylene glycol, kidney damage, *myrtus communis*, oxidative DNA damage, crystalluria.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Üriner sistem taş hastalığı (USTH) (Resim 1), böbrek fonksiyon bozukluğuna ve kalıcı renal hasara yol açabilen önemli bir ürolojik hastalıktır. Üriner sistem taş hastalığının, sık görülmesi ve tedavi edildikten sonra nüks etmesinden dolayı taş oluşumunu önleyici ve tedavi edici mekanizmalar üzerinde yapılan çalışmalar her geçen gün daha da önem kazanmaktadır. Multifaktör etiyojisi ve yüksek nüks oranları nedeniyle USTH, tıbbi bir zorluk oluşturmaktadır (Aggarwal ve ark., 2013).



Resim 1. Üriner sistemde oluşan taşlar

(<https://www.hastane.cosm.tr/saglik/bobrek-tasi-tanisini-koymada-neler-yapilabilir.html>)

Çeşitli araştırmalar, ABD’de son 3 yılda nefrolitiazis prevalansının iki katına çıktığını ve nefrolitiazis tedavisi için 5 milyar doları aşan yıllık harcama tutarının olduğunu göstermiştir. Bu durum ekonomik ve sosyal açıdan göz ardı edilemeyecek bir yüküdür (Shadman ve Bastani, 2017). The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) tarafından 1994 yılında yapılan anketlerin analiz sonucu, 20-74 yaşlarındaki yetişkinlerde böbrek taşı görülme oranı 1976-1980’de %3,2’den 1988-1994’te %5,2’ye yükseldiğini göstermiştir. 2007-2010 anketinin güncel bir analizi, prevalansın %8,8’e

yükseldiğini ortaya koymuştur. Analize göre erkeklerde böbrek taşları görülme sıklığı %10,6 iken, kadınlarda %7,1 olarak rapor etmişlerdir. Artan yaş grubu ile görülme sıklığının arttığı gözlenmiştir. Örneğin, 20 ila 29 yaşları arasındaki yetişkinlerde prevalans hem erkek hem de kadınlar için %3,1 iken, 60-69 yaşları arasındaki erkeklerde %19,1, kadınlarda ise %9,4 olduğu görülmüştür (Ziemba ve Matlaga, 2017). Van Batvia ve Tasian tarafından yapılan bir araştırmaya göre, ABD'de son 20 yılda pediatrik nefrolitiazis insidansı yıllık %6 ile %10'luk bir artış göstermiştir. Başka bir çalışma, en büyük artışın 15 ile 19 yaş arasındaki gençlerde kaydedildiğini ve 1997'den 2012'ye kadar her 5 yılda bir %26'lık bir artışla devam ettiği sonucuna varmıştır (Miah ve Kamat, 2017).

Üriner sistem taşlarının oluşumu yaş, cinsiyet ve kalıtım gibi iç faktörlere ve coğrafya, iklim, diyet, mineral bileşimi ve su alımı gibi dış faktörleri içeren karmaşık ve çok yönlü bir süreçtir. Böbrek taşı oluşumunun olası nedenlerinin bir özeti Tablo 1'de gösterilmiştir (Alelign T, Petros B, 2018).

Tablo 1. Böbrek taşı oluşumu ile ilgili risk faktörleri

-
- Yaşam tarzı alışkanlıkları ve diyet/beslenme faktörleri: Aşırı miktarda hayvansal protein, tuz alımı ve sitrat, lif, alkali gıdalar gibi şelatlama ajanlarının eksikliği
 - Metabolik bozukluklar: Hiperkalsüri, hipositatüri, hiperoksalüri, hiperürikosüri ve gut öyküsü
 - Hiperkalsemik bozukluklar: Primer hiperparatiroidizm ve diğer Ca metabolizması bozuklukları
 - Düşük idrar hacmi: Yetersiz su alımı (dehidrasyon)
 - Tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonları
 - Genetik yatkınlık/kalıtımsal bozukluklar: Ailede böbrek taşı öyküsü, böbrek tübüler asidozu
 - Anatomik anormallikler: Üreteropelvik eklem darlığı, polikistik böbrek hastalığı gibi
 - Hipertansiyon, obezite
 - İklim değişikliği (küresel ısınma), meslek, coğrafi koşullar ve mevsimsel değişiklikler
 - İnflamatuar barsak hastalıkları ve bağırsakta emilim bozukluğu ile ilgili diğer hastalıklar
 - Litojenik ilaçlar: İndinavir, sülfonamidler, düşük çözünürlüğe sahip olan ürikozürik ajanlar, seftriakson (uzun vadede yüksek doz)
-

(Alelign ve Petros, 2018).

Üriner sistem taş hastalığı semptomlarının başlangıcı, taş geçişinin neden olduğu şiddetli ağrı ile karakterize renal koliktir. Ağrı, taşın böbrek pelvisinden üretere hareket etmesi ile tetiklenir ve bu ilerleme üreter spazmı ve muhtemelen tıkanmaya sebep olabilir. Taş, üretere doğru hareket ederken ağrı yan alanlarda başlar, aşağıya ve genital bölgenin anterioruna doğru ilerler. Ağrı, pozisyon değişikliği ile birlikte genellikle şiddetlenir ve buna bulantı ve kusma eşlik edebilir. Hematüri, daima mevcuttur, ancak bazı durumlarda mikroskopik olarak gözlenir. Taş, üreter ile mesanenin birleşiminde ise idrar sıklığı artar ve aciliyet hissi yaratabilir. Taş, üreterden mesaneye hareket edip geçtiğinde ise tüm semptomlar hafifler (Worcester ve Coe, 2008).

Çapı 5 mm'den küçük olan böbrek taşları, idrar yolundan yüksek oranda geçme şansına sahipken, 5-7 mm'lik olanlar %50 oranında geçme şansına sahiptir. 7 mm'den büyük olanlar ise genellikle ürolojik müdahale gerektirir. Taşların yaklaşık %90'ı idrar yolundan başarılı bir şekilde geçerken, geriye kalan taşların genellikle üreteroskopi veya perkütan nefrolitotomi yöntemleri ile cerrahi olarak çıkarılması veya noninvaziv teknik olan şok dalgası litotripsi ile parçalanması gerekir (Andrew, 2010).

Üriner sistem taş hastalığında, taşların yaklaşık %75'i esas olarak kalsiyum oksalattır (CaOx), %10-20'si magnezyum amonyum fosfattan (struvit veya üçlü fosfat); %5'i ürattan ve %1-2'si sistinden oluşur (Şekil 2). CaOx taşlarının %50' sinden fazlası ise eser miktarda veya daha fazla miktarda kalsiyum hidroksil fosfattan (bruşit veya kalsiyum hidroksiapatit) oluşur (Aggarwal ve ark., 2013). Böbrek taşlarının analizi taş oluşumunun tedavisi ve nüksünün önlenmesi için geliştirilecek stratejileri formüle etmek amacıyla nefrolitiazis üzerine yapılan araştırmaların önemli bir konusudur. Böbrek taşlarının analizi için kullanılan güncel teknikler şunlardır: kimyasal analiz, termogravimetri, polarizasyon mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu, toz X ışını kırınımı ve spektroskopisi (Singh ve Rai, 2014).



Resim 2. Böbrek taşı türleri

Kalsiyum oksalat taşları; Kalsiyum oksalat monohidrat (COM) ve Kalsiyum oksalat dihidrat (COD) kristallerinden yapılmıştır. COM termodinamik olarak en stabil form olup, COD'tan daha sık görülür (klinik olarak 2: 1 oranında). Taş oluşumu $CaOx$ ve kalsiyum fosfat (CaP)'ın, kristal büyümesi ve nükleasyon kristal agregasyonu, kristal retansiyonu ve adezyonu ile kristal formasyonuna giden bir dizi süreçten meydana gelir (Basavaraj ve ark., 2011). Bu süreçler uyarıcı ve/veya baskılayıcı etkileri olan kimyasal ve çevresel faktörlerin ilavesi ile devam eder. Baskılayıcı faktörlere alkali pH, sitrat, pirofosfat, magnezyum ve glikoproteinler (osteopontin, Tamm-Horsfall proteini, üriner protrombin fragmenti 1, glikozaminoglikanlar, nefrokalsin gibi) örnek olarak verilebilir (Narter ve Sarıca, 2013).

Etilen glikol (EG) uygulaması sık kullanılan bir nefrolitiazis modelidir: Etilen glikol hem idrar hem de böbreklerdeki COM kristallerine yol açan glikolat, gliksilat ve oksalata metabolize olur (McMartin, 2009). Bu modeli oluşturmak amacı ile sıçanlara %0,75'lik EG solüsyonunu içeren içme suyu verilir. Etilen glikolün tek başına verilmesi

ile oluşan kronik hiperoksalüri, şiddetli kristalüriye yol açarak hayvanda CaOx nefrolitiazisini geliştirir. Bu oluşum sırasında kalsifikasyonu inhibe eden veya destekleyen osteopontin (OPN), bikunin ve Tamm-Horsfall proteini (THP) gibi çeşitli makromoleküllerin de arttığı bildirilmiştir (Bilbault ve Haymann, 2016; Çakır ve ark., 2014).

Myrtus communis bitkisi, geleneksel olarak antiseptik, dezenfektan ve hipoglisemik ajan olarak kullanılır. Türkiye'de mersin yaprakları ve meyveleri köylerde antiseptik bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Aleksic ve Knezevic, 2014). Benzer şekilde, İtalyan halk tıbbında, bu bitkinin meyveleri ishal ve dizanteri de dahil olmak üzere birçok bulaşıcı hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Gortzi ve ark., 2008). Yaprakların, kandidiaz tedavisinde antiseptik ve antiinflamatuvar ajan olarak kullanımının yanı sıra gargara olarak da kullanımı mevcuttur. Mersin yapraklarından elde edilen esansiyel yağ, akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmıştır. Genel olarak, halk tıbbında, yaprak ve meyvelerin kaynatılması, mide ağrıları, hipoglisemi, öksürük, kabızlık, iştahsızlıkta sistemik olarak, yara iyileşmesi için ise lokal olarak kullanılır (Aleksic ve Knezevic, 2014; Tuzlacı, 2006).

Hadzadeh ve ark. 2007 yılında *Nigella Sativa* (çörek otu) ekstresinin, renal tübüllerin farklı bölümlerinde CaOx taşlarının sayısını ve büyüklüğünü azalttığını ve bu ekstrenin taş oluşumuna karşı özellikle koruyucu etkilerinin olduğunu göstermişlerdir (Hadzadeh ve ark., 2007). Zhang ve ark. 2014 yılında *Urtica dioica* (ısırgan) ekstresinin, CaOx böbrek taşlarını eriterek çözdüğünü, CaOx taş oluşumu da dahil olmak üzere idrar ve renal parametreler üzerinde doza bağlı bir iyileştirici etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır (Zhang ve ark., 2014).

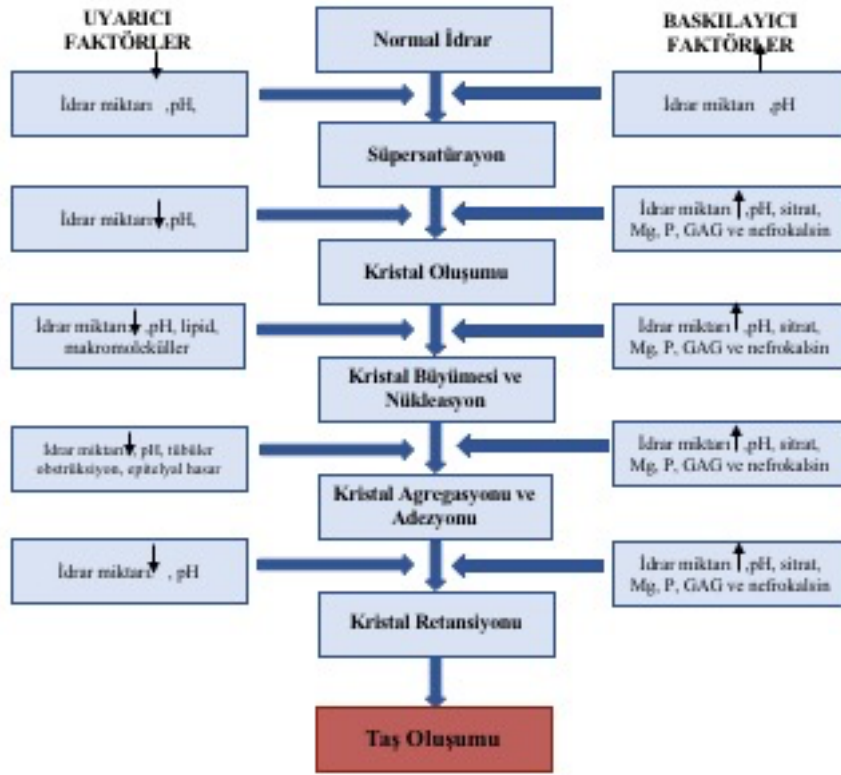
Yapılan bu çalışmalar, halk tarafından geleneksel olarak kullanılan bu bitkilerin böbrek ve idrar yolu rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılabileceğini desteklemektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda halk arasında antidiyareik, iştah açıcı, vazokonstriktör, idrar söktürücü, antihiperglisemik, antibakteriyel olarak kullanılan Myrtaceae türlerinden biri olan *Myrtus communis* bitkisinin bu çalışmada üriner sistem taş hastalığı üzerine etkisi detaylı olarak inceleyip aydınlatılarak literatüre katkı yapılması amaçlanmaktadır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Taş Oluşum Mekanizmaları

İnsan serum oksalat konsantrasyonu 1 ila 5 mikron arasında değişmekle birlikte, böbrekteki su emilimi nedeniyle, idrardaki oksalat konsantrasyonu 100 kat daha yüksektir. Fizyolojik bir pH'ta oksalat, kalsiyum ile çözünmez bir tuz oluşturur. Sulu bir çözelti içinde kalsiyum oksalatın çözünürlüğü pH = 7,0'da yaklaşık 5 mg/l ile sınırlıdır, Günlük idrar hacminin 1 ile 2 l/gün arasında değiştiği ve idrar oksalat atılımının 40 mg/gün'den az olduğu varsayılırsa, idrar genellikle kalsiyum oksalat ile süpersatüredir. Bununla birlikte, normal koşullar altında kan, kalsiyum oksalat bakımından daha az doygunur. Bazı durumlarda (primer hiperoksalüri ve böbrek yetmezliği olan hastalar gibi), serum oksalat konsantrasyonu 30 μ M'nin üzerine çıktığı zaman, kan kalsiyum oksalat ile süpersatüre olur. Plazmada, oksalatın proteine bağlanma oranı düşük olduğu için böbrekler tarafından serbestçe süzülür (Dardamanis, 2013).

Taş oluşumu kristalizasyon ile başlayan, kristal büyümesi, agregasyon, retansiyon ve adezyon ile kristal formasyonuna giden bir dizi süreç (Şekil 1) sonucu meydana gelir. Bu süreçler uyarıcı ve/veya baskılayıcı etkileri olan kimyasal ve çevresel faktörlerin ilavesi ile devam eder. Baskılayıcı faktörlere alkali pH, sitrat, pirofosfat, magnezyum ve glikoproteinler (osteopontin, Tamm-Horsfall proteini, üriner protrombin fragmenti 1, gilkozaminoglikanlar, nefrokalsin gibi) örnek olarak verilebilir (Narter ve Sarıca, 2013).



Şekil 1. Taş oluşumunda rol oynayan ardışık mekanizmalar

(Narter ve Sarıca, 2013).

4.1.1. Süpersatürasyon

Böbrek taşı oluşum mekanizması, iki zıt gücü içeren, karmaşık bir fiziksel ve kimyasal süreçten kaynaklanır. Bunlardan biri taş oluşumu için itici güç sağlayan üriner süpersatürasyondur. Diğeri ise taş oluşumuna karşı koruyan idrar inhibitörleri ve diğer çözümler molekülüdür. Süpersatürasyon, çözümlenmiş tuzun katı faza geçişini sağlayan, faz değişimi için itici bir güçtür. Süpersatürasyon, taş oluşturan tuz konsantrasyonunun, çözelti içindeki çözünürlüğünü aştığı anlamına gelir (Gnessin ve ark., 2010).

Süpersatürasyonun temel mekanizması tüm taşlar için ortaktır. Ancak yine de taş oluşumu için gerekli olan çözünme düzeyi hem taşın türüne göre değişir hem de kişiden

kişiyeye farklılıklar gösterir. Tekrarlayan taş hastalığı, çözünen miktarının düşük olduğu durumlarda bile spontan taş oluşumu için yatkınlığı artırır (Narter ve Sarıca, 2013).

4.1.2. Nükleasyon ve kristal formasyon

Taş oluşumu öncesinde doymuş idrarda kristaller oluşur ve çöker. Bu sürecin ilk basamağı yani nükleasyondur. Nükleasyon, kristal oluşumu için en küçük birimin kurulmasıdır.

Nükleasyon, stabil solid faza sahip olan ve daha büyük kristallere kendiliğinden büyüme yeteneği gösteren çökeltinin ilk partiküllerinin oluşumudur. İki çekirdeklenme şekli vardır: homojen çekirdeklenme ve heterojen çekirdeklenme. Kristal çekirdekler, sistemde bulunan solid partiküller tarafından (heterojen nükleasyon) veya süpersatüre solüsyonda spontan olarak (homojen nükleasyon) oluşturulabilir (Narter ve Sarıca, 2013; Gnessin ve ark., 2010).

Saf bir çözeltide, süpersaturasyon formasyon ürününün üzerine yükseldiğinde çekirdek oluşur. Bu nükleasyon sürecine homojen çekirdeklenme denir ve genellikle yüksek süpersaturasyonda gerçekleşir. İnsan idrarında çok çeşitli kimyasal yapılar bulunduğu için kristal çekirdeği, hücresel atıklar, idrarda var olan diğer kristaller ve idrarın diğer bileşenleri üzerinde şekillenme eğilimindedir. Nükleasyonun bu formu heterojen çekirdeklenme olarak adlandırılır ve daha düşük bir süpersatürasyon seviyesinde gerçekleşir (Hadjzadeh ve ark., 2007). Heterojen nükleasyon, hücresel atıklar, eritrositler ve silendirler gibi yabancı yüzeylerin varlığında daha düşük süpersatürasyon seviyelerinde oluşur (Narter ve Sarıca, 2013).

4.1.3. Kristal agregasyonu

Nükleasyon oluştuğunda, idrar çökelen tuzlar bakımından süpersatüre kaldığı sürece, kristal gelişimi devam eder (Narter ve Sarıca, 2013). Taş kristalleri, birleştirme veya aglomerasyon olarak bilinen bir işlem vasıtasıyla birbirine bağlanır. Güçlü kimyasal ve elektriksel kuvvetler toplama sürecini teşvik eder. Tek bir kristal toplayıcı kanallarda tutulamayacağından ancak kristaller birbirine yapıştığında kümelenme başlar ve bu küme içinde iken kristaller birbirinden ayrılamazlar. Dolayısıyla kristal birikimi taş oluşumunda önemli bir basamaktır (Gnessin ve ark., 2010).

Bu işlemde çözeltilerdeki kristaller birbirine yapışır ve daha büyük bir parçacık oluşturur. Parçacıkların çözeltilerde toplanması, bazıları kümelenme etkileri olan ve bazıları ayrıştırma etkileri olan bir kuvvet dengesi ile belirlenir. Küçük parçacıklar arası mesafe, çekici gücü artırır ve parçacık kümeleşmesini destekler. Ek olarak, Tamm-Horsfall glikoprotein ve diğer moleküller yapışkan olarak hareket edebilir ve viskoz bağlanmayı arttırabilir. Agregasyonu engelleyen ana kuvvet, Zeta potansiyeli olarak bilinen itici elektrostatik yüzey yüküdür. Taş oluşumunun çeşitli aşamalarında, kristal agregasyonu nükleasyon ve büyümeden daha önemli bir faktördür, çünkü agregasyon saniyeler içinde gerçekleşir (Basavaraj ve ark., 2011).

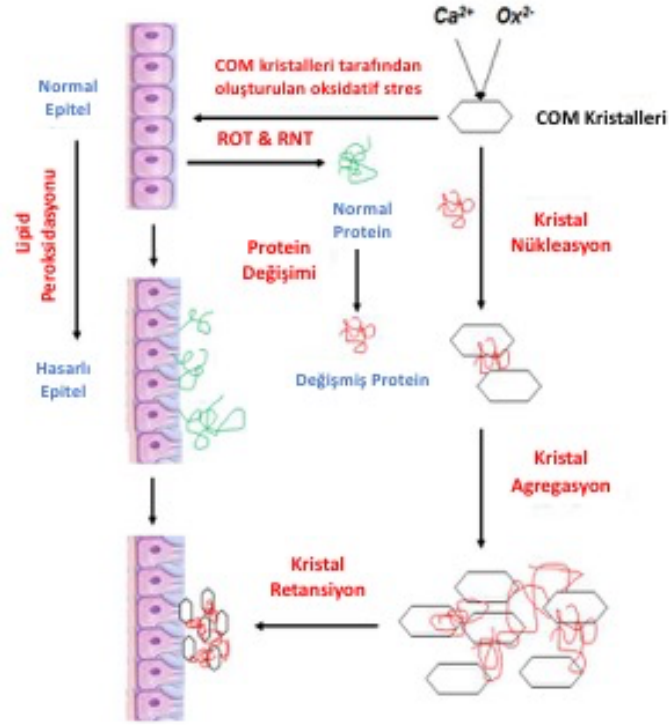
4.1.4. Kristal retansiyonu

Tüm bireylerde distal renal tübülüs kalsiyum ve oksalat içeriği açısından süpersatüredir. Nükleasyon ve kristalizasyona rağmen kristalüri az sayıda insanda taş oluşturur (Narter ve Sarıca, 2010).

Kristal retansiyonu, kristallerin renal tübüllerde sıkışabilecek kadar büyümesi veya atılmadan önce üroyelyuma yapışması sonucu ortaya çıkar (Chung, 2014). Toplama kanalından mesaneye geçiş süresinin yaklaşık 5 ila 7 dakika olduğu tahmin edildiği için, klinik olarak önemli bir boyutta taş oluşumu için kristal retansiyonu gereklidir. Kristal retansiyonu açıklamak için iki mekanizma önerilmiştir: serbest parçacık hipotezi ve sabit parçacık hipotezi (Gnessin ve ark., 2010).

Serbest partikül teorisi, nükleasyon ve kristal oluşumunun tübüler sıvı süpersatüre olduğunda lümeninde gerçekleştiğini öne sürmektedir (Narter ve Sarıca, 2010). Kristaller renal tübüller içerisinde hareket ettikçe, hızlı agregasyon ile lümeni tıkayarak papiller toplama kanalında tutulacak kadar büyük bir kristal oluşturur (Gnessin ve ark., 2010).

Sabit partikül teorisinde, kristaller ile renal tübüler epitel hücreleri arasında bir etkileşim olduğu ileri sürülmektedir. Bu hücrelerde bulunan osteopontin ve hyaluronan gibi bazı bağlayıcı moleküllerin taş oluşumunda önemli rolü olduğu ileri sürülmüştür. Özellikle kalsiyum oksalat taşlarında hiperoksalürinin renal epitelyal hücrelerde hasara sebep olduğu ve bu moleküllerin miktarını değiştirerek sonuçta da kristal retansiyonuna katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Narter ve Sarıca, 2013). Taş oluşumu ve epitel hasar arasındaki ilişki Resim 3'te gösterilmiştir.



Resim 3. Taş oluşum mekanizmaları

4.1.5. Randal plakları

İdrar ile dışarı atılmamış olan çekirdeklenmiş kristaller taş oluşturabilir. Bu nedenle kristal retansiyonu önemli bir faktördür. CaOx taşları 1937 de ilk kez Randal tarafından tanımlanmıştır ve Randal'ın plakları olarak bilinmektedir. Kristal tutulumunun en eski kanıtı olan bu çalışmada Randall renal papillada subepitelyal kalsiyum kristallerinin birikimi sonucu oluşan taşları teknik yetersizliklerden dolayı el büyüteçleri ile makroskopik olarak gözlemlemiştir. Randall, yaptığı çalışmada kalsifik tortuların hasarlı renal epitelyal bazal membranlarda oluştuğunu ve daha sonra idrar toplama sistemine girdiğini belirtti (Randal, 1940; Chung, 2014). Stoller ve ark., yüksek çözünürlüklü radyografi kullanılarak, görüntülenen kadavra böbreklerinin %57'sinde papiller kalsifikasyon göstermişlerdir. Ayrıca hipertansiyon öyküsü ile papiller kalsifikasyon arasında bir ilişki olduğunu da göstermişlerdir. Papiller kalsifikasyonlar ve idrar taşı oluşumu arasındaki ilişkiyi daha fazla araştırmak için hastalarda Randall plaklarının

varlığı, paterni ve dağılımı endoskopik olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada, çıkarılan taşların birincil bileşimi ile plakların görülme sıklığını ortaya koyulmuştur. Ayrıca, papiller plak insidansının kalsiyum oksalat (%88) ve kalsiyum fosfat taşları (%100) olan hastalarda, üriner taş hastalığı öyküsü olmayanlara (%43) göre anlamlı olarak daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular papiller plak varlığının kalsiyum nefrolitiazis ile ilişkili olduğunu ve kalsiyum idrar taşlarının patogenezinin aydınlatılmasında yararlı olacağını göstermektedir (Stoller ve ark., 1996).

Abrol ve Kekre 2014 yılında yaptığı bir çalışmada, idiyopatik kalsiyum oksalat taşı patogenezinde tanımlanan faktörlere benzer şekilde randal plaklarının patogenezinin çok faktörlü olduğunu belirtmişlerdir. Randal plaklarının patogenezinde genetik etkiler, idrar minerallerinin süpersatürasyonu, oksidatif stres, interstisyel organik moleküller (kollajen, glikozaminoglikanlar), mineralizasyon modülatörleri (osteopontin, THP, fetuin), kristal kaynaklı inflamasyon gibi birçok faktör olduğu gösterilmiştir (Abrol ve Kekre, 2014).

4.2. Taş Oluşumunu Uyarıcı ve Baskılayıcı Moleküller

Taş oluşumunu baskılayıcı moleküller, süper doygunluğa ulaşma seviyesini arttırarak böylece nükleasyonun başlamasını, kristal büyümesi ve agregasyonu ile ikincil nükleasyonu önlerler. Buna karşın taş oluşumunu uyarıcı moleküller ise, süperdoyunluğa ulaşma seviyesini azaltarak, kristalleşmeyi artıran moleküllerdir. Tablo 2 de belirtilen baskılayıcı moleküller ile uyarıcı moleküller arasındaki dengesizliğin, üriner taş oluşumunda önemli olduğu ileri sürülmüştür (Gupta ve ark., 2011).

Tablo 2. Böbrek taş oluşumunu baskılayıcı ve uyarıcı moleküller

Baskılayıcı Moleküller	Uyarıcı Moleküller
Sitrat	Kalsiyum
Magnezyum	Sodyum
Pirofosfat	Oksalat
Tamm-Horsfall proteini	Ürat
Üriner protrombin fragmenti 1	Düşük idrar pH
Glikozaminoglikanlar	Tamm-Horsfall proteini
Osteopontin	Düşük idrar hacmi
Nefrokalsin	
Yüksek idrar hacmi	

(Gupta M, Bhayana S, Sikka SK, 2011)

Düşük idrar hacmi, düşük idrar pH, kalsiyum, sodyum, oksalat ve üratın taş oluşumunu desteklediği bilinmektedir. Böbreğin hücre yüzeylerinde hücre döküntüleri, protein agregatları ve diğer kristaller çekirdeklenme için uygun bölge sağlayabilir. Bu çekirdeklenme bölgeleri, kristalleşmeyi başlatmak için gereken süpersatürasyon seviyesini düşürerek CaOx kristalleşmesini teşvik edebilir. Ürik asit dihidrat ve kalsiyum oksalat monohidrat kristalleri arasında birbirlerinin büyümesini destekleyen güçlü bir benzerlik vardır. Kristallerin oluşumunu ve büyümesini destekleyen bir başka faktör iyonik kalsiyumdur. Hiperkalsiüri inhibitör aktiviteyi azaltabilir ve kristalleşmeye eğilim yaratır. Çalışmalar ürik asit ve CaP'nin heterojen çekirdeklenmeyi destekleyebileceğini göstermektedir (Gupta ve ark.; 2011; Basavaraj ve ark.; 2007).

Baskılayıcı makromoleküller, kristal matriks proteini, bikunin, Tamm-Horsfall proteini (THP) ve osteopontin (OPN) gibi bileşiklerdir. Ayrıca, anatomik faktörler de taş hastalığının gelişimine katkıda bulunabilir (Basavaraj ve ark., 2011).

Baskılayıcılar, kristallerin büyüme ve agregasyon hızını yavaşlatır veya inhibe eder veya kristallerin renal epitelyuma yapışmasını azaltır. Birçok inorganik ve organik maddenin,

Tablo 3’de gösterildiği gibi kristal büyümesini, agregasyonunu ve yapışmasını inhibe ettiği bilinmektedir (Gupta ve ark., 2011).

Tablo 3. Baskılayıcı moleküllerin etkileri

Baskılayıcı Moleküller	Etkileri
Sitrat	Büyüme inhibitörü
Magnezyum	Büyüme inhibitörü
Pirofosfat	Büyüme ve agregasyon inhibitörü
Osteopontin	Nükleasyon, Büyüme ve agregasyon inhibitörü
Üriner protrombin fragmenti	Büyüme, agregasyon ve adezyon inhibitörü
Tamm-Horsfall proteini	Nükleasyon ve büyümenin promotörü, agregasyon inhibitörü
Glikozaminoglikanlar	Büyüme, agregasyon ve adezyon inhibitörü
Nefrokalsin	Büyüme ve agregasyon inhibitörü

(Gupta ve ark., 2011).

Alkali pH değeri, taşın bileşimine, cinsine bağlı olarak hem yararlı hem de zararlı etkilere sahip olduğu için taş oluşumunun bir inhibitörü olarak söylenemez, ancak alkali pH, asidik idrarda oluşmaya eğilimli olan sistin ve ürik asit taş oluşumunu inhibe eder (Gupta ve ark., 2011).

Magnezyum amonyum fosfat (struvite) taşlarının oluşumunda ise üreaz üreten bakteriyel enfeksiyonların (klebsiella, proteus, pseudomonas, stafilokok) rolü vardır. Bu enfeksiyonlarda idrardaki üre, amonyak ve karbondioksite yıkılır, ardından amonyum iyonları ve bikarbonata hidrolize olur. Bu ürünlerin magnezyum katyonuna bağlanmasıyla magnezyum amonyum fosfat ve karbonat apatiti oluşur (Narter ve Sarıca, 2013).

Sitrat, kalsiyum gibi üriner katyonlarla kompleks oluşturabilme yeteneğine bağlı olarak koruyucu rol oynar (Narter ve Sarıca, 2013). Kalsiyum ile kompleks oluşturarak, kalsiyum oksalat doygunluğunu azaltır. Bununla birlikte, kalsiyum agregasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir (Ratkalkar ve Kleinman, 2011). Sitrat, özellikle kalsiyum oksalat ve fosfat taşları için güçlü bir inhibitördür. Sitrat, hem kalsiyum oksalat monohidratın (termodinamik olarak en kararlı form) hem de kalsiyum fosfat

kristalleşmesinin değiştirici bir faktörü olarak görünmektedir. Kalsiyum ile kompleks oluşturur ve böylece kalsiyum oksalat konsantrasyonunu azaltır. Sitrat ayrıca diğer idrar makromoleküllerinin taş oluşumunu baskılayıcı aktivitesini artırır ve idrar yollarındaki protein matriksinin önemli bir bileşeni olan üriner osteopontinin ekspresyonu azaltır. Hücre içi asidoz, yüksek proteinli diyet ve egzersiz idrar sitrat konsantrasyonlarında azalmaya neden olur. Parathormon (PTH), magnezyum, lityum, kalsitonin ve D vitamininin idrar sitrat düzeylerini artırdığı bulunmuştur (Gupta ve ark., 2011).

İdrarda doğal olarak bulunan bir madde olan **pirofosfatın** hem kalsiyum oksalat hem de kalsiyum fosfat kristalleşmesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Ratkalkar ve Kleinman, 2011). Düşük konsantrasyonlarda, 16 mM, pirofosfat COM kristal büyümesini %50 oranında inhibe etmektedir. Üriner pirofosfat seviyesi 20-40 mM aralığındadır ve bu nedenle teorik olarak CaOx ve CaP kristalizasyonunu inhibe etmek için yeterince yüksektir (Basavaraj ve ark., 2011).

Magnezyum, vücuttaki yüksek oranda bulunan dördüncü mineraldir ve büyük oranda kemiklerde bulunur. Diyetle alınan magnezyum ince bağırsaklarda emilir ve böbrek yoluyla atılır. Toplam vücut magnezyumunun sadece %1'i kanda dolaşır (Basavaraj ve ark., 2011). Aşırı doymuş bir kalsiyum oksalat çözeltisinde magnezyumun kristal büyümesini %50 oranında azalttığı gösterilmiştir. Magnezyum, oksalat ile kompleksler oluşturarak süpersatürasyonu azalttığı bilinmektedir (Gupta ve ark., 2011). Magnezyumun, kristallerin yanı sıra nükleasyonun büyümesini inhibe ederek taş oluşumunu engellediği de gösterilmiştir (Ratkalkar ve Kleinman, 2011).

Glikozaminoglikanlar taş matrisinde bulunan makromoleküllerden biri olarak tanımlanmıştır. Kalsiyum oksalat kristalleşmesinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Büyüme bölgelerini bloke ederek kalsiyum oksalat kristallerinin büyümesini ve agregasyonunu inhibe etme yeteneğine sahiptir. Böbrek taşı oluşumunda önemli bir adım olan böbrek hücrelerine kristal yapışmasını da önler (Gupta ve ark., 2011).

Nefrokalsin, kalsiyum oksalat kristalleşmesini inhibe etme yeteneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülen iki sistein ve iki veya üç γ -karboksiglutamik asit bağı içeren bir moleküldür. Nefrokalsin, kalsiyum oksalat taşlarının nükleasyon, retansiyon

mekanizmaları ile böbrek hücrelerine kristal yapışmasını inhibe eder (Gupta ve ark., 2011). Nefrokalsin genellikle taş oluşumunu baskılayıcı etki göstermesine rağmen, bazı kalsiyum oksalat monohidrat taşlarına sahip bireylerde nefrokalsin moleküllerinde γ -karboksi glutamik asidin bulunmadığı ve bunun da taş oluşumunu baskılayıcı fonksiyonların kaybı ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Narter ve Sarıca, 2013).

Osteopontin, aşırı doymuş bir çözelti içinde CaOx kristallerinin büyümesini engelleyen negatif yüklü aspartik asit açısından zengin bir proteindir. Osteopontin, mineralizasyonun düzenlenmesinde hem fizyolojik hem de patolojik etkiye sahiptir. Osteopontin, böbrek içinde sentezlenir ve idrara salınır. İnsan idrarında 100 nM'ı aşan seviyelerde bulunur. İn vitro çalışmalar OPN'nin CaOx kristallerinin çekirdeklenmesini, büyümesini ve agregasyonunu inhibe ettiğini göstermektedir (Basavaraj ve ark., 2011).

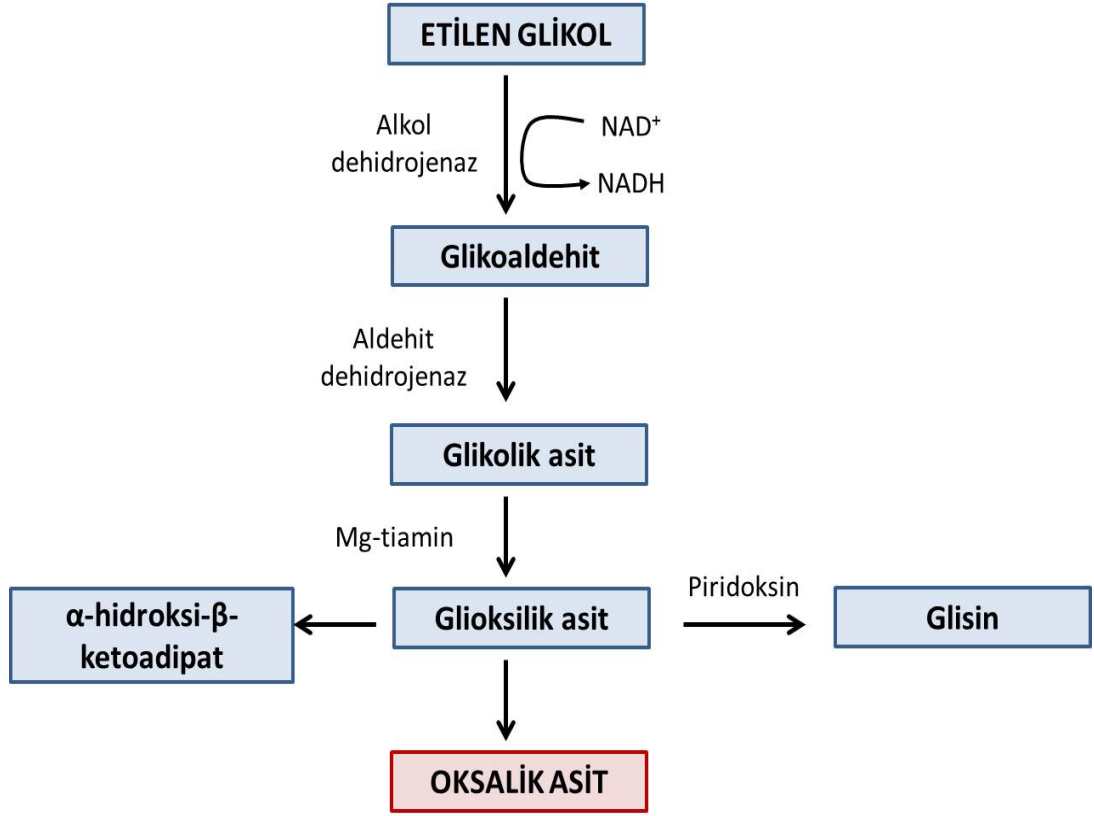
Kan pıhtılaşma faktörü olan protrombin, trombin, fragment 1 ve fragment 2 olmak üzere üç parçadan oluşur. Fragment 1 idrarla atılır ve üriner protrombin fragmenti (UPTF1) olarak adlandırılır ve in vitro ortamda CaOx taş oluşumunun güçlü bir inhibitörüdür. CaOx kristallerinin organik matrisi UPTF1 içerir ve kan pıhtılaşma faktörünün ürolitiazis ile olan rolünü açıklamada kanıtlar sağlar. UPTF1, CaOx kristal agregasyonunun ve kristallerin renal hücrelere yapışmasının önemli bir inhibitörüdür (Basavaraj ve ark., 2011).

Tamm-Horsfall proteini (THF), Henle kulbunun çıkan kolonunda sentezlenen bir glikoproteindir. THP normal memelilerin idrarındaki en çok bulunan proteindir. THP, nefropati, ürolitiazis ve tübülo-interstisyel nefrit patogeneğinde rol oynayabilir (Basavaraj ve ark., 2011). THP fonksiyonu idrar pH'sı ve konsantrasyonuna bağlıdır. İdrar pH'sı düşük ve konsantrasyonu yüksek olduğunda THP'nin kristallerin agregasyonunu uyardığı düşünülmektedir. Tersine konsantrasyonu düşük, alkali idrarda ise THP kristal agregasyon ve büyümede inhibitör etkiye sahiptir (Narter ve Sarıca, 2013). Yapılan çalışmalarda, bu maddenin kristal agregasyonunu ve/veya taş oluşumunu artırıcı etkiye sahip moleküllerin inhibitörü olarak rol oynadığı gösterilmiştir. THP'nin kalsiyum oksalat kristallerini kaplayarak böbrek epitelyumuna yapışmasını önlediği düşünülmektedir (Ratkalkar ve Kleinman, 2011)

4.3. Etilen Glikol ve Üriner Sistem Taş Modeli

Etilen glikol (EG) renksiz, kokusuz ve çözülebilir kimyasal bir madde olup özellikle otomobil antifrizi ve endüstriyel çözücü olarak kullanılır. EG içeren solüsyonların yutulması ciddi morbidite ve mortaliteye yol açmaktadır (Seo ve ark., 2012).

Etilen glikol kendi başına düşük bir toksisiteye sahiptir, ancak karaciğerde metabolizasyon sonrası toksik ürünleri açığa çıkar. Etilen glikol, karaciğerde bulunan alkol dehidrojenaz enzimi tarafından glikolaldehit, glikolik asit, gliksilik asit ve oksalik asit olmak üzere dört organik aside dönüşür (Şekil 5). Etilen glikol metabolizmasında hız sınırlayıcı basamak glikolik asidin gliksilik aside dönüşümüdür. Bu, kanda glikolik asit birikimi ile sonuçlanır (Leth ve Gregerse, 2005). Zehirlenme ve metabolik asidoz semptomları, etilen glikol alımından 12-48 saat sonra ortaya çıkar, esasen glikolik asitten kaynaklanır. Glikolik asitten, gliksilik asit ve oksilik asit oluşumu uzun zaman alır ve buna bağlı olarak metabolik asidoz ağırlaşır ve kardiyopulmoner disfonksiyon oluşabilir. Son ürün olan oksilik asit, beyin, böbrek, perikard, karaciğer ve kan damarlarında biriken ve doku hasarına neden olan COM kristallerini oluşturmak üzere kalsiyum ile reaksiyona girer. Bu doku hasarı çoğunlukla geri dönüşümlüdür, ancak bazı durumlarda hasar kalıcı bozulmalara neden olur (Seo ve ark., 2012).



Resim 4. Etilen glikol metabolizması

4.4. *Myrtus communis* – Mersin Bitkisi

Myrtus communis bitkisi (Resim 6) 145 cins ve 5500'den fazla tür içeren Myrtaceae familyasına aittir. Gerçek mersin olarak bilinen *M. communis* L., bu aileden gelen önemli aromatik ve şifalı türlerden biridir (Aleksic ve Knezevic, 2014).



Resim 5. *Myrtus communis*- mersin bitkisi

Myrtus communis bitkisinin çam ormanlarında ve nehir kenarlarında, özellikle deniz seviyesinden 500-600 metre yükseklikte Toros Dağları'nda yetiştiği bilinmektedir. Türkiye genelinde “Mersin” adıyla bilinmesine karşın özellikle Güney sahillerinde “murt”, “hambeles” ve “adi mersin” olarak da bilinmekte ve bazı yerlerde ise yaprağına “bahar” adı verilmektedir (Dönmez ve Salman, 2017). Mersin, tipik Akdeniz florasının ortak bir parçasıdır. Bitki, kuzeybatıdan doğu Akdeniz'e, batı Asya ve aynı zamanda Ege bölgeleri de dahil olmak üzere bolca yetişmektedir. Mersin, Güney Avrupa, Kuzey Afrika ve Batı Asya'ya özgüdür. Güney Amerika, kuzeybatı Himalaya ve Avustralyaya da yayılmıştır (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Myrtus communis, 1,8–2,4 m yüksekliğinde, küçük yapraklı ve derin çatlaklı, yaprak dökmeyen çalı veya küçük ağaç şeklindedir. Yaprakları 3–5 cm uzunluğundadır ve tanenler, flavonoidler ve uçucu yağlar içerir. *Myrtus* türlerinin uçucu yağlar, fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, antosiyanin pigmentleri, yağ asitleri açısından oldukça zengin olduğu bildirilmiştir (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Mersin yağının en önemli bileşenleri yapraklarda bulunan myrtenol, myrtenol asetat, limenojen, linalol, pinen ve 1,8-sineole (Hosseinzadeh ve ark., 2011). Bu bitkinin kurutulmuş yaprakları 1,8-cineole (%13,5-19,6), linalool (%7,7-15,8), linalil asetat (%2,5-6), terpineole, terpinolen, tanenler ve flavonoid bileşikleri içerir. Yaprak ve çiçekler uçucu yağlar, fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler içerir. Meyveler tanenler, antosiyaninler (%0,2-54), yağlı ve organik asitlerden (%9-52) zengin olup verimi kullanılan ekstraksiyon çözücüsü ve / veya olgunlaşma dönemine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Mersin otu, eskiden beri baharat olarak kullanıldığı gibi, tıbbi ve gıda hazırlama amaçlı da kullanılmaktadır. Mersin, bir baharat olarak hoş kokusuna rağmen acı tadından dolayı geniş bir uygulama alanı bulmaz. Tadı çok yoğun, kuvvetli acıdır, bu nedenle mutfak uygulaması Akdeniz ülkelerinde özellikle İtalya ve Portekizde sınırlıdır. İtalya'da, özellikle Sardinya adasında meyveleri ve yaprakları iki iyi bilinen likör üretiminde kullanılır (sırasıyla Mirto Rosso ve Mirto Bianco). Mersin dumanı ile tatlandırılmış gıdalar, İtalya veya Sardinya'nın kırsal bölgelerinde yaygındır. Bununla birlikte, bitkinin bazı kısımları gıda endüstrisinde, et ve sosların tatlandırılmasında kullanılmaktadır. Yaprakları çok kokulu olup, özellikle Portekiz ve Türkiye'de parfüm ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Geleneksel olarak antiseptik, dezenfektan ve hipoglisemik ajan olarak kullanılır. Türkiye'de mersin yaprakları da köylerde antiseptik amaçla kullanılmaktadır. Benzer şekilde İtalya'da geleneksel halk ilacı olarak bu bitkinin meyvesi, ishal ve dizanteri dahil olmak üzere birçok enfeksiyöz hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Yapraklar, kandidiyaz tedavisi için antiseptik ve antiinflamatuvar madde ve ağız gargarası olarak kullanılır. Mersin yapraklarından elde edilen uçucu yağ, akciğer bozukluklarının tedavisinde de kullanılmıştır (Aleksic ve Knezevic, 2014).

Geleneksel tıpta antikanser amaçlı mersin kullanımı hakkında da bazı bilgiler vardır. Mersin bitkisinin antikanser özellikleri daha önce birçok çalışmada araştırılmış ve bu çalışmalarda etkiden sorumlu aktif bileşenin myrtucommulone olduğu bulunmuştur. Myrtucommulone mersin yapraklarında bulunan antioksidan, antibakteriyel,

antiinflamatuvar, antidiyabetik ve antikanser özelliklerine sahip önemli bir bileşendir (Ogur, 2014).

Mersin bitkisinin farklı kısımları geleneksel olarak çeşitli spesifik uygulamalara sahiptir. Yapraklardan ve genç dallardan yapılan infüzyonlar, uyarıcı, antiseptik, büzücü ve hipoglisemik olarak kabul edilir ve astım, egzama, sedef hastalığı, diyare, gastrointestinal bozukluklar ve idrar yolu enfeksiyonları için bir sağlık çaresi olarak kabul edilir. Yapraklardan kaynatma, vajinal yıkama, lavman ve solunum yolu hastalıklarına karşı kullanılırken; meyvelerden kaynatma antidiarreal, antihemorroidal ajanlar ve ağız ve göz hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır. Çiçekler geleneksel olarak varislere karşı kullanılır ve kılcal losyonların hazırlanması için kullanılır. Yapraklarının diğer kullanım alanları sığır yemleri, kesilmiş yapraklar ve saksı bitkileridir (Aleksic ve Knezevic, 2014).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

DeneySEL çalışmamız Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun "30.2017.mar" karar no'lu onayı (Ek 1) sonrasında başlamıştır.

Deney hayvanları M.Ü. Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DEHAMER) temin edildi. Yaklaşık 3 aylık erkek, 250-300 gr ağırlığında 32 adet Wistar albino sıçan randomize olarak eşit sayıda (n=8) dört gruba ayrıldı. Sıçanlar deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan, ısısı 20-22 °C ve nemi %45-50 olarak otomatik ayarlanan odalarda yaşatıldı. Bu süreçte tüm sıçanlar şeffaf kafeslerde tutuldu, standart sıçan yemi ile beslendi.

5.1. *Myrtus communis* bitki ekstresinin hazırlanması

Myrtus communis subsp. communis bitkisinin yaprakları gölgede kurutuldu. Toz edilen 100 gr materyal Soxhlet apareyinde etanolle ile tüketildi, süzöldü ve elde edilen ekstredeki çözücü, rotary evaporatörde 45 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta kuruluğa kadar uçuruldu ve analizlere kadar + 4°C' de bekletildi

5.2. Çalışma Grupları

Kontrol grubu (K): 8 hafta boyunca normal içme suyu ile beslendi.

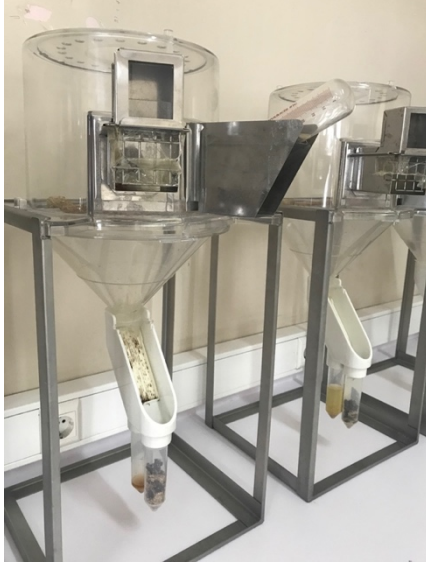
Etilen glikol (EG) grubu: 8 hafta boyunca %0,75 EG içeren içme suyu verildi.

***Myrtus communis* koruyucu tedavili grup (MC+EG+MC):** 8 hafta boyunca %0,75 EG içeren içme suyu verilen hayvanlara EG ile eşit zamanlı olarak 8 hafta boyunca 100 mg/kg dozunda *myrtus communis* ekstresi uygulandı.

***Myrtus communis* tedavili grup (EG+MC):** 8 hafta boyunca %0,75 EG içeren içme suyu verilen hayvanlara 4. haftanın sonundan itibaren 4 hafta boyunca 100 mg/kg dozunda *myrtus communis* ekstresi uygulandı.

Çalışma sonunda hayvanlar metabolik kafeslere alınarak 24 saatlik idrar örnekleri toplandı (Resim 6). Bu aşamadan sonra eter anestezisi altında intrakardiyak kan örnekleri alınan hayvanlar dekapite edildi ve böbrek dokuları alınarak histolojik ve

biyokimyasal olarak incelendi. İdrar örneklerinde kalsiyum, oksalat, sitrat ve kreatinin tayinleri ticari kitler ile yapıldı.



Resim 6. Metabolik kafeslerde 24 saatlik idrar toplanması

5.3. Biyokimyasal İncelemeler

5.3.1. İdrarda kalsiyum, sitrat, oksalat ve kreatinin değerlerinin ölçümü

Sıçanların 24 saatlik idrar örnekleri toplandı. QuantiChrom™ Calcium Assay ticari kit kullanılarak kalsiyum, EnzyChrom™ Oxalate Assay Kit kullanılarak oksalat, EnzyChrom™ Citrate Assay Kit kullanılarak sitrat ve Rat Creatinine, Cr ELISA Kit kullanılarak kreatinin tayinleri kit prosedürlerine uygun olarak yapıldı.

5.3.2. Oksidatif DNA hasarı ölçümü

Dokularda oksidatif DNA hasarı, 8-Hydroxy-deoxyguanosine (8-OHdG) düzeyleri ölçülerek belirlendi. Bu ölçümler ELISA Kit kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak yapıldı. Sonuçlar 8-OHdG ng/mg DNA olarak ifade edildi.

5.3.3. Miyeloperoksidaz Aktivitesi Tayini

Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi Hillegass ve ark.'nın yöntemine göre yapıldı (Hillegass, 1990). Tayin için gerekli 50 mM K₂HPO₄ (pH: 6) çözeltisi, %0,5'lik HETAB (Hekzadesiltrimetil-amonyum bromid), o-dianisidin-2 HCl, %2'lik Sodyum azid, 20 mM H₂O₂ (Hidrojen Peroksit) çözeltileri hazırlandı.

Doku homojenatları 10 dakika santrifüj edildikten sonra üst faz atıldı. Çökeltiye 3 ml % 0,5' lik HETAB eklenerek homojenize edildi, 3 kez donduruldu, çözündürülüp sonike edildikten sonra santrifüj edilerek üst faz ile çalışıldı.

Tablo 4. Miyeloperoksidaz enzim aktivitesi tayini için kullanılan tüp örnekleri

	Kör	Numune
50 mM K ₂ HPO ₄	2.9 ml	2.9 ml
20 mM H ₂ O ₂	0.2 ml	0.2 ml
o-dianisidin-2 HCl	0.2 ml	0.2 ml
50 mM K ₂ HPO ₄	0.3 ml	--
Üst faz	--	0.3 ml

Tablo 4'te yer alan şekilde örnek tüpler hazırlandıktan sonra 37°C inkube edildi ve daha sonra reaksiyon %2 lik Sodyum azid ile durduruldu. 3000 devir/dakikada 10 dakika

santrifüj edildi. Üst faz alınarak oluşan rengin absorbanası spektrofotometrede 460 nm de okundu. MPO için hesaplanmış ekstinksiyon katsayısı $42M^{-1}cm^{-1}$ kullanılarak sonuçlar U/g protein cinsinden hesaplandı.

5.3.4. Kaspaz-3 aktivite tayini

Doku homojenatı (50 mM HEPES, 100 mM NaCl, 0,1% CHAPS, 1 mM DTT, 100 mM EDTA, pH:7,4) eklenerek ultrasonik homojenizatör ile 15 saniye %70 amplitüd kullanılarak buz içerisinde patlatıldı. 14.000xg de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant alınarak kaspaz-3 ölçümü için kullanıldı.

Kaspaz-3 aktivite düzeyleri ticari kitler (Caspase 3 ELISA Kit 96T) kullanılarak tayin edildi. Ölçüm prensibi kaspaz-3 substratı olan N-Asetil-Asp-Glu-Val-Asp p-nitroanilid'den (Ac-DEVD-pNA) kromofor p-nitroanilin (pNA) oluşmasının spektrofotometrik olarak ölçüm esasına dayandırıldı. Serbestleşen pNA'nın absorbanası ELISA okuyucusunda 405 nm'de okunarak bulundu.

5.3.5. Osteopontin düzeylerinin ölçülmesi

Dokularda osteopontin düzeylerinin ölçümü, OPN ELISA Kit kullanılarak prosedürüne uygun olarak yapıldı. Sonuçlar ng/g olarak ifade edildi.

5.3.6. N-asetil-β-glukozaminidaz enzim aktivitesi ölçümü

N-asetil-β-glukozaminidaz (NAG) enzim aktivitesi, ticari kit NAG ELISA Kit kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

5.4. Histolojik İncelemeler

Doku örnekleri %10'luk formole alındıktan sonra yükselen alkol serilerinden geçirilerek (%70-90-96-100) dehidrate edildi. Sonrasında toluende şeffaflaştırılarak parafin içine gömülüp bloklandı. Bloklardan alınmış olan 5 mikrometre kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen-Eosin boyası uygulandı ve tüm kesitler Olympus BX51 ışık mikroskopi ile incelendi.

5.5. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analiz Graphpad Prism 5.0 (Graphpad Yazılım, San Diego, Ca, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Biyokimyasal veri grupları Tukey çoklu karşılaştırma testleri ardından varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırılmış olup istatistiksel olarak $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. İdrar Analiz Sonuçları

Deney sonunda tüm grupların 24 saatlik idrar numunelerinde ölçülen kalsiyum, oksalat, sitrat ve kreatinin düzeyleri Tablo 5’te yer almaktadır.

Kalsiyum ve sitrat EG grubunda anlamlı ($p<0,001$) olarak azalırken her iki tedavi grubunda da artmış olarak bulundu. Sitrat ise EG grubunda anlamlı ($p<0,001$) olarak azalmış ve koruyucu tedavili grupta anlamlı ($p<0,05$) olarak artmış bulundu. EG+MC tedavi grubunda ise sitrat düzeyinin kontrol grubuna göre hala anlamlı ($p<0,01$) olarak düşük olduğu görüldü (Şekil 2).

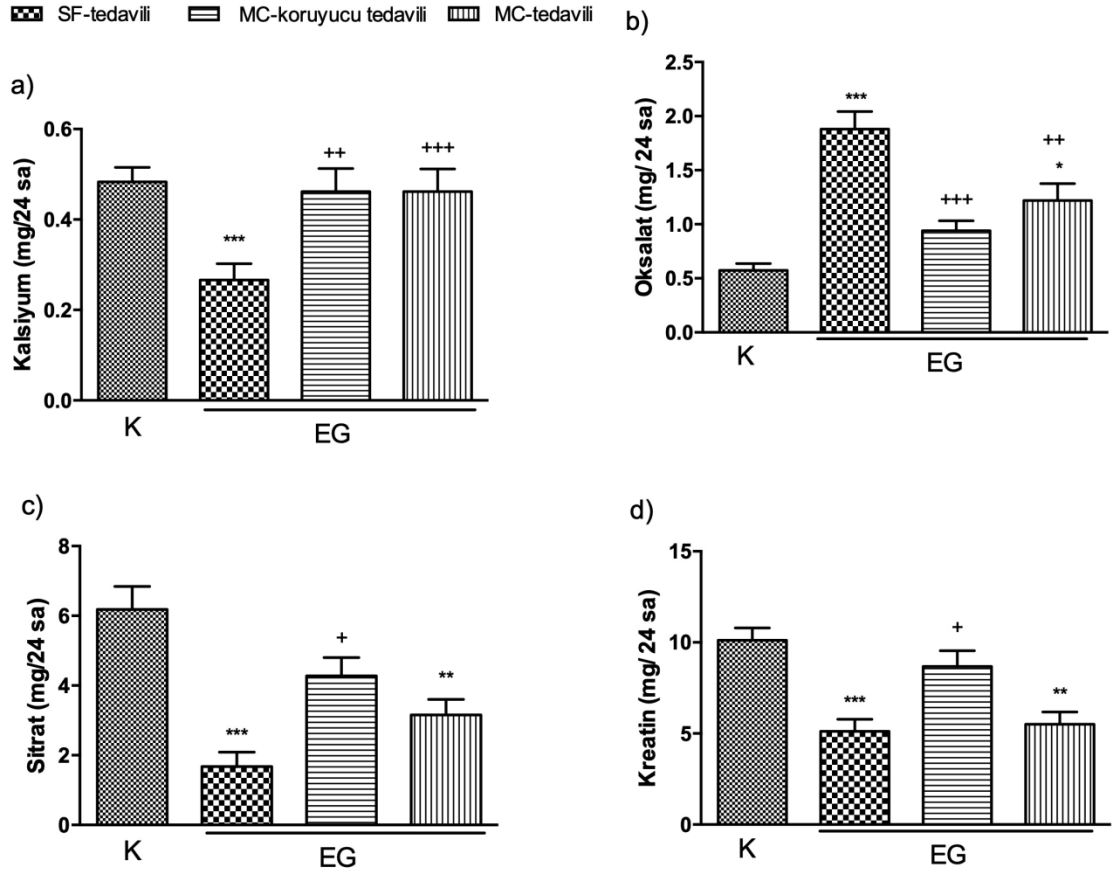
Kreatinin değerleri incelendiğinde, EG grubunda kreatinin idrar ile atılımının anlamlı ($p<0,001$) olarak azaldığı ve koruyucu tedavi grubunda ise anlamlı ($p<0,05$) olarak arttığı belirlendi. Diğer tedavi grubu olan EG+MC grubunda ise kreatinin idrar düzeyleri EG grubuna benzer şekilde diğer bir deyişle kontrole göre anlamlı ($p<0,01$) olarak düşük bulundu (Şekil 2).

İdrar örneklerindeki oksalat düzeylerine bakıldığında, oksalat düzeylerinin EG grubunda anlamlı ($p<0,001$) olarak arttığı, her iki tedavi grubunda ise anlamlı ($p<0,001$, $p<0,01$) olarak azaldığı görüldü (Şekil 2).

Tablo 5. 24 saatlik idrar örneklerinde kalsiyum, oksalat, sitrat ve kreatinin düzeyleri

(mg/24 saat)	Kontrol	EG	MC+EG+MC	EG+MC
Kalsiyum	0,48 ± 0,03	0,24 ± 0,03 ***	0,46 ± 0,05 ++	0,46 ± 0,05 +++
Oksalat	0,57 ± 0,06	1,88 ± 0,16 ***	0,94 ± 0,09 +++	1,22 ± 0,15 *,++
Sitrat	6,18 ± 0,66	1,68 ± 0,42 ***	4,27 ± 0,53 +	3,16 ± 0,45 **
Kreatinin	10,11 ± 0,67	5,12 ± 0,67 ***	8,68 ± 0,87 +	5,51 ± 0,67 **

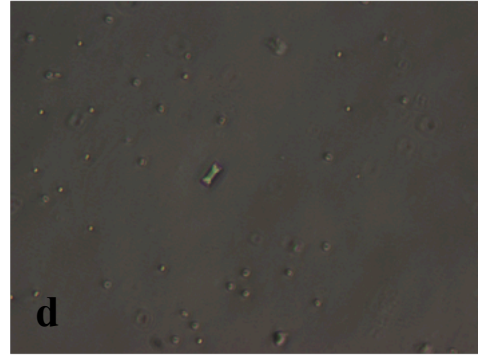
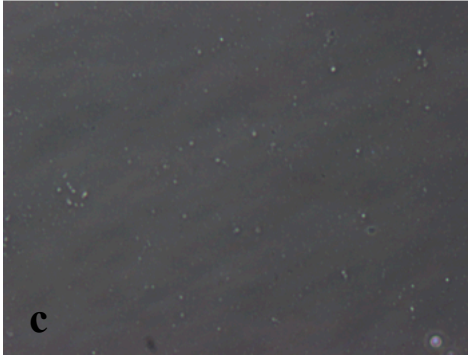
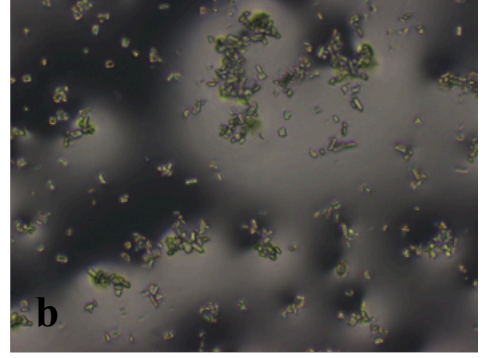
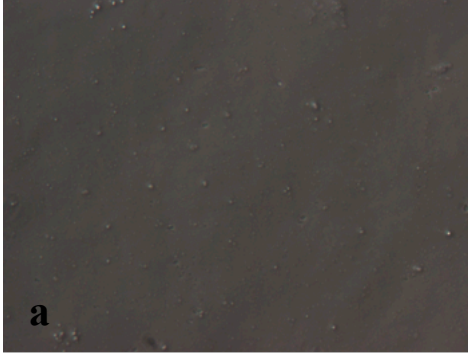
* $p<0,05$, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$, ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$: EG grubuna göre.



Şekil 2. İdrarda ölçülen kalsiyum, sitrat, oksalat ve kreatinin değerleri

⁺p<0,05, ⁺⁺ p<0,01, ⁺⁺⁺ p<0,001: EG grubuna göre.

İdrar örneklerine invert mikroskopide kalsiyum oksalat kristalleri incelendiğinde EG grubunda (Resim 6b) taş yoğunluğunun en fazla olduğu buna karşılık myrtus communis koruyucu tedavili (Resim 6c) ve tedavili gruplarda (Resim 6d) taş yoğunluğunun azaldığı görüldü. Deney grupları içerisinde, myrtus communis koruyucu tedavili grubunun, 4 hafta EG'den sonra uygulanan myrtus communis tedavili gruba göre daha az kristal gösterdiği görüldü.



Resim 6. İdrar örneklerinde invert mikroskopi ile taşların görünümü

(a: Kontrol grubu, b: EG grubu, C: Koruyucu tedavili MC grubu, d: MC tedavili grup)

6.2. Böbrek Dokusunda Biyokimyasal Parametrelere Ait Bulgular

Böbrek doku örneklerinde incelenen biyokimyasal parametrelere ait sonuçlar Tablo 6'da yer almaktadır.

Tablo 6. Böbrek doku örneklerinde Miyeloperoksidaz (MPO), kaspaz-3 aktivitesi, oksidatif DNA hasarı (8-OHdG), N-asetil- β -glukozaminidaz (NAG) enzim aktivitesi ve osteopontin (OPN) bulguları

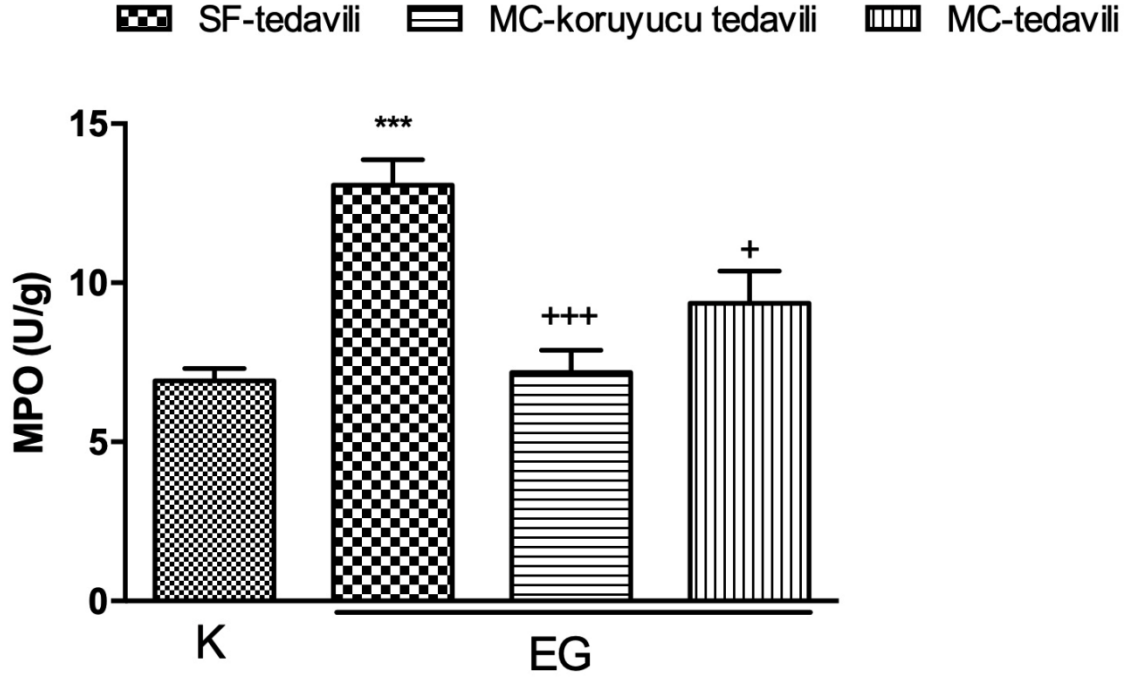
	Kontrol	EG	MC+EG+MC	EG+MC
MPO (U/g protein)	6,92 \pm 0,39	13,07 \pm 0,80 ***	7,18 \pm 0,70 +++	9,36 \pm 1,01 +
Kaspaz-3 Aktivitesi (nmolpNA/mg prot)	9,47 \pm 0,47	18,86 \pm 1,62 ***	9,05 \pm 1,08 +++	12,15 \pm 0,55 ++
8-OHdG (ng/mg DNA)	2,35 \pm 0,28	7,07 \pm 0,48 ***	4,45 \pm 0,44 **,+++	5,45 \pm 0,25 ***,+
NAG (U/ mg protein)	0,46 \pm 0,06	0,87 \pm 0,06 ***	0,32 \pm 0,03 +++	0,35 \pm 0,02 +++
Osteopontin (ng/g protein)	1,64 \pm 0,12	2,82 \pm 0,09 ***	2,24 \pm 0,15 *,+	2,73 \pm 0,16 ***

*p<0,05, *** p<0,001: Kontrol grubuna göre.

+p<0,05, ++ p<0,01, +++ p<0,001: EG grubuna göre.

6.2.1. Miyeloperoksidaz aktivitesi sonuçları

Dokuda nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan MPO aktivitesi EG grubunda anlamlı ($p<0,001$) olarak artarken, myrtus communis koruyucu tedavili ve tedavili gruplarda anlamlı ($p<0,001$, $p<0,05$) olarak azaldı ve kontrol değerlere yaklaştı (Şekil 3).

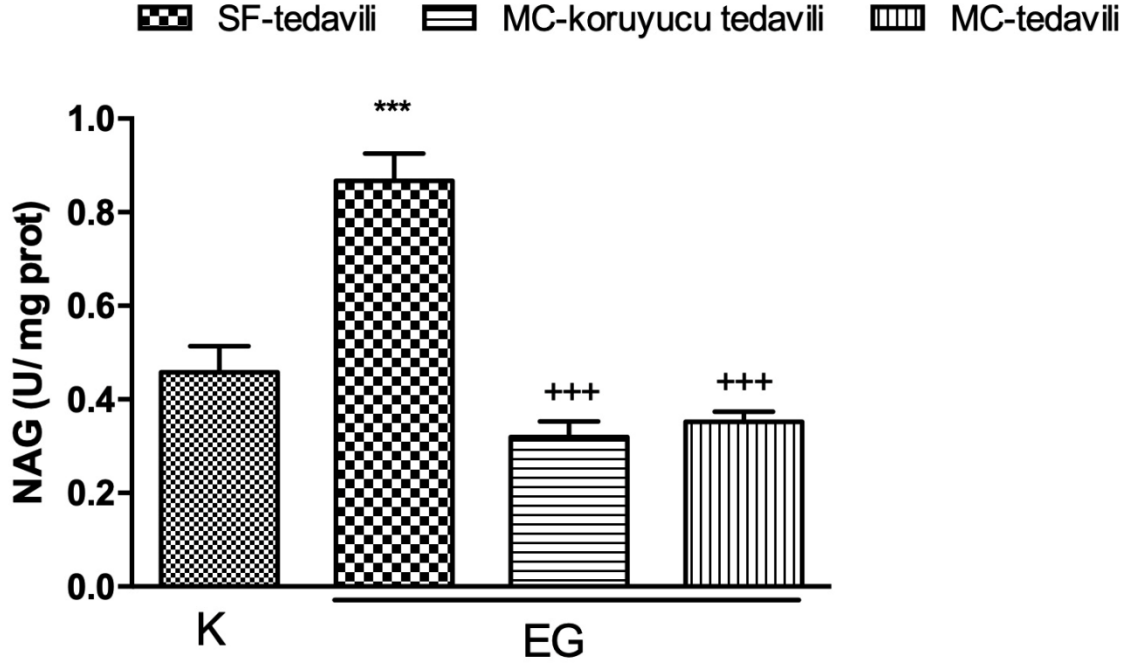


Şekil 3. Böbrek doku örneklerinde miyeloperoksidaz (MPO) bulguları

*** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$, +++ $p<0,001$: EG grubuna göre.

6.2.2. Dokuda N-asetil- β -glukozaminidaz enzim aktivitesi sonuçları

Böbrek hasarının göstergesi olan NAG aktivitesi EG grubunda anlamlı ($p < 0,001$) olarak arttı. Gerek MC koruyucu tedavili grupta gerekse MC tedavili grupta NAG aktivitesi EG grubuna göre anlamlı ($p < 0,001$) azalmaya neden oldu (Şekil 4).

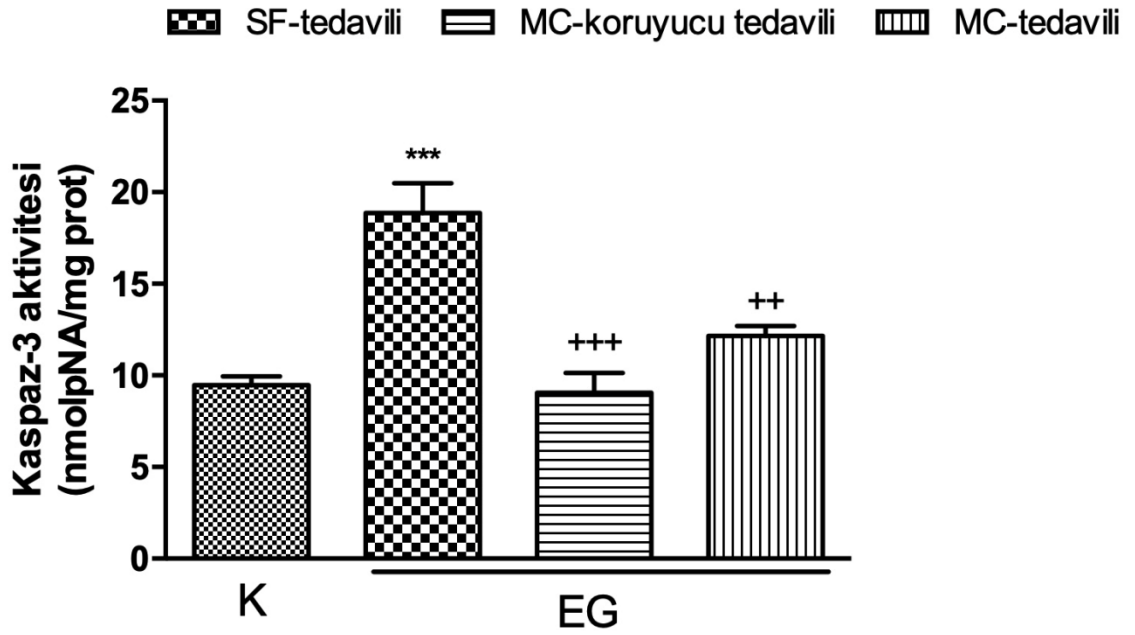


Şekil 4. Böbrek doku örneklerinde N-Asetil- β -Glukosaminidaz (NAG) aktivitesi bulguları

*** $p < 0,001$: Kontrol grubuna göre., +++ $p < 0,001$: EG grubuna göre.

6.2.3. Kaspaz-3 aktivitesi sonuçları

Apoptozun uyarılmasında önemli bir role sahip olan kaspaz-3 enzimi EG grubunda anlamlı ($p<0,001$) olarak arttı. Gerek koruyucu tedavili myrtus communis gerekse tedavili myrtus communis grupta kaspaz-3 aktivitesi anlamlı ($p<0,01$, $p<0,001$) olarak azalmaya neden oldu ve kontrol grubu değerine yaklaştı (Şekil 5).

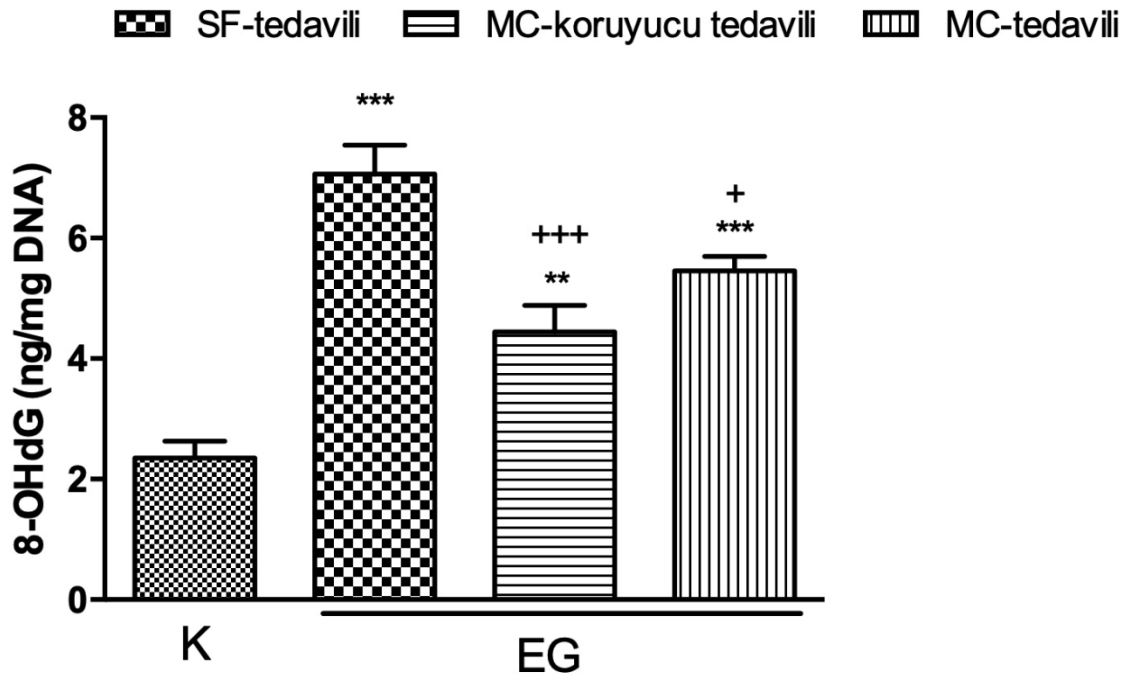


Şekil 5. Böbrek doku örneklerinde kaspaz-3 aktivitesi bulguları

*** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre, ++ $p<0,01$, +++ $p<0,001$: EG grubuna göre.

6.2.4. Oksidatif DNA hasarı sonuçları

Etilen glikol uygulaması ile oluşan oksidatif hasar, böbrek dokusunda oksidatif DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG düzeyleri anlamlı ($p<0,001$) olarak arttı. Koruyucu MC uygulaması bu artışları anlamlı ($p<0,01$) olarak baskıladı. EG+MC grubunda bu parametrelerde anlamlı ($p<0,01$) olarak düşüş bulundu ancak kontrol grubuna göre yine de yüksek kaldı (Şekil 6).

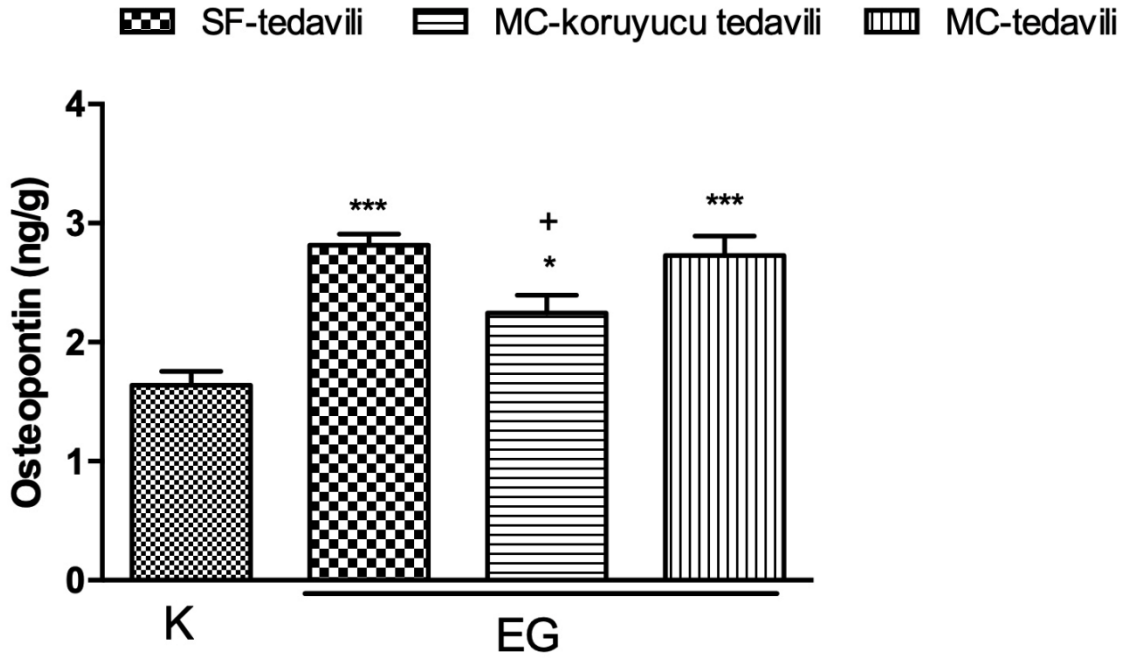


Şekil 6. Böbrek doku örneklerinde oksidatif DNA (8-OHdG) hasarı bulguları

** $p<0,01$, *** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$, +++ $p<0,001$: EG grubuna göre.

6.2.5. Böbrek dokularında osteopontin düzeyleri

Çalışmamızda, dokuda osteopontin düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında EG grubunda ve myrtus communis tedavi grubunda ekspresyonun kontrole göre anlamlı ($p<0,001$) olarak arttığı, myrtus communis koruyucu tedavi grubunda ise bu artış anlamlı ($p<0,05$) olarak azaldığı görülmüştür (Şekil 7).

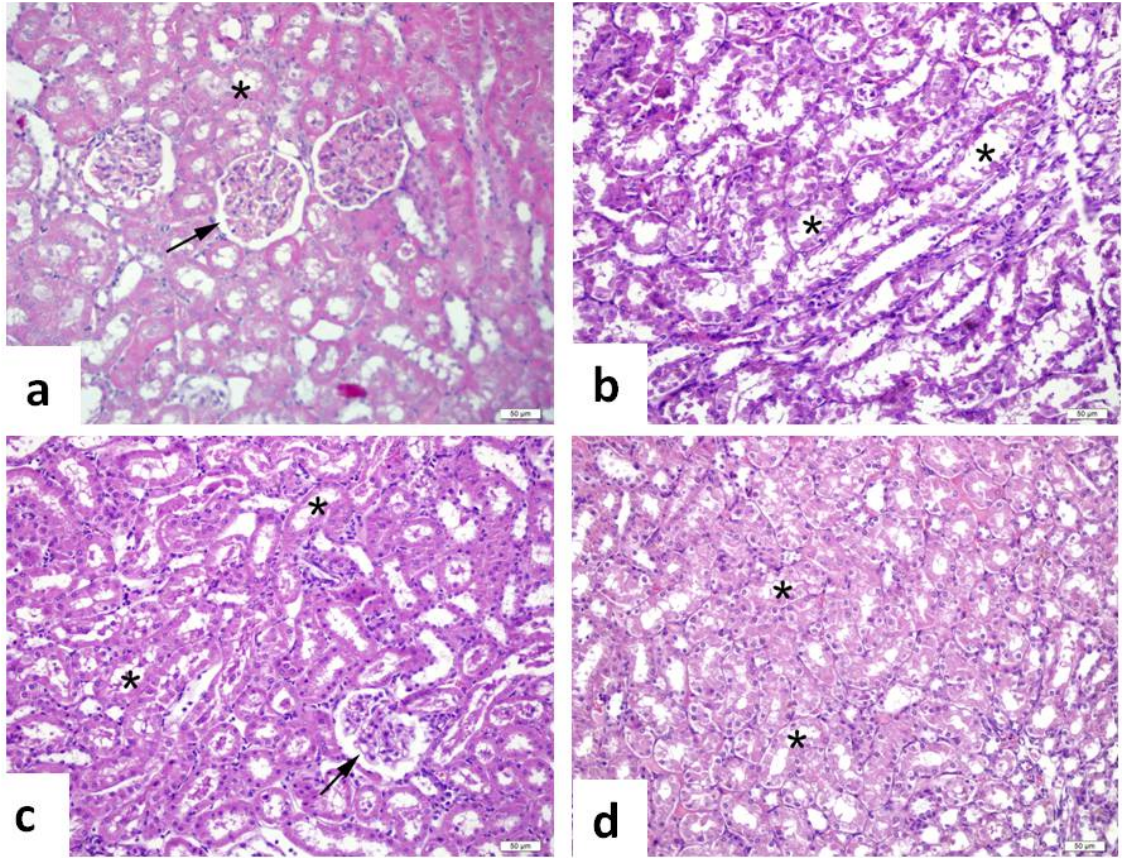


Şekil 7. Böbrek doku örneklerinde osteopontin (OPN) düzeyleri

* $p<0,05$, *** $p<0,001$: Kontrol grubuna göre, + $p<0,05$: EG grubuna göre.

6.3. Histolojik Bulgular

Yapılan incelemelerde kontrol grubunda glomerüller ve tübüller düzgün morfolojiye sahipti (Resim 7a). Etilen glikol uygulaması tübüllerde bazal membran kalınlaşmasına ve tübül hücrelerinin parçalanmasına böylece ciddi dejenerasyona neden oldu (Resim 7b). Koruyucu tedavi uygulamalı MC grubunda da bazal membran kalınlaşmasının olmadığı ve tübül hücre parçalanmasının azaldığı gözlemlendi (Resim 7c). Tedavi uygulamalı MC grubunda bazal membran kalınlaşması gerilerken tübül hücrelerinin parçalanmasının azaldığı gözlemlendi (Resim 7d).



Resim 7. Hematoksilen ve eozin ile boyanmış böbrek dokularının histolojik incelenmesi, büyütme: x 200.

a) Kontrol grubu, düzgün glomerüller ve tübüller, b) EG grubu, tübüllerde bazal membran kalınlaşması, tübül hücrelerinin bozulması ve lümene dağılması ile ciddi dejenerasyon, c) Koruyucu tedavi uygulamalı MC grubu, gerileyen bazal membran kalınlaşması ve tübüller hücre parçalaması, d) Tedavi uygulamalı MC grubu, azalmış tübül hücrelerinin parçalanması ve bazal membranların kalınlaşması

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada etilen glikol ile oluşturulan deneysel taş hastalığı modelinde diüretik ve antioksidan özellikleri bulunan myrtus communis bitkisinin taş oluşumu üzerindeki tedavi edici ve böbrekteki koruyucu etkileri incelenmiştir.

Amin ve ark. yaptığı bir çalışmada, EG ile oluşturulan taş hastalığı modelinde idrar sitrat atılımı azalırken, crocus sativus (safran) ekstresinin 100 mg/kg dozunda profilaktik uygulamasının sonucunda 30. günde sitrat seviyelerindeki düşüşü önemli ölçüde önlediği bildirilmiştir. Düşük sitrat seviyesi böbreklerde taş oluşumu için önemli bir risk faktörüdür (Zuckerman ve Assimos, 2009). Çalışmamızın sonunda idrarda taş oluşumunun inhibitörü olan sitrat düzeylerinin EG grubunda azaldığı, MC bitkisinin koruyucu amaçla uygulaması yapılan sıçanlarda ise arttığı görülmüştür. MC tedavili grupta ise sitrat düzeylerinin kontrole göre azalmış bulunmasından dolayı, börek taş oluşumunun engellenmesinde koruyucu tedavinin daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Hadjzadeh ve ark. yaptığı çalışmada EG ile oluşturulan taş hastalığı modelinde idrar oksalat konsantrasyonunun 14. ve 30. günlerde EG grubunda anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada taş oluşumuna karşı tedavi amacıyla uygulanan nigella sativa (çörek otu) bitki ekstresinin, idrar oksalat konsantrasyonunun anlamlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Hadjzadeh ve ark., 2007). İlbey ve ark. yaptığı çalışmada ise, EG uygulanan grubun 24 saatlik idrar oksalat düzeyinin, kontrol ile orta ve yüksek doz nar suyu uygulanan gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur (İlbey ve ark. 209). Bizim çalışmamızda da buna benzer olarak EG grubunda idrar oksalat düzeyleri artmış bulunurken gerek myrtus communis koruyucu tedavili gerekse myrtus communis tedavili gruplarda anlamlı olarak azaldığı görülmüştür.

Çalışmamızda kalsiyum EG grubunda anlamlı olarak azalırken her iki tedavi grubunda da artmış olarak bulundu. Kreatinin değerleri incelendiğinde ise, EG grubunda kreatinin idrar ile atılımının anlamlı olarak azaldığı ve koruyucu tedavi grubunda ise anlamlı olarak arttığı belirlendi. Diğer tedavi grubu olan EG+MC grubunda ise kreatinin idrar

düzeyleri EG grubuna benzer şekilde diğer bir deyişle kontrole göre anlamlı olarak düşük bulundu

İdrar örneklerine invert mikroskopide kalsiyum oksalat kristalleri incelendiğinde EG grubunda taş yoğunluğunun en fazla olduğu buna karşılık myrtus communis koruyucu tedavili ve tedavili gruplarda taş yoğunluğunun azaldığı görülmüştür. Deney grupları içerisinde, myrtus communis koruyucu tedavili grubunun (MC+EG+MC), 4 hafta EG'den sonra uygulanan myrtus communis tedavili gruba göre daha az kristal gösterdiği görülmüştür.

Histolojik incelemelerde kontrol grubunda glomerüller ve tübüller düzgün morfolojiye sahip iken etilen glikol uygulaması sonucu tübüllerde bazal membran kalınlaşması, tübül hücrelerinin bozulması ve lümeneye dağılması ile ciddi dejenerasyon meydana gelmiştir. Tedavi uygulamalı MC grubunda bazal membran kalınlaşması gerilerken tübül hücrelerinin parçalanmasının azaldığı, koruyucu tedavi uygulamalı MC grubunda da bazal membran kalınlaşmasının olmadığı ve tedavi grubunda olduğu gibi tübül hücre parçalanmasının azaldığı gözlenmiştir.

Etilen glikol (EG) uygulaması sık kullanılan bir nefrolitiazis modelidir: Etilen glikol hem idrar hem de böbreklerdeki COM kristallerine yol açan gliksilat, gliksilat ve oksalata metabolize olur. Bu modeli oluşturmak amacı ile sıçanlara %0,75'lik EG solüsyonunu içeren içme suyu uygulanır. Etilen glikolün tek başına verilmesi ile oluşan kronik hiperoksalüri, şiddetli kristalüriye yol açarak hayvanda CaOx nefrolitiazisini geliştirir. Bu oluşum sırasında kalsifikasyonu inhibe eden veya destekleyen osteopontin (OPN), bikunin ve Tamm-Horsfall proteini (THP) gibi çeşitli makromoleküllerin de arttığı bildirilmiştir (Bilbault ve Haymann, 2016; Çakır ve ark., 2014).

Osteopontin kemik ve böbreklerde yüksek seviyede olmak üzere makrofajlar, T hücreleri, düz kas hücreleri ve endotel hücrelerinde de sentezlenir. İnsan dokularında yaygın olarak dağılmış olan OPN, kemik matrisinde bol miktarda, gastrointestinal kanal, safra kesesi, pankreas, idrar yolları, akciğer, göğüs, tükürük bezleri, ter bezleri, böbrek ve epitelyal hücreler ile idrar ve süt gibi vücut sıvılarında bulunur. OPN çeşitli hücre tiplerinde hücre yapışmasını, kemotaksiyi ve sinyal iletimini teşvik etmektedir. OPN'nin inflamatuvar glomerülonefrit, obstrüktif üropati ve tübül interstisyel hastalığı ile ilişkili

renal hasarda rol oynadığı düşünülmektedir (Xi ve ark., 2001; Pei ve ark., 2016). OPN hem fizyolojik hem de patolojik mineralizasyonda yer alır. Böbrekte sentezlenen osteopontin idrara sekrete edilir. Osteopontin CaOx kristallerini COD fazına yönlendirir. COD kristalleri böbrek epitel hücrelerine kalsiyum oksalat monohidrat (COM) kristallerine göre belirgin olarak daha az tutunurlar (Yaman, 2011). Üriner sistem taş karşı savunma mekanizmalarından biri olan osteopontinin yapılan çalışmalarda, CaOx kristallerinin çekirdeklemesini, büyümesini ve böbrek epitel hücrelerine tutunmasını güçlü bir şekilde inhibe ettiği gösterilmiştir. Sıçanlarda glikoksilik asit tarafından indüklenen nefrolitiazis modellerinde, OPN'nin distal tübül hücrelerde mRNA ve protein ekspresyonunu belirgin bir şekilde artırdığı gösterilmiştir. OPN proksimal tübüller, distal tübüller, Henle kulbu, toplayıcı kanallar ve papiller yüzey epitelyumu dahil olmak üzere renal tübüllerin tüm segmentlerinde artmıştır. Bu sonuçlar OPN'nin renal taşlarla ilişkili olduğunu düşündürmektedir (Xi ve ark., 2001). Şener ve ark. yaptığı çalışmada EG ile oluşturulan taş hastalığı modelinde osteopontin gen ekspresyonunun EG grubunda anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada taş oluşumuna karşı uygulanan antioksidan melatonin tedavisi ise artan ekspresyonu geri çevirerek kontrole yakın değerlere düşürmüştür. (Sener ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde EG taş modeline uyumlu olarak dokuda osteopontin düzeyleri artmış bulundu. Buna karşılık koruyucu tedavi amacı ile uygulanan MC grubunda ekspresyonun azaldığı ve kontrole yaklaştığı bulundu.

Myeloperoksidaz (MPO), dolaşımında nötrofiller, monositler ve mikroglia dahil olmak üzere bazı doku makrofajlarında bulunmakla birlikte insanların antimikrobiyal ve antiviral sisteminde önemli bir rol oynar. Patojenlerin fagositozu sırasında azurofilik granüller, içeriklerini MPO ile birlikte fagolizozomlara bırakırlar. İnflamatuvar doku hasarının büyük ölçüde MPO türevli oksidanlar tarafından yürüdüğü bilinmektedir (Pasti ve ark., 2015). Dokuda inflamasyonun ve nötrofil infiltrasyonunun göstergesi olan MPO aktivitesinin EG grubunda anlamlı olarak artması EG ile oluşan böbrek hasarında inflamasyonun rolünü göstermektedir. Diğer taraftan MC ile gerek koruyucu gerek taş oluşumundan sonra yapılan tedavilerin MPO aktivitesini anlamlı olarak azaltması bu ekstrenin antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri ile böbrek dokusunu koruduğunu düşündürmektedir.

Kaspazların bilinen 14 üyesi arasında, kaspaz 3, 6 ve 7 apoptotik hücrelerde saptanan başlıca kaspazlar olup, hücrelerin hayatta kalması ve çoğalması için gerekli olan hücre içi proteinleri parçalayıp inaktive ederek apoptozun oluşmasına aracılık ettiği kabul edilmektedir (Kaushal, 2003). Yang ve ark., Kaspaz-3 aktivitesinin apoptozisin en iyi göstergesi olduğunu, protein ve mRNA seviyeleri ile güçlü bir şekilde korele olduğunu göstermiştir (Yang ve ark., 2001). Oksidatif DNA hasarının bir göstergesi olan 8-hidroksdeoksiguanozin (8-OHdG) idrarla atılımı, nefrolitiazisli hastalarda sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksektir, bu da bu hastaların daha yüksek derecede oksidatif strese sahip olduklarını göstermektedir. Kittikowit ve ark. ile yapılan bir çalışmada, nefrolitiazisli hastaların renal biyopsilerinde ve COM 'a maruz kalan renal tübüler hücrelerde 8-OHdG ekspresyonunu yüksek olduğu, nefrolitiazisli hastalardan renal dokularda artmış lökosit infiltrasyonu gözlenmiştir (Kittikowit, 2014). Çalışmamızda etilen glikol uygulaması ile oluşan oksidatif hasar, böbrek dokusunda apoptozu uyararak kaspaz-3 aktivitesini ve oksidatif DNA hasarını (8-OHdG) anlamlı olarak artırmıştır. Myrtus communis koruyucu tedavili grupta bu artışlar anlamlı olarak baskılandı. Dört haftalık EG'den sonra uygulanan myrtus communis tedavi grubunda da bu parametrelerde düşüşe neden oldu ancak kontrol grubuna göre yine yüksek kalmıştır. Bu sonuçlar MC bitkisi ile gerek koruyucu gerekse tedavi edici uygulamasının apoptozisi önleyebileceğini ve koruyucu tedavinin bu anlamda daha etkili olabileceğini düşündürmüştür.

N-asetil- β -glukozaminidaz (NAG), proksimal tübüler hücrelerde bulunan lizozomal bir enzim olup, renal tübüler fonksiyonun bir göstergesidir. Proksimal tübüler hücreler, proteinüri, nefrolitiazis, hiperglisemi, interstisyel nefrit, transplant reddi veya nefrotoksik ilaçlar gibi herhangi bir hastalık sürecinin sonucu olarak zarar gördüğünde, idrar NAG seviyesi artar ve böylece proksimal tübüler hücre nekrozunun bir yansıması olarak kullanılır (<https://pacbio.com/biomarker/assay-detail/145/>, Erişim Tarihi: 19 Aralık 2018). Liangos ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada elde edilen sonuçlar, akut böbrek yetmezliği (ABY) saptanan hastalarda idrar NAG aktivitesinin ABY'nin şiddeti için yararlı varyanslar olduğunu, idrar çıkışı ve serum kreatinin düzeyi gibi geleneksel olarak kullanılan belirteçlerden daha iyi bir prognostik faydaya sahip olduğunu göstermektedir (Liangos ve ark., 2007). Şener ve ark. yaptığı çalışmada EG ile

oluşturulan taş hastalığı modelinde böbrek hasarının göstergesi olan NAG aktivitesinin EG grubunda anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada taş oluşumuna karşı uygulanan antioksidan melatonin tedavisi ise artan enzim aktivitesini kontrol grubuna göre yüksek kalmasına rağmen EG grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Sener ve ark., 2017). Bizim alışmamızda benzer şekilde NAG aktivitesi EG grubunda anlamlı olarak arttı. Gerek *myrtus communis* koruyucu tedavili grupta, gerekse *myrtus communis* tedavili grupta NAG aktivitesi EG grubuna göre anlamlı azalmaya neden oldu.

Çalışmamız, diüretik ve antioksidan özelliğe sahip olan MC bitkisinin özellikle profilaktik ve gerekse de tedavi edici amaçla uygulanması ile böbrek taşı oluşumunu azaltabileceğini ve taşa bağlı oluşacak hasarı engelleyebileceğini göstermiştir. *Myrtus communis* bitkisinin düşük yan etki profili de göz önüne alındığında taş hastalığı için riskli olan popülasyonlarda bu ajanın koruyucu amaçlı kullanımının alternatif bir yaklaşım oluşturması desteklenmelidir.

8. KAYNAKLAR

Abrol N, Kekre NS. Revisiting Randall's plaque. *African J Urol.* 2014;20:174-179.

Aggarwal KP, Narula S, Kakkar M, Tandon C. Nephrolithiasis: Molecular Mechanism of Renal Stone Formation and the Critical Role Played by Modulators. *Biomed Res Int.* 2013;13:21.

Aleksic V, Knezevic P. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiol Res.* 2014;169:240-54.

Alelign T, Petros B. Kidney Stone Disease. An Update on Current Concepts. *Adv Urol.* 2018; doi: 10.1155/2018/3068365.

Amin B, Feriz HM, Hariri AT, Meybodi NT, Hosseinzadeh H. Protective effects of the aqueous extract of *crocus sativus* against ethylene glycol induced nephrolithiasis in rats. *EXCLI Journal.* 2015;14:411-422.

Andrew P. Evan. Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract. *Pediatr Nephrol.* 2010; 25:831–841.

Basavaraj DR, Biyani CS, Browning AJ, Cartledge JJ. The Role of Urinary Kidney Stone Inhibitors and Promoters in the Pathogenesis of Calcium Containing Renal Stones. *IJRPC* 2011;1:2231-2781.

Bilbault H, Haymann JP. Experimental models of renal calcium stones in rodents. *World J Nephrol.* 2016;5:189-194.

Çakır ÖO, Yürük E, Binbay M. Üriner Sistem Taş Hastalığında Deneysel Modeller. *Endoüroloji Bülteni.* 2014;7:13-17.

Chung HJ. The role of Randall plaques on kidney stone formation. *Transl Androl Urol.* 2014;3:251-254.

Dardamanis M. Pathomechanisms of nephrolithiasis. *Hippokratia.* 2013;17:100-107.

Gnessin E, Lingeman JE, Evan AP. Pathogenesis of renal calculi. *Turk J Urol.* 2010; 36: 90-199.

- Gortzi O, Lalas S, Chinou I, Tsaknis J. Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *Eur Food Res Technol.* 2008;226:583–90.
- Dönmez İE, Salman H. Yaban mersini (*Myrtus communis* L.) yaprak ve meyvelerinin uçucu bileşenleri. *Turkish J Forestry.* 2017;18:328-332.
- Gupta M, Bhayana S, Sikka SK. Role of urinary inhibitors and promoters in calcium oxalate crystallisation. *IJRPC.* 2011;1:793-798.
- Hadjzadeh M, Khoei A, Hadjzadeh Z, Parizady M. Ethanolic Extract of *Nigella Sativa* L Seeds on Ethylene Glycol-Induced Kidney Calculi in Rats. *Urol J.* 2007;4:86-90.
- Hillegass LM, Griswold DE, Brickson B, Albrightson-Winslow C. Assessment of myeloperoxidase activity in whole rat kidney. *J Pharmacol Methods.* 1990;24:285-95.
- İlbey YO, Ozbek E, Simsek A. Effects of Pomegranate Juice on Hyperoxaluria-Induced Oxidative Stress in the Rat Kidneys. *Renal Fail.* 2009;31:522-531.
- Kaushal GP. Role of Caspases in Renal Tubular Epithelial Cell Injury. *Semin Nephrol.* 2003;23:425-31.
- Kittikowit W. Increased oxidative DNA damage seen in renal biopsies adjacent stones in patients with nephrolithiasis. *Urolithiasis.* 2014;42:387-94.
- Leth PM, Gregersen M. Ethylene glycol poisoning. *Forensic Sci Int.* 2005;155:179-184.
- Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, MacKinnon RW, Li L, Balakrishnan VS, Pereira BJ, Bonventre JV, Jaber BL. Urinary N-Acetyl- β -(D)-Glucosaminidase Activity and Kidney Injury Molecule-1 Level Are Associated with Adverse Outcomes in Acute Renal Failure. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:904-12.
- McMartin K. Are calcium oxalate crystals involved in the mechanism of acute renal failure in ethylene glycol poisoning? *Clin Toxicol (Phila)* 2009;47:859-869.
- Miah T, Kamat D. Pediatric Nephrolithiasis: A Review. *Pediatr Ann.* 2017;46:242-244.
- Narter F, Sarıca K. Üriner Sistem Taş Hastalığının Biyomoleküler Mekanizması. *Endoüroloji Bülteni.* 2013;6:135-142.

- Ogur R. Studies with *Myrtus communis* L.: Anticancer properties. *J Intercult Ethnopharmacol.* 2014;3:135–137.
- Pasti T, Leskovac A, Vasic V. Myeloperoxidase Inhibitors as Potential Drugs. *Curr Drug Metab.* 2015;16:168-90.
- Pei Z, Okura T, Nagao T, Enomoto D, Kukida M, Tanino A, Miyoshi K, Kurata M, Higaki J. Osteopontin deficiency reduces kidney damage from hypercholesterolemia in Apolipoprotein E-deficient mice. *Sci Rep.* 2016; 6: 28882.
- Randall A. The etiology of primary renal calculus. *Int Abstr Surg.* 1940;71:209-40.
- Ratkalkar VN, Kleinman JG. Mechanisms of Stone Formation. *Clin Rev Bone Miner Metab.* 2011;9:187-197.
- Sener TE, Sener G, Cevik O, Eker P, Cetinel S, Traxer O, Tanidir Y, Akbal C. The Effects of Melatonin on Ethylene Glycol-Induced Nephrolithiasis: Role on Osteopontin mRNA Gene Expression. *Urology.* 2017;99:287.e9-287.e15.
- Seo JW, Lee JH, Son IS, Kim YJ, Kim DY, Hwang Y, Chung HA, Choi HS, Lim SD. Acute oxalate nephropathy caused by ethylene glycol poisoning. *Kidney Res Clin Pract.* 2012;31: 249–252.
- Shadman A, Bastani B. Kidney Calculi Pathophysiology and as a Systemic Disorder. *Iran J Kidney Dis.* 2017;11:180-191.
- Singh V1, Rai PK. Kidney stone analysis techniques and the role of major and trace elements on their pathogenesis: a review. *Biophys Rev.* 2014;6:291-310.
- Stoller ML, Low RK, Shami GS, McCormick VD, Kerschmann RL. High resolution radiography of cadaveric kidneys: unraveling the mystery of Randall's plaque formation. *J Urol* 1996;156:1263-1266.
- Tuzlacı E. İn: Şifa niyetine Türkiyenin bitkisel halk ilaçları. Alfa basım Yayım Dağıtım Ltd Şti: 2006: 210-211.
- Worcester EM, Coe FL. Nephrolithiasis. *Prim Care.* 2008;35:369-391.

Xie Y, Sakatsume M, Nishi S, Narita I, Arakawa M, Gejyo F. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney Int.* 2001;60:1645-1657.

Zhang H, Li N, Li K, Li P. Protective effect of *Urtica dioica* methanol extract against experimentally induced urinary calculi in rats. *Mol Med Rep.* 2014;10:3157-3162.

Ziemba JB, Matlaga BR. Epidemiology and economics of nephrolithiasis. *Investig Clin Urol.* 2017;58:299-306.

Zuckerman JM, Assimos DG. Hypocitraturia: patho-physiology and medical management. *Rev Urol.* 2009;11:134-144.

Yaman F. Üriner sistem taş hastalığı etiyopatogenezinde fetuin-a ve osteopontin. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2011, Denizli (Danışman: Doç. Dr. Hülya Aybek).

Yang B, El Nahas AM, Thomas GL, Haylor JL, Watson PF, Wagner B, Johnson TS. Caspase-3 and apoptosis in experimental chronic renal scarring. *Kidney Int.* 2001;60:1765–1776.

9. EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	30.2017.mar	ÇALIŞMA: BİLİMSEL		
	PROJE ADI	Myrtus communis (Mersin) Bitkisinin Üriner Sistem Taş Hastalığı Üzerine Etkisinin İncelenmesi			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Göksel ŞENER			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER			
	DESTEKLEYİCİ				
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 03.04.2017 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekece, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılmalar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
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 gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
ÜYELER					
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeligi	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	Araştırmacı
Prof.Dr. Levent KABASAKAL	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Dış Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet. Dr. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Cihanşah MURATOĞLU	Serbest Danışmanlık	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	

Ek 2. Kongre Bildirisi

Poster sunumu: International Meeting on Education and Research in Health Sciences 3-5 Kasım 2017, İstanbul.

PP-73

Antirolithiasis Activity of *Myrtus communis* extract against Ethylene Glycol Induced Renal Calculi in Rat

Öznur Gülerürk^{1*}, Büşra Ertaş¹, Ali Şen², Pınar Eker³, Müşerref Asuman Akgün⁴, Göksel Şener¹

¹ Marmara University, School of Pharmacy, Department of Pharmacology, İstanbul, Turkey

² Marmara University, School of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, İstanbul Turkey

³ Umraniye Training and Research Hospital, Department of Biochemistry, İstanbul, Turkey

⁴ Marmara University, School of Dentistry, Department of Pharmacology, İstanbul, Turkey

* oznur.gulerturk@gmail.com

Urinary system stone disease (USSD) has high incidence and recurrence rates; thus, prevention and treatment strategies should be optimized. Oxidative process is one of the key contributors of crystal adhesion and aggregation that leads to stone formation (1). In this study, we evaluated the preventive and curative effects of *Myrtus communis* (MC) extract on USSD in rats. Thirty-two Wistar albino rats of 3 months-old were randomized and divided into 4 groups; vehicle administered control(C), ethylene glycol (EG), EG+preventive MC extract (MC + EG + MC), EG+curative MC extract (EG + MC) groups. USSD was induced by adding 0.75% EG to drinking water of rats for 8 weeks (2). MC extract is given at a dose of 100 mg/kg orally with EG, from day 1 in preventive MC group along with EG during 8 weeks while in curative MC group MC is given after 1 month of EG and continued along with EG until the end of the 8th week. At the end of the experiment, 24-hours urine was collected to analyze calcium, citrate, and creatinine levels. In 24-hour urine samples, calcium, citrate and creatinine levels were decreased and oxalate were increased in the EG group, whereas MC preventive and MC treatment reversed these parameters back to control levels. These results indicated that MC can prevent crystalluria and kidney damage due to crystal formation and aggregation, when used as either a preventive or therapeutic agent probably through antioxidant properties. Thus, MC might have clinical implications in preventing oxidative renal cell injury and ultimately kidney stone formation.

1.Sener TE, Sener G, Cevik O, Eker P, Cetinel S, Traxer O, Tanidir Y, Akbal C. The Effects of Melatonin on Ethylene Glycol-Induced Nephrolithiasis: Role on Osteopontin mRNA Gene Expression. *Urology*, 99:287.e9-287.e15.

2.Thamilselvan S, Hackett RL, Khan SR. Lipid peroxidation in ethylene glycol induced hyperoxaluria and calcium oxalate nephrolithiasis. *The Journal of urology*. 1997;157:1059-1063.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Öznur	Soyadı	Gülertürk
Doğum Yeri	İstanbul	Doğum Tarihi	07.05.1992
Uyruğu	T.C	Tel	0535 279 92 77
E-mail	oznur.gulerturk@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2015
Lise	Beyoğlu Anadolu Lisesi	2010
Ortaokul-İlkokul	Hasköy İlköğretim Okulu	2006

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Eczacı	VKV Amerikan Hastanesi	2015-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	3	3	4

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	82	80	66

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi