

ACETAZOLAMİDE'İN BÖBREK FONKSİYONLARI VE
HİSTOPATOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Hasan Veysi GÜNEŞ

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN

Mart 1992

Anadolu Üniversitesi
Tıp Fakültesi

S U M M A R Y

In this study, 40 female rats (*Rattus norvegicus*) were used. The rats were divided into 4 groups. For 50 days, I. group was control, 15 mg/kg sodium acetazolamide (Diamox) was injected intraperitoneally to the 2nd group. 57 mg/kg ammonium chloride was injected i.p. to the 3rd group and, 15 mg/kg acetazolamide and 57 mg/kg ammonium chloride were simultaneously injected i.p. to the 4th group.

Acetazolamide caused body weight reduction day by day where as ammonium chloride inhibited slightly this body weight reduction.. Acetazolamide caused alkaline urine during the 1st day, but urine pH tended to acidic character day by day, also ammonium chloride kept the pH same as control group level. During the 30 day acetazolamide increased phosphorus while it decreased creatinine, urea nitrogen and uric acid. On the other hand, these electrolytes did not change significantly in the blood according to the control.

During the study, magnesium - ammonium - phosphate crystalline were observed in urines of all groups, additionally, a few (1 - 3) calcium phosphate crystalline were observed in the 2nd group following the 30th day. No histopathological changes, kidney stones or calcification were observed in the kidneys of any groups.

Key words : Acetazolamide, Ammonium chloride, Calcium phosphate crystal, Diuretics, Kidney stone, Magnesium - ammonium - phosphate crystal

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın gerçekleştirilmesinde büyük yardımlarını ve desteğini gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Ayşe BAŞARAN' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın her aşamasında ilgi ve desteğini esirgemeyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. Nurettin BAŞARAN'a, Histolojik değerlendirmelerimde yardımını esirgemeyen Histoloji Bilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Ergin AÇIKALIN ve Histoloji Bilim Dalı personeline, istatistiksel değerlendirmelerde yardımını esirgemeyen Biyoistatistik Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Kazım ÖZDAMAR ve Biyoistatistik Bilim Dalı Öğretim elemanlarına, çalışmamın her aşamasında yardımlarını gördüğüm Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Araş.Gör. E.Ali ÇAKMAK, İrfan DEĞİRMENCİ ve A.Gaye TOMATIR ile Sağlık Teknisyeni Ayşe ÇİMEN'e çok çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	III
SUMMARY.....	IV
TEŞEKKÜR	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Böbrek Tübülüslerinin Fonksiyonları	3
2.1.1. Proksimal tübüllerin fonksiyonu.....	3
2.1.2. Henle kulpunun fonksiyonu	5
2.1.3. Distal tübüllerin ve toplama kanallarının fonksiyonu	5
2.2. Diüretikler ve Fizyolojileri	5
2.2.1. Diüretiklerin sınıflandırılması	6
2.2.2. Diüretiklerin klinik farmakolojileri	7
2.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri	7
2.3.1 Tarihi gelişme	8
2.3.2. Kimyasal yapı ve farmakolojisi	9
2.3.3. Böbrek üzerine etkisi	10
2.3.4. Plazma kompozisyonu üzerine etkisi	10
2.3.5 Göz üzerine etkisi	10
2.3.6. Sindirim sistemi üzerine etkisi	11
2.3.7. Merkezi sinir sistemi (MSS) üzerine etkisi.....	11
2.3.8. Solunum sistemi üzerine etkisi	11
2.3.9. Kullanım dozu	11
2.3.10. Klinik toksisitesi	12

İÇİNDEKİLER (Devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
3.1. Kullanılan Yöntemler	14
3.1.1. İdrar ve plazma ölçümlerinde kullanılan yöntemler.....	14
3.1.2. İdrarda kristal sayımı	24
3.1.3. Böbreklerin histopatolojik incelemeye hazırlanması	24
4. BULGULAR	30
4.1. Morfolojik Bulgular	30
4.1.1. Vücut ağırlığı	30
4.2. Biyokimyasal Bulgular	32
4.2.1. İdrar hacmi	32
4.2.2. pH	32
4.2.3. Kreatinin	35
4.2.4. Üre azotu	37
4.2.5. Kalsiyum	37
4.2.6. Fosfor	40
4.2.7. Ürik asit	40
4.3. İdrardaki Kristal Sayısı	43
4.4. Plazmadaki Spektrofotometrik Ölçümler	43
4.4.1. Elektrolit düzeyleri	43
4.4.2. Enzim Düzeyleri	47
4.5. Histopatolojik Bulgular	47
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR DİZİNİ	58
ÖZGEÇMİŞ	65

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Sulfonamide grubu ilaçların formülleri.....	9
Şekil 4.1.1. Deney süresince grupların günlere göre ağırlık değişimleri.....	31
Şekil 4.2.1 Deney süresince grupların günlere göre idrar hacımları.....	33
Şekil 4.2.2 Deney süresince grupların günlere göre idrar pH'ları.....	34
Şekil 4.2.3. Deney süresince grupların günlere göre kreatinin seviyeleri.....	36
Şekil 4.2.4. Deney süresince grupların günlere göre üre azotu seviyeleri....	38
Şekil 4.2.5. Deney süresince grupların günlere göre kalsiyum seviyeleri.....	39
Şekil 4.2.6. Deney süresince grupların günlere göre fosfor seviyeleri.....	41
Şekil 4.2.7 Deney süresince grupların günlere göre ürik asit seviyeleri.....	42
Şekil 4.3.1. Deney süresince grupların idrarlarında görülen magnezyum amonyum fosfat kristalleri.....	44
Şekil 4.3.2. 30. günden itibaren AC verilen sıçanların idrarlarında görülen kalsiyum fosfat kristalleri.....	44
Şekil 4.3.3. Deney süresince grupların idrarlarında görülen kristal seviyeleri.....	45
Şekil 4.6.1. Kontrol grubunda böbreğin histolojik yapısı.....	48
Şekil 4.6.2. Acetazolamide verilen II. grupta böbreğin histolojik yapısı.....	48
Şekil 4.6.3. Amonyum klorid verilen III. grupta böbreğin histolojik yapısı.	49
Şekil 4.6.4. Acetazolamide ile amonyum klorid verilen IV. grupta böbreğin histolojik yapısı.....	49
Şekil 4.6.5. Gomori boyama yöntemiyle boyanmış prostat bezinde kalsiyum fosfat taşları.....	50
Şekil 4.6.6. Gomori boyama yöntemiyle boyanmış AC verilen II. gruba ait böbrek kesiti.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. Kreatinin standardına göre hazırlanmış kalibrasyon tablosu.	16
Çizelge 3.2. SGOT ve SGPT standart tabloları	22
Çizelge 4.1.1. Deney süresince grupların günlere göre ağırlıkları	31
Çizelge 4.2.1. Deney süresince grupların günlere göre idrar hacımları	33
Çizelge 4.2.2. Deney süresince grupların günlere göre idrar pH'ları	34
Çizelge 4.2.3. Deney süresince grupların günlere göre kreatinin seviyeleri .	36
Çizelge 4.2.4. Deney süresince grupların günlere göre üre azotu seviyeleri	38
Çizelge 4.2.5. Deney süresince grupların günlere göre kalsiyum seviyeleri	39
Çizelge 4.2.6. Deney süresince grupların günlere göre fosfor seviyeleri	41
Çizelge 4.2.7. Deney süresince grupların günlere göre ürik asit seviyeleri ..	42
Çizelge 4.3. Deney süresince grupların günlere göre idrarda bulunan kristal seviyeleri.	45
Çizelge 4.4.1. Deney sonu plazmada ölçülen kreatinin, BUN, kalsiyum, fosfor, ürik asit ve enzimlerden SGOT, SGPT, ALP değerleri.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

g : gram
mg : miligram
ml : mililitre
lt : litre
 μ l : mikrolitre
U/L: Unit / Litre
nm : nanometre

KISALTMALAR

A : Absorbans
AC : Acetazolamide
ADH : Anti diüretik hormon
ALP : Alkaline phosphatase
BUN : Blood urea nitrogen
K.A. : Karbonik anhidraz
NH₄Cl: Amonyum klorid
SGOT : Serum glutamic oxalacetic transaminase
SGPT : Serum glutamic pyruvic transaminase

1. GİRİŞ

Diüretikler, vücuttan net olarak su ve elektrolit kaybına neden olan maddelerdir (28,31,40,76).

Bilinen ilk diüretiklerden olan acetazolamide (AC), başta glokom tedavisi olmak üzere, alkali diürez oluşturulması, epilepsi, kronik metabolik alkaloz, respiratuvar asidoz gösteren amfizom ve diğer kronik obstruktif akciğer hastalıkları, yüksek irtifaya bağlı olarak oluşan akut dağ hastalığı gibi durumlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (3,12,13,23,30,40,61,66,68,69,76).. Fakat uzun süre kullanılan AC'nin kan ve idrar kompozisyonundaki bazı değişiklikler yanında, özellikle alkali idrara ve kalsiyum fosfat taşına neden olabileceği gösterilmiştir (1,3,5,11-13,24,28-30,36,39,47,48,52,58,59,61,64,76).. Diğer bazı araştırmacılar ise, kalsiyum fosfat taşı oluşumu üzerine pH değişikliklerinin de etkili olduğunu bildirmişlerdir (10,20,22,26, 33,35,37, 38,55,73-75).

Deneyssel olarak yapılan çalışmalarda AC değişik şekillerde kullanılmış olup ya uzun süre yüksek dozlarda yemlere katılarak (36,52,66), ya tek doz halinde intravenöz olarak (12,13), veya anestezi altında böbreklere yerleştirilen osmotik pompalar ile yahutta izole böbreğe perfüzyonla uygulanmıştır (24,30,37,47,61). Bunların hepsinde deney bitiminde idrarda elektrolit, pH ve tuz oluşumu incelenmiştir (12,13,24,30,36,37,47,50,52,61,66).

AC nin yan etki olarak oluşturduğu kalsiyum fosfat taşı riskini azaltmak veya ortadan kaldırmak için AC ile birlikte idrarı asit yöne kaydıran ve dolayısıyla taş oluşumunu engelleyici maddelerin kullanılma gerekliliği ileri sürülerek (59) deney hayvanlarına sitrik asit (1,29,36,48,67), glutamik asit (52), alkali sitrat (70), sodyum bikarbonat (65) gibi maddeler verilerek çalışmalar yapılmıştır. Bütün bunların yanında idrarı asidik yöne kaydırmanın kalsiyum fosfat taşı oluşumunu engelleyebileceği diğer araştırmacılar tarafından da benimsenmiştir (3,16,23,24,28,30,32,43,65,69, 71,73,76).

Bütün bunların yanında diğer bazı hastalıkların tedavisinde idrarı asidik yöne kaydırmak için diüretik bir madde olan amonyum kloridin (NH_4Cl) kullanıldığı da bildirilmektedir (16,28,40,43,71,76).

Biz de bu çalışmamızda, geniş bir iyileştirici etkisi yanında, böbrekte kalsiyum fosfat taşı oluşumu gibi yan etkileri olduğu ileri sürülen AC'nin günlük olağan dozlarda kullanımı halinde, böbrek fonksiyonlarına ve taş oluşumuna etkilerini, yan etkileri olduğu takdirde bunları iyileştirmek için ilave madde olarak verilen ve idrarı asitleştirici etkisi bilinen amonyum kloridin taş oluşumunu engelleyici etkisini incelemeyi planladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Böbrek Tübülüslerinin Fonksiyonları :

Ergin bir insanda ortalama glomerular filtrasyon oranı yaklaşık olarak dakikada 125 ml dir. Böyle bir ergin insandaki toplam hücre dışı (ekstrasellüler) sıvı volümü de yaklaşık olarak 12.5 litredir. Bu bildirilen hücre dışı sıvı 100 dakika içinde glomerullardan süzülür ve bu süre içinde de mesanede 100 ml idrar toplanır (76). Bütün bunlar bize glomerular filtratın % 99 unun tübüllerden reabsorbe olduğunu gösterir (8,43,76).

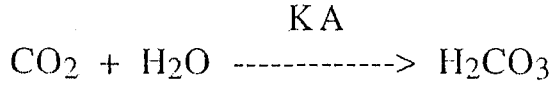
2.1.1. Proksimal tübüllerin fonksiyonu :

Glomerular süzüntüden kana aktif transportla reabsorbe olan maddelerin önemlileri glukoz, sodyum, potasyum, fosfat, amino asitler, kreatinin, ürik asit, askorbik asit, asetoasetik asit, beta-hidroksi bütirik asit gibi maddelerdir. Böylece solut filtratın % 80 i ve suyun büyük bir kısmı kana geri alınır (8,43,56,76,78).

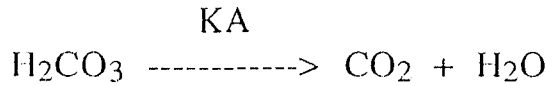
Bunlardan sodyum tuzları; glomerular süzüntüdeki solutların en büyük kısmını teşkil eder ve hemen hemen nefronun bütün segmentlerinden reabsorbsiyona uğrar. Sodyumun proksimal tübül lümeninden tübül hücresine ve dolayısıyla kana geçişi farklı birkaç mekanizma ile gerçekleşir, bunlar;

- a) Elektrokimyasal gradiente bağlı olarak direk sodyum girişi.
 - b) Bir organik madde (glukoz, amino asit, laktat gibi) veya fosfat ile birleşmiş olarak sodyum girişi.
 - c) Farklı yönde hareket eden bir protona karşı sodyumun değişim suretiyle girişi.
 - d) 1 potasyum ve 2 klor iyonunun pasif difüzyonla hücreye girişi esnasında onlarla birlikte sodyum girişi.
 - e) Yalnız 1 klor iyonu girişiyle birlikte sodyum girişidir.
- Böylece tübül sonunda filtratın konsantrasyonu değişmeden kalır.

Bikarbonat iyonlarının reabsorbsiyonu birbirini takip eden reaksiyonlar sonucu gerçekleşir. Bunun için tübül hücre metabolizması sonucu meydana gelen CO_2 , su ile birleşerek H_2CO_3 meydana gelir. Bu olayda karbonik anhidraz (K.A.) enzimi önemlidir.



Karbonik asit ardından H^+ ve HCO_3^- iyonlarına ayrılır. H^+ , tübül hücrelerinden tübül lümenine lümeninde bulunan H^+ yoğunluğuna göre aktif veya pasif yolla geçer. Lümeneye geçen her H^+ e karşılık bir Na^+ lümenenden hücreye girer. Ayrıca lümeneye verilen her H^+ e karşılık hücreden 1 Na^+ ve 1 HCO_3^- kan verilir (56). Diğer yandan glomerulusdan filtrata geçen NaHCO_3 , Na^+ ve HCO_3^- iyonlarına ayrıldığından lümendeki filtratta devamlı HCO_3^- bulunur. Hücreden lümeneye geçen H^+ ile lümeninde bulunan HCO_3^- birleşerek yine H_2CO_3 meydana gelir. Oluşan H_2CO_3 , lümeneye bakan hücre membranından salınan KA izoenziminin katalitik etkisi ile CO_2 ve H_2O ya ayrılır.



Oluşan CO_2 kolaylıkla lümen hücrelerine difüze olur ve hücre metabolizması ile oluşan CO_2 ile aynı reaksiyona girerek H_2CO_3 oluşmasına yardım eder (8,56,76,78).

Fosfat iyonlarının reabsorbsiyonunda; glomerular filtratta bulunan fosfat iyonları HPO_4 (dibazik fosfat) ve H_2PO_4^- (monobazik fosfat) olarak bulunur. Proksimal tübül sıvısının pH sı değişmediğine göre (pH 7.4) fosfat iyonları aynı oranda reabsorbe oluyor veya hiç olmuyor demektir (3,8,43).

Potasyum % 100 reabsorbe olur. Esasen diğer iyonlar gibi potasyumda plazmada ne oranda bulunuyorsa aynı oranda glomerular filtrata geçer fakat sonra bunun hepsi proksimal tübden geri emilir. İdrarda tesbit edilen potasyumun distal tübülüslerde kandan alınıp idrara geçen potasyum olması gerekir (56).

2.1.2. Henle kulpunun fonksiyonu :

Filtrat proksimal tbden Henle kulpuna ve Henle kulpunun inen koluna ulaşır. Henlenin inen kolunda konsantrasyon mekanizmaları üstün olup bol miktarda su reabsorbe olur Na^+ ve Cl^- ise devamlı girip çıkar böylece inen kolun sonunda lümen sıvısı hipertonic karakter kazanır. ıkan kolun ince ve özellikle kalın bölgelerinde Cl^- aktif olarak transportla, Na^+ ise pozitif yük taşıması nedeniyle Cl^- u takip ederek interstisiyel sıvıya geçer. Bütün bunlara karşılık su bu kolda içeri giremez ve dışarı çıkamaz, böylece Cl^- ve Na^+ uzaklaşıp su aynı kaldığı için Henle kulpunun çıkan kolunun son kısmına doğru lümen sıvısı artık hipotonik karakter kazanmış olur (8,15,41,43,53,56,76).

2.1.3. Distal tübüllerin ve toplama kanallarının fonksiyonu :

Distal bölüme giren su hipotoniktir. Bu bölgede Na^+ , aldosteron hormonunun da etkisiyle aktif olarak reabsorbe olurken iyonik dengeyi sağlamak için lümene hcrenden K^+ ve H^+ pasif olarak geçer. Distal tbn son kısımları ve toplama kanallarında ise antidiüretik hormonun (ADH) etkisiyle suyun geri emilimi tamamlanır (8,15,41,43,53,56,76).

2.2. Diüretikler ve Fizyolojileri :

Idrar atılımını artıran ilaç ve maddelere diüretik adı verilir. Bu ilaçlar böbreğin nefronlarını ve toplama kanallarını etkilemek suretiyle diürez meydana getirirler. Bunların çoğu, primer olarak, böbrek tübüllerinin belirli segmentlerinde Na^+ ve Cl^- reabsorbsiyonunu azaltırlar. Diüretiklerin bu etkisine natriüretik veya salretik etki denir. Diüretikler sayesinde sodyum ve suyun idrarla atılma oranının artışı demin ortadan kaldırılmasını sağlar (28,40,76).

Son yıllarda gelişen akışı kesme, serbest su klerensi, osmotik klerens, mikro ponksiyon, mikro perfüzyon gibi yöntemler sayesinde diüretiklerin böbrekteki etki yerleri kesin olarak tayin edilmeğe başlanmıştır (28,40,76).

2.2.1. Diüretiklerin sınıflandırılması :

İlaçların sınıflandırılmasında dikkate alınan özelliklerden biri ilaçları moleküler faaliyetlerine göre sınıflandırmaktır. Fakat mevcut bilgiler henüz yeterli değildir (28,51).

Başka bir sınıflandırma yöntemi ilaçların kimyasal yapılarına göre gruplandırmaktır. Özellikle laboratuvalar bu sistemle çok ilgilenmekte iseler de bu sınıflandırma sistemi ilaçların fizyolojik etkilerini açıklamakta yetersiz kalmaktadır (18). İlaç sınıflandırmalarında yine vücut sıvı kompozisyonu üzerine etkileri temel alınmış fakat bu da yeterli bulunmamıştır.

Fizyologlar daha çok diüretiklerin sınıflandırılmasında, ilacın nefrondaki etki yerini esas almayı tercih ederler. Diüretikler nefronun belirli kısmını daha fazla etkileyerek diürez oluştururken aynı zamanda diğer kısımlarda da ikincil bir etki meydana getirirler (28,40).

Primer etki yerlerine göre diüretikler şöyle sınıflandırılabilir ;

- a) Primer etkileri proksimal tübül üzerinde olanlar; karbonik anhidraz inhibitörleri, osmotik etkili diüretikler, ksantin türevleri.
- b) Primer etkileri Henle kıvrımı üzerinde olanlar (kıvrım diüretikleri); furosemid, bumetanid, etakrinik asit, cıvalı diüretikler.
- c) Primer etkileri distal tübül üzerinde olanlar; tiazid grubu diüretikler, tiazid - benzeri diüretikler (klortalidon, klopamid, mefrusid, metalazon).
- d) Primer etkileri kortikal toplayıcı tübüller üzerinde olanlar;; aldosteron antagonistleri (spinolakton, kanrenon), triamteren, amilorid (bunlara potasyum tutucu diüretikler adı da verilir).

Hernekadar primer etki yerlerine göre yapılan bu sınıflandırma geniş olarak kullanım alanı bulmuşsa da, son yıllarda klinik kullanım alanı olarak daha anlamlı olan temel farmakolojik özelliklerine göre sınıflandırma yapma yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (40).

Buna göre diüretik ilaçları şöyle sınıflandırabiliriz;

- a) Karbonik anhidraz inhibitörleri; acetazolamide.
- b) Tiazid grubu diüretikler; klorotiazid, hidroklorotiazid, bendroflumetiazid, metilklotiazid, politiazid.

Tiazid benzeri diüretikler; klortalidon, klopamid, kinetazon, mefrusid, metolazon.

c) Kıvrım diüretikleri; furosemid, etakrinik asit, bumetanid, cıvalı diüretikler.

d) Potasyum tutucu diüretikler; aldosteron antagonistleri (spinolakton, kanrenon), triamteren, amilorid.

e) Osmotik diüretikler; mannitol, glukoz, üre, izosorbid, gliserin.

f) Diğer diüretikler; amonyum klorür, su.

2.2.2. Diüretiklerin klinik farmakolojileri :

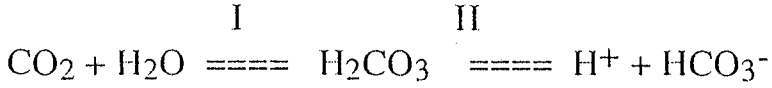
Diüretikler en yaygın olarak ödemli hastalıklar ve hipertansiyon tedavisinde kullanılırlar (40,76). Ödem, esas itibariyle ekstraselüler sıvı hacminin artmasıdır. Bu durumda, dokularda ve bazen seröz boşluklarda fazla miktarda su toplanır. Ödemın başlıca nedeni, başta Na^+ olmak üzere, elektrolitlerin vücuttan uzaklaştırılmamasıdır. Ekstraselüler sıvıda elektrolit tutulması suyun tutulmasına sebep olur. Diüretik tedavisi uygulanan hastalıklardan bazıları şunlardır: konjensif kalp yetmezliğine bağlı ödemler, akut akciğer ödemi, akut böbrek yetmezliğinin önlenmesi ve tedavisi, akut glomerulonefrit, karaciğer sirozu, gebelik ödemi, idyopatik siklik ödem, hipertansiyon tedavisi, metabolik alkaloz, renal metabolik asidoz, hiponatremi tedavisi, nefrojenik diabetes insipidus, hiperkalsemi, hiperkalsiüri, glokom.

2.3. Karbonik Anhidraz İnhibitörleri :

Karbonik anhidraz inhibitörleri olarak bilinen ilaçlar, birçok dokuda bulunan ve H^+ transportunda çok önemli rolü olan enzimi inhibe etme kapasitesine sahiptirler (49). Bu sınıf ilaçların prototipi olan AC diüretik olarak sınırlı bir kullanıma sahipse de böbrek fizyolojisi ve farmakolojisinin gelişiminde önemli rol oynamıştır (49,54).

2.3.1. Tarihi gelişme :

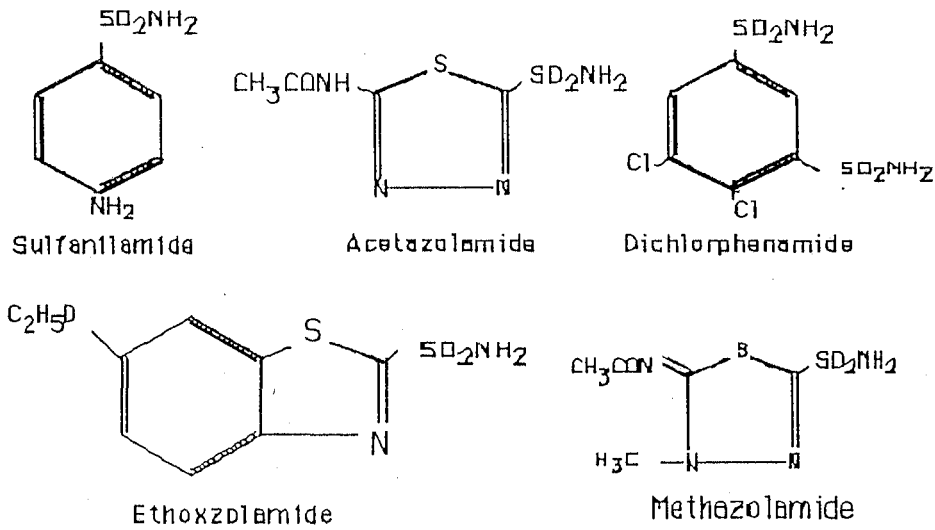
Raughton 1930 ların başında eritrositlerde KA enziminin varlığını göstermiş olup bu enzim reaksiyon I i katalizler



Buradaki hidrasyon ve dehidrasyon reaksiyonlarının her ikisinde enzimatik kontrol altında gerçekleşmektedir. Reaksiyon II bir iyonik ayırma işlemi olup aniden oluşur. ve enzimatik etki bu kısımda söz konusu değildir (54). Daha sonraları Davenport and Wilhelmi (1941) bu enzimin böbrek dokusunda oldukça yüksek konsantrasyonda olduğunu göstermişlerdir. Günümüzde KA enziminin böbrek korteksi, mide mukozası, pankreas, göz, merkezi sinir sistemi gibi birçok bölgede bulunduğu bilinmektedir (54). Bu sonuçlardan sonra Roblin and Clapp (1950) KA inhibitörü olan heterosiklik sulfonamidlerin bir serisinin sentezini yapmışlardır ki bunların içinde en kullanışlı olanı AC'dir. Bunu takiben Maren (1967) KA inhibitörlerinin fizyoloji ve farmakolojisi üzerine geniş kapsamlı bir çalışma yapmıştır. Son yıllarda KA enziminin değişik doku ve bölgelerde bulunan izoenzimleri belirlenmiş ve bunlar KA I, II, III olarak adlandırılmışlardır (17,46,47). Bunlardan KA II; CO₂ in hidrasyonu ve H₂CO₃ in dehidrasyonunda en aktif form olup bol olarak tübül epitelinde, keza eritrositlerde bulunur. KA I,, eritrositlerde, barsak epitelinde, kapiller endotelyumunda bulunur fakat bunun fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir. KA III, sıçanların karaciğerinde ve iskelet kaslarında bulunmuş olup en düşük aktiviteye sahip form olarak belirlenmiştir. Yine son yıllarda insan böbrek tübülüslerinin mikrosomlarında ve plasma membranında oldukça yüksek aktiviteye sahip olmasına karşılık sulfonamid inhibisyonuna KA II den daha az duyarlı olan KA IV izoenzimi bulunmuştur (47,77).

2.3.2. Kimyasal yapı ve farmakoloji :

Oldukça çok sayıda sulfonamid sentezlenmiş ve KA inhibitörü ve diüretik olarak aktivite tayinleri yapılmıştır, Bunların içinde en çok kullanılan AC olup bu grup ilaçların formülleri şöyledir (28,49,54).



Şekil 2.1. Sulfonamid grubu ilaçların formülleri.

AC bir sulfonamide olduğundan böbrekte KA ı inhibe etmek gayesiyle deneysel olarak çok kullanılmıştır. İlaç ince barsaktan kolayca absorbe olur, plazmadaki pik konsantrasyon 2 saat içinde görülür ve yarılanma süresi 100 dakikadır. Maksimum doz uygulanmasından 0.5 - 2 saat sonra böbrek korteks ve medullasında, plazmadaki miktarının 2 - 3 misli artar, boşaltım 24 saatte tamamlanır, metabolize olmadan ilacın tamamı vücuttan dışarı atılır. Köpeklerde yapılan deneylerde sulfonamid klerensinin filtrasyon oranına eşit olduğu gösterilmiştir (49,50). Bütün organlarda KA inhibisyonu oluşturabilmek için 5 - 20 mg/kg doza ihtiyaç vardır (28).

2.3.3. Böbrek üzerine etkisi :

AC uygulanmasından birkaç dakika sonra, normalde asidik olan idrar, alkali olur, HCO_3^- , Na^+ ve K^+ atılımı artar. HCO_3^- fraksiyonel atılımı % 30 luk bir artış gösterirken, bu artış Na^+ da % 2 - 5, K^+ da % 60 - 70 kadardır. Buna karşılık Cl^- miktarında az da olsa bir düşme görülür (24,28,54,62). idrar pH sınırın alkali olması titratable asit ve amonyak miktarının azalmasıyla doğrudan ilişkilidir (40,54,76). AC'nin diğer çarpıcı bir etkisi onun fosfaturia meydana getirmesidir (12,19). Son yıllarda fosfat anyonunun yalnız proksimal tübülden reabsorbe olduğu düşünüldüğünden, lokal diüretik etkinin bir göstergesi olarak fosfaturia kullanılmaktadır. Fosfaturia; cyclic adenosine 3', 5'- monophosphate (cAMP) ın böbrekteki üretiminin AC tarafından teşvik edilmesiyle ilgilidir. Bu nedenle ilaç paratiroid hormona benzer şekilde hareket ederek fosfat ve cAMP'nin idrarla atılımını artırır (54). Bütün bunlara rağmen ilaç uygulamasına uzun süre devam edilirse, idrar kompozisyonu büyük ölçüde başlangıçtaki değerine dönerek pH asidik karakter kazanır (28).

2.3.4. Plazma kompozisyonu üzerine etkisi :

AC, HCO_3^- ve başta Na^+ olmak üzere çeşitli katyonların idrarla atılımını artırır. Bunun sonucu, ekstraselüler sıvıda HCO_3^- konsantrasyonu azalır ve sonuçta metabolik asidoz görülür (40,54,76).

2.3.5. Göz üzerine etkisi :

Bazı göz içi yapılarda KA enziminin bulunuşu ve aqueous humor'da da yüksek konsantrasyondaki HCO_3^- varlığı, aqueous humor salgılanışında enzimin direk rolüne dikkati çekmiştir. AC aqueous oluşumunu azaltır, bu nedenle glokomlu hastalarda kullanılarak göz içi basıncı düşürülür (49,54).

2.3.6. Sindirim sistemi üzerine etkisi :

Yapılan deneysel çalışmalarda, mide ve pankreasdan yapılan salgılamaya olaylarında KA enziminin etkili olduğu görülmüştür. Enzim inhibe edilerek bu salgılar durdurulabilmiştir. Yalnız bu olay KA inhibitörlerinin olağan dozda değilde yüksek dozda kullanıldıkları zaman ortaya çıkmıştır (54). AC, HCO_3^- ü etkilemeden jejunumda Na^+ ve Cl^- absorpsiyonunu engeller. Bu nedenle bu ilacın farklı bir mekanizma ile absorpsiyon olayına katıldığı düşünülmüştür (27).

2.3.7. Merkezi sinir sistemi (MSS) üzerine etkisi :

Beyin yarım kürelerinde farklı konsantrasyonlarda bulunan KA enziminin MSS üzerine olan rolü henüz tam olarak bilinmemektedir. Enzimin beyinde, choroid plexus veya eritrositlerde inhibisyonundan dolayı lokal olarak CO_2 basıncında artma oluşabilmektedir. AC epileptik nöbetleri inhibe etmekte ve serebrospinal sıvı oluşumunu azaltmakta fakat kafatası kan akımının artması sonucu olarak da serebrospinal sıvı basıncının artmasına neden olmaktadır (44,49,54).

2.3.8. Solunum üzerine etkisi :

Kan yoluyla CO_2 'in alveol ve periferel dokular arasındaki transportu, dolaşımdaki eritrositlerin KA aktivitesi ile doğrudan ilişkilidir. AC ise CO_2 basıncının dokularda artmasına, nefesle dışarı verilen oranın azalmasına sebep olarak CO_2 transport sisteminde bir dengesizliğe neden olmaktadır (54).

2.3.9. Kullanım dozu :

AC (Diamox) oral yoldan kullanmak için 125 ve 250 mg lık tabletler veya 500 mg lık kapsüller, parenteral kullanmak içinde 500 mg lık

sodyum acetazolamide halinde piyasaya sunulmuştur. Aktif oral doz 250 - 500 mg olup parenteral dozuda aynıdır. Diüretik olarak kullanıldığında hergün, günde 1 kez verilmelidir (40,54,76).

2.3.10. Klinik toksisitesi :

Ciddi toksik reaksiyonlar oldukça nadirdir. Yüksek dozlarda bazı hastalarda drowsiness (uyuşukluk) ve paresthesias (uyuşma ve karıncalanma) görülür. Hepatik sirozda disorientation (yön tayin edememe) olayı ortaya çıkabilir. İdrarda böbrek orijinli amonyağı saptırarak sistemik dolaşıma katılmasına neden olabilir. Aşırı duyarlılık halleri çok nadirdir. Taş oluşumu ve ureteral koliklere neden olabilir. Tiroid bezinden iyot atılımını baskılar fakat bu sınıf ilaçlar antitiroid ajanlar gibi terapetik olarak kullanılmazlar. İdrarı alkalize ettiği için hamilelikte kullanılmaması önerilir (40,76).

3. G E R E Ç V E Y Ö N T E M

Bu çalışmada 40 adet, 5 aylık, 175 - 249 g, dişi, *Rattus norvegicus* türü albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı.

I. grup; kontrol olarak tutuldu.

II. gruba; 15 mg / kg sodyum acetazolamide (Diamox) (Lederle Laboratories Division, American Cyanamid Company).

III. gruba; 57 mg / kg amonyum klorid.

IV. gruba; 15 mg / kg sodyum acetazolamide + 57 mg / kg amonyum klorid. 50 gün süreyle hergün aynı saatte, intraperitoneal olarak verildi. Ilacın verilmesiyle birlikte ilk 24 saatlik, daha sonrada her 10 günde bir 24 saatlik idrarları toplandı, aynı zamanda sıçanlar tartılarak ağırlıkları tayin edildi. İdrarların hacim ve pH ları kaydedildi. Ayrıca spektrofotometrik olarak idrardaki kreatinin, üre azotu, kalsiyum, fosfor, ürik asit değerleri belirlendi ve idrarda bulunan kristal çeşidi ve miktarı tayin edildi. Bunlardan;

pH: Schott - Mainz CG710 model pH - metre kullanılarak cam elektrot ile,

Kreatinin : Modifiye Folin - Wu yöntemiyle (72),

Üre azotu : Knickerbocker, SAE Cromatest kitiyle,

Kalsiyum : Titrimetrik EDTA yöntemiyle (34),

Fosfor : Knickerbocker, SAE Cromatest kitiyle,

Ürik asit : Knickerbocker, SAE Cromatest kitiyle ölçüldü.

Deney bitimi olan 50. gün sıçanlar eter anestezisi altında uyutularak göğüs kafesi açıldı ve kalbin sol ventrikülünden heparinli tüplere mümkün olan kan alındı, böbrekler çıkarılıp tartılarak nötral formaline konuldu. Alınan kan örnekleri santrifüj edilerek elde edilen plazmada; kreatinin, üre azotu (BUN), kalsiyum, fosfor, ürik asit değerleri, idrar ölçümlerinde kullanılan kit ve yöntemler kullanılarak, ilaveten plazmada bulunan enzimlerden

Glutamic Oxalacetic Transaminase (SGOT) : Knickerbocker, SAE Cromatest,

Glutamic Pyruvic Transaminase (SGPT) :Knickerbocker, SAE Cromatest,

Alkaline Phosphatase (ALP) :Knickerbocker. SAE Cromatest kitleri kullanılarak ölçüldü.

Nötral formaline alınmış olan böbreklerin histopatolojik incelenmesi için parafin kesitler yapıldı ve bu kesitler Von Kossa (6,45) ve Gomori (25) nin gümüş nitrat boyaları, ayrıca haematoksilen - eosin boyası ile boyandı (6,45).

Elde edilen tüm sonuçlar tek ve çift yönlü varyans analiz testleri (57) kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.1. Kullanılan Yöntemler :

3.1.1. İdrar ve plazma ölçümlerinde kullanılan yöntemler :

Kreatinin :

Alkalin pikrat ile kreatinin'in alkalik ortamda reaksiyona girerek kreatininpikrat teşekkül etmesi (Jaffe reaksiyonu) ile oluşan sarımsak rengin kolorimetrik olarak ölçümü esas alındı (72).

Gereç :

1. Hassas terazi
2. Pipet (1, 2, 5, 10 ml)
3. Laboratuvar saati
4. Spektrofotometre (520 nm)
5. Santrifüj ve santrifüj tübü.
6. Tüp karıştırıcısı (Whirlimixer)

Çalışma solusyonları :

% 1 pikrik asit solusyonu : 12 g pikrik asit bir miktar suda eritildi ve 1 lt ye tamamlandı (pikrik asitin 10 g yerine 12 g alınmasının nedeni, katı pikrik asitin su ihtiva etmesidir). Hazırlanan bu pikrik asit solusyonu kontrol için fenol ftalein indikatör olarak kullanılarak 0.1 N alkali ile titre edildi, doğru hazırlanan solusyonda 8.61 - 8.81 ml alkali harcanmalıdır.

2.5 N Sodyum hidroksit solusyonu : 10 g sodyum hidroksit distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

Standart kreatinin solusyonu : 20 mg kreatinin distile su ile 1000 ml tamamlandı.

Yöntem :

A) İdrarda kreatinin ölçümü :

1. Blank ve örnek sayısı kadar santrifüj tüpü alınıp üzerlerine B ve Ö yazıldı.

2. Herbir idrar örneğini 10 kat sulandırıldı.

3. B tüpüne 0.5 ml distile su ve 1.5 ml pikrik asit konuldu.

4. Ö tüplerine sulandırılmış örneklerden 0.5 ml konuldu.

5. Bütün tüplere 0.2 ml NaOH solusyonu konuldu.

6. Tüpler tüp karıştırıcısında karıştırılarak 20 dakika oda ısısında tutuldu.

7. 520 nm ye ayarlı spektrofotometrede örneklerin transmittansları okundu.

8. Sonuçlar, standart kreatinin ile hazırlanmış transmittans tablosundan (Çizelge 3.1) okunarak belirlendi.

9. Örnekler 10 kat sulandırıldığı için çizelgeden bulunan değer 10 ile çarpılarak idrardaki kreatinin değerleri belirlendi.

B) Plazmada kreatinin ölçümü :

1. Blank ve örnek sayısı kadar santrifüj tüpü alınıp üzerlerine B ve Ö yazıldı.

2. Herbir tüpe 1 ml örnek konulup üzerine 3 ml pikrik asit ilave edildi.

3. Örnekler 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edildi.

4. B tüpüne 0.5 ml distile su ve 1.5 ml pikrik asit konuldu.

5. Ö tüplerine santrifüj edilen örneklerin süpernatantlarından 2 ml konuldu,

6. Bütün tüplere sırayla 0.2 ml NaOH solusyonu konuldu.

7. Tüpler tüp karıştırıcısında karıştırılarak 20 dakika oda ısısında tutuldu.

8. 520 nm ye ayarlı spektrofotometrede örneklerin transmittansları okundu.

9. Sonuçlar, standart kreatinin ile hazırlanmış transmittans tablosundan (Çizelge 3.1) okunarak belirlendi.

Üre azotu :

Üre enzimatik olarak hidroliz olduğunda amonyak ve karbondioksite ayrışır. Meydana gelen amonyak da salisilat ve hipoklorid ile nitroprusside katalizörlüğünde indofenol teşekkül etmesine neden olur. Indofenol oluşmasıyla ortaya çıkan yeşil rengin kolorimetrik olarak ölçümü esas alındı.

Çizelge 3.1. Kreatinin standardına göre hazırlanmış kalibrasyon tablosu.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	-	-	11.2	10.2	9.8	8.9	8.4	8.0	7.6
10	7.4	7.2	7.0	6.9	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3
20	6.2	6.1	6.0	5.8	5.6	5.5	5.3	5.2	4.9	4.8
30	4.6	4.5	4.4	4.3	4.1	4.0	3.9	3.8	3.7	3.6
40	3.5	3.4	3.3	3.3	3.2	3.1	3.0	2.9	2.8	2.7
50	2.7	2.6	2.5	2.4	2.4	2.3	2.2	2.2	2.1	2.0
60	2.0	1.9	1.8	1.8	1.7	1.7	1.6	1.5	1.5	1.4
70	1.4	1.3	1.3	1.2	1.2	1.1	1.1	1.0	1.0	0.9
80	0.9	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.6	0.5	0.5	0.4
90	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.1	-	-	-

Gereç :

1. Pipet (2.5 ve 20 ml)
2. 37°C a ayarlı termostatik su banyosu.
3. Laboratuvar saati.
4. Spektrofotometre (600 nm).
5. Tüp karıştırıcısı (Whirlimixer)

Çalışma solusyonları :

Urease - Salicylate : 1 vialin içindeki bütün muhteva 250 ml distile suda çözüldü.

Alcaline hypochloride : 1 vialin içindeki bütün muhteva 250 ml distile suda çözüldü.

Glucose - urea standard : 100 mg glukoz + 50 mg urea / 100 ml

Yöntem :

1. 3 tüp alarak üzerlerine blank, örnek ve standart yazıldı.
2. Örnek tübüne 0.02 ml (20 µl) idrar (veya plazma) konuldu. (Çalışılan örnek idrar ise 10 kat sulandırılır, çıkan sonuçta buna bağlı olarak 10 ile çarpılır).
3. Standart tübüne 20 µl standart konuldu.
4. Her üç tüpe de 2.5 ml urease - salicylate ilave edildi.
5. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra 37°C de 5 dakika inkübe edildi.
6. Her tüpe 2.5 ml alkaline hypochloride ilave edildi.
7. Tüpler iyice karıştırılarak 37°C de 5 dakika inkübe edildi.
8. 600 nm ye ayarlı spektrofotometrede standart ve örneklerin absorbansı (A) okundu ve aşağıdaki formül ile miktar hesaplandı.

$$\frac{A \text{ örnek}}{A \text{ standart}} \times 50 = \dots \text{ mg/100 ml}$$

Kalsiyum :

Kuvvetli alkali pH da Ca^{++} ile EDTA nın kompleks oluşturması esas alınarak bu yöntem uygulanır (34).

Gereç :

1. Santrifüj tübü
2. Pipet (1, 5, 10 ml)
3. Hassas terazi

Çalışma solusyonları :

0.02 M stok EDTA solusyonu : 7.44 g etilendiamid tetraasetik asit (EDTA) alınarak oda ısısında distile su ile 1 lt ye tamamlandı.

Standart kalsiyum solusyonu : 10 g kalsiyum distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

İndikatör : 0.1 g kalgon karboksilik asit 100 ml % 96 alkolde çözüldü.

% 25 KOH solusyonu : 25 g KOH distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

EDTA çalışma solusyonu : Stok EDTA solusyonundan 10 ml alınarak distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

Yöntem :

1. Standart tübüne 0.5 ml kalsiyum standart solusyonu, 0.5 ml % 25 KOH solusyonu ve 2 damla indikatör konuldu (pembe renk oluşmalı).

2. Pipete çekilen EDTA çalışma solusyonu standart tübüne damla damla akıtılarak titre edildi ve rengin maviye döndüğü andaki sarfiyat kaydedildi.

3. Örnek tüblerine 0.5 ml örnek (idrara veya plazma), 0.5 ml KOH solusyonu ve 2 damla indikatör konuldu.

4. EDTA çalışma solusyonu ile her örnek titre edilerek sarfiyatlar kaydedildi.

5. Her örnek için aşağıdaki formülden kalsiyum miktarı belirlendi.

$$\frac{\text{Numune sarfiyatı}}{\text{Standart sarfiyatı}} X = \dots \text{ mg/100 ml}$$

Fosfor :

İnorganik fosfat molibdik asit ile reaksiyona girerek fosfomolibdik kompleksi oluşturur. Alkali ortamda bu kompleksin mavi renk meydana getirmesi nedeniyle, bu rengin kolorimetrik olarak ölçümü esas alındı.

Gereç :

1. Pipet (50 µl, 1 ml, 2 ml).
2. Laboratuvar saati.
3. Spektrofotometre (680 nm).
4. Tüp karıştırıcısı (Whirlimixer).

Çalışma solusyonları :

Çalışma solusyonu : Kitin içindeki fosfo - crom molybdic ile fosfo - crom reductant eşit hacimlerde karıştırıldı.

Fosfo - crom developer : Olduğu gibi kullanıldı.

Phosphorus - chloride standart : 5 mg fosfor / 100 ml, 100 meq klorid / litre.

Yöntem :

1. Üç tüp olarak üzerlerine blank, standart ve örnek yazıldı.
2. Ö tübüne 50 µl örnek (idrar veya plazma) konuldu.
3. S tübün 50 µl standart konuldu.
4. Her tüpe 2 ml çalışma solusyonu ilave edildi.
5. Tüpler iyice karıştırılarak oda ısısında 10 dakika bekletildi.
6. Her tüpe 1 ml developer ilave edildi.

7. Tüpler iyice karıştırılarak oda ısısında 10 dakika bekletildi.
8. Spektrofotometrede 680 nm de örneklerin absorpsiyonu (A) okunarak aşağıdaki formülden hesaplandı.

$$\frac{A \text{ örnek}}{A \text{ standart}} \times 5 = \dots \text{mg} / 100 \text{ ml}$$

Ürik asit :

Uricase enzimi ürik asitin allantoin ve H₂O₂ oksidasyonunu katalizler. Meydana gelen H₂O₂ de peroksidaze katalizörlüğünde diklorofenol ve ampirone ile kırmızı renkte quinone oluşumuna neden olur. Oluşan bu kırmızı rengin kolorimetrik olarak ölçümü esas alındı.

Gereç :

1. Pipet (50 µl, 2 ml).
2. Laboratuvar saati
3. Spektrofotometre (520 nm)
4. Tüp karıştırıcısı (Whirlimixer)

Çalışma solusyonları :

Ürik asit standart : 6 mg/ 100 ml.

Çalışma solusyonu : Kitin içinden çıkan Uric enzymatic / 250 viallerinden birini 25 ml Buffer reagen konuldu, iyice çalkalanıp çözünmesi sağlandıktan sonra içinde 225 ml Buffer reagent kalmış olan buffer şişesine dökülerek iyice çalkalandı.

Yöntem :

1. Üç tüp alarak üzerlerine blank, standart ve örnek yazıldı.
2. B tübüne 50 µl distile su konuldu.
3. Ö tübüne 50 µl örnek (idrara veya plazma) konuldu.
4. S tübüne 50 µl standart konuldu.

5. Her tübe 2 ml çalışma solusyonu konuldu.
6. Tüpler iyice karıştırılarak oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.
7. 520 nm ye ayarlı spektrofotometrede örnekler ve standartın absorbanları okunarak aşağıdaki formülden miktar hesaplandı.

$$\frac{A \text{ örnek}}{A \text{ standart}} \times 6 = \dots \text{mg/100 ml.}$$

Transaminazlar (SGOT, SGPT) :

SGOT ve SGPT glutamik asitin amino grubunun oxalacetic asit ve pirüvik asite transferini katalizler. Belirli bir peryotta oxalacetic asit ve pirüvik asit oluşumunun ölçümü esas alındı.

Gereç :

1. Pipet (100 µl, 1000 µl, 10 ml).
2. Termostatik su banyosu (37°C)
3. Spektrofotometre (505 nm).
4. Laboratuvar saati.
5. Tüp karıştırıcısı (Whirlimixer).

Çalışma solusyonları :

GOT substrate : 100 ml / 1 aspartate, 2 mmol / 1 ketoglutarate,
pH = 7.4

GPT substrate : 200 ml/ 1 alanine, 2 mmol / 1 ketoglutarate,
pH = 7.4

DNPH : 1 mmol / 1 2.4 - Dinitrophenylhidrazine

0.4 N NaOH : 1 vialı 1000 ml disile suda çözüldü.

Pyruvic standart : Olduğu gibi kullanıldı.

Yöntem :

1. Örnek sayısı kadar GOT ve GPT tübü hazırlandı.
2. GOT tüplerine 500 µl GOT substrat konuldu ve 37°C de 5 dakika inkübe edildi.
3. Üzerlerine 100 µl plazma konularak iyice karıştırıldı ve su banyosuna yerleştirildi.
4. GOT tüplerine substrat konulduktan yarım saat sonra GPT tüplerine 500 µl GPT substratı konularak 37°C de 5 dakika inkübe edildi.
5. GPT tüplerine 100 µl plazma konularak iyice karıştırıldı ve su banyosuna yerleştirildi.
6. Yarım saat sonra bütün tüpler su banyosundan çıkarıldı. Böylece GOT tüpleri 1 saat, GPT tüpleri 1/2 saat inkübe edilmiş oldu.
7. Bütün tüplere 500 µl DNPH konulup iyice karıştırılarak 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.
8. 505 nm ye ayarlı spektrofotometrede bütün örneklerin transmittansları (T) okunarak daha önce hazırlanan standart tablolarından SGOT ve SGPT aktiviteleri tayin edildi.

Çizelge 3.2. SGOT ve SGPT standart tabloları.

		SGOT									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
10	-	-	-	-	-	140	122	116	93	85	
20	76	69	63	58	53	50	46	42	39	37	
30	34	31	29	27	25	23	20	18	16	14	
40	13	11	10	9	8	7	6	5	4.4	4	
50	3	2	1	0	-	-	-	-	-	-	

		SGPT									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
10	-	-	-	-	-	108	93	82	75	70	
20	67	60	55	52	48	45	42	39	36	33	
30	31	29	27	26	24	23	21	20	18	16	
40	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	
50	5	3.5	3	2	1	0	-	-	-	-	

3.1.2. İdrarda kristal sayısı :

Her idrar örneği iyice karıştırıldıktan sonra 1 lam üzerine, ayrı noktalara birer damla idrar koyup üzerleri lamel ile örtüldü. 40' lık objektif ile her damlada rastgele 20 sahadaki kristallerin sayısı tesbit edildi. Böylece o lamda elde edilen 40 sayımın ortalaması o idrar örneği için kristal sayısı olarak kabul edildi.

3.1.3. Böbreklerin histopatolojik incelemeye hazırlanması :

3.1.3.1. Kesitlerin hazırlanması :

Deneydeki sıçanlardan alınan böbreklerin histopatolojik incelemeye hazırlanması 3 aşamada gerçekleştirildi. Bu aşamalardan boyama işlemine kadar şu çözeltiler kullanıldı.

1. Tamponlu nötral formalin : 4 g NaHPO_4 ile 6.5 g Na_2HPO_4 900 ml distile suda çözüldü, üzerine 100 ml formaldehit eklendi.
2. Sıvı parafin : Katı haldeki parafin 56°C etüvde eritilerek süzüldü ve etüvde muhafaza edildi.
3. Parafin / ksilol : Sıvı parafin ile ksilol 50 / 50 (v/v) oranında karıştırılarak etüvde muhafaza edildi.
4. Albumin / gliserin : Yumurta akı ve gliserin 50 / 50 (v/v) oranında karıştırılarak üzerine küçük bir timol kristali konuldu.
5. Alkol
6. Ksilol

A) Böbreklerin tesbiti :

Deney ve kontrol gruplarına ait sıçanların böbrekleri çıkarıldıktan sonra, uzunlamasına tek seferde, bistüri ile kesilerek herber parçası ayrı ayrı gazlı bezlere sarıldı. Gazlı bezin açılmaması için uç kısmı düğümlendi ve böbrek parçaları % 10 tamponlu nötral formaline konuldu.

B) Böbreklerin takibi :

1. Birkaç gün nötral formalinde bekletilen parçalar 3 saat akar suda yıkandı,

2. Sudan çıkarılan parçalar içlerinde aşağıda belirtilen alkol ve ksilol serileri bulunan şalelelerden belirli sürelerde geçirildiler :

1. şale	% 80 alkol	1 saat
2. şale	% 90 alkol	1 saat
3. şale	% 90 alkol	1 saat
4. şale	% 96 alkol	1 saat
5. şale	% 96 alkol	1 saat
6. şale	absolü alkol	1.5 saat
7. şale	absolü alkol	1.5 saat
8. şale	ksilol	15 dakika
9. şale	ksilol	15 dakika

3. Alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek suyu ve yağı alınan parçalar parafin / ksilol karışımına konularak 56°C etüvde 30 dakika bekletildi.

4. Bu karışımdan alınan parçalar saf parafine alınarak 56°C etüvde 12 saat bekletildi.

C) Bloklama ve kesit alma :

1. Hazırlanan kağıt kalıplara yerleştirilen böbrek parçalarının üzerine etüvdeki temiz parafin dökülerek hızlı bir şekilde donmasını sağlamak için buz üzerine yerleştirildi.

2. Parafin katılaştıktan sonra kağıt kalıplardan çıkarılarak mikrotom ile 5 ve 10 mikronluk kesitler alındı, kesitler dokuların düzelmesini sağlamak için 40°C su banyosuna konuldu.

3. Su içindeki kesitler, daha önce üzerlerine albumin / gliserin sürülmüş lamlara düzgün olarak yerleştirildi. Bütün lamlar bir mapeye konulara 60°C etüve yerleştirildi.

3.1.3.2. Kesitlerin boyanması :

5 mikron kalınlıkta hazırlanan kesitler histopatolojik inceleme için hematoksilin - eosin (6,45), 10 mikronluk kesitlerde böbrekte kristal oluşup oluşmadığını incelemek için modifiye Von Kossa'nın gümüş nitrat (6,45) ve Gomori'nin gümüş nitrat (25) metodları ile boyandı.

A) Hematoksilen - eozin boyama yöntemi :

Kullanılan çözelti ve boyalar :

Hematoksilin boyası : 5 g hematoksilin 50 ml absöü alkolde ısıtılarak eritildi. 50 g amonyum - aliminyum sülfat 1000 ml distile suda ısıtılarak eritildi. Bu iki çözelti karıştırılıp balon içinde 5 dakika kaynatıldı. Ateşten indirilip içine yavaş yavaş 250 mg mercury (II) oxide red ilave edildi ve çabucak soğumaya bırakıldı. Kullanılacağı zaman bu stok çözeltinin 100 ml sine 4 ml asetik asit eklendi.

Eozin boyası : 2 g eozin, 150 ml distile su, 35 ml % 96 alkol, 17.5 ml asetik asit sırayla karıştırıldı.

Boyama :

1. Üzerinde tesbit edilmiş böbrek kesiti bulunan lamalar aşağıda belirtilen serilerden belirtilen sürelerde geçirilerek boyama işlemi gerçekleştirildi.

Ksilol	10 dakika
Absöü alkol	2 dakika
Absöü alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
Çeşme suyunda yıkama	2 dakika
Hematoksilin boyası	10 dakika
Çeşme suyunda yıkama	2 dakika

Eozin boyası	3 dakika
% 80 alkol	1 dakika
% 90 alkol	1 dakika
% 96 alkol	1 dakika
Absolü alkol	2 dakika
Ksilol	15 dakika

2. Boyanan kesitler entellan ile kapatılıp, lamın kenarına etiket yazıldı ve preparat incelemeye hazır hale getirildi.

3. Preparatlar ışık mikroskobu ile incelenerek tayin edilen bulguların mikrofotografı çekildi.

B) Von Kossa gümüş nitrat boyama yöntemi :

Kullanılan çözelti ve boyalar :

% 1 aquous gümüş nitrat : 1 g gümüş nitrat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 2.5 sodyum thiosülfat : 2.5 g sodyum thiosülfat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 1 safranin : 1 g safranin distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

Boyama :

1. Üzerinde tesbit edilmiş böbrek ve boyanın tutup tutmadığını kontrol için kullandığımız, içinde kalsiyum fosfat taşı olan prostat kesitleri bulunan lamlar aşağıda belirtilen serilerden belirtilen sürelerde geçirilerek boyama işlemi gerçekleştirildi.

Ksilol	10 dakika
Absolü alkol	2 dakika
Absolü alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
Distile suda yıkama	5 - 10 dakika

Gümüş nitrat çözeltisi	10 - 60 dakika (kuvvetli güneş ışığı altında devamlı olarak mikroskop ile gümüşün tutup tutmadığı gözlemlendi).
Distile su	3 kere yıkama
Sodyum thiosülfat	5 dakika
Distile su	3 kere yıkama
Safranin	3 dakika
Çeşme suyunda yıkama ...	2 dakika
% 80 alkol	1 dakika
% 90 alkol	1 dakika
% 96 alkol	1 dakika
Absolü alkol	2 dakika
Ksilol	15 dakika

2. Boyanan kesitler entellan ile kapatılıp, lamın kenarına etiketi yazıldı ve preparat incelemeye hazır hale getirildi.

3. Preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek mikrofotografları çekildi.

C) Gomori gümüş nitrat boyama yöntemi :

Kullanılan çözelti ve boyalar :

% 5 aquous gümüş nitrat : 5 g gümüş nitrat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 0.5 aquous hidrokinone : 0.5 g hidrokinone distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 5 sodyum thiosülfat : 5 g sodyum thiosülfat distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

% 1 safranin : 1 g safranin distile su ile 100 ml ye tamamlandı.

Boyama :

1. Üzerinde tesbit edilmiş böbrek ve boyanın tutup tutmadığını kontrol için kullandığımız, içinde kalsiyum fosfat taşı olan prostat kesitleri

bulunan lamalar aşağıda belirtilen serilerden belirtilen sürelerde geçirilerek boyama işlemi gerçekleştirildi.

Ksilol	10 dakika
Absolü alkol	2 dakika
Absolü alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 96 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
% 90 alkol	2 dakika
Distile suda yıkama	2 - 3 kere batıp çıkma
Gümüş nitrat çözeltisi	5 - 30 dakika (karanlıkta devamlı olarak mikroskop ile gümüşün tutup tutmadığı gözlendi).
Distile suda yıkama	2 - 3 kere batıp çıkma
Hidrokinone	2 dakika (güneş ışığı altında)
Distile suda yıkama	2 - 3 kere batıp çıkma
Sodyum thiosülfat	1 dakika
Distile suda yıkama	2 - 3 kere batıp çıkma
Safranin	3 dakika
% 80 alkol	1 dakika
% 80 alkol	1 dakika
% 90 alkol	1 dakika
% 96 alkol	1 dakika
Absolü alkol	2 dakika
Ksilol	15 dakika

2. Boyanan kesitler entellan ile kapatılıp, lamın kenarına etiketleri yazıldı ve preparatlar incelemeye hazır hale getirildi.

3. Preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek mikrofotoları çekildi.

4. B U L G U L A R

Yapılan bu çalışma sonucu elde edilen bulgular birkaç bölümde ele alınarak sunulacaktır.

4.1. Morfolojik Bulgular :

4.1.1. Vücut ağırlığı :

Çizelge 4.1.1. ve Şekil 4.1.1 de görüldüğü gibi,

Kontrol grubunda deney süresince her 10 günde bir yapılan tartım sonucu, meydana gelen 9.2 g (% 4.1) artış istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p < 0.001$).

II. deney grubu olan AC grubunda ; başlangıçta 217.0 ± 2.62 olan vücut ağırlığı 20. güne kadar önemsiz bir düşme gösterdi ($p > 0.05$) fakat 30. günden itibaren bu düşüş oldukça artarak ($p < 0.001$), 50. gün hayvanların ortalama vücut ağırlığı 178.2 ± 1.0 a indi. Deney başlangıcı ile sonu arasındaki fark 38.8 g (% 17.8) olup bu düşüş günler arasında istatistiksel açıdan çok önemli bulundu ($p < 0.001$).

III. deney grubu olan NH_4Cl grubunda; başlangıçta 189.4 ± 4.4 olan vücut ağırlığı devamlı bir artış göstererek 212.4 ± 7.6 g a ulaştı ve bu artış önemli bulundu ($p < 0.001$). Fakat 30. günden itibaren az da olsa bir düşüş göstererek 206.0 ± 7.8 g'a indi ($p > 0.05$). 50. günü 1. gün ile karşılaştırırsak 30. günden itibaren ağırlıkta bir düşme söz konusu isede genelde 16.6 g (% 8.8) bir artış vardır ki bu artış kontrol grubundaki artıştan fazla olup (7.4 g) önemli bulundu ($p < 0.001$).

IV. grup olan AC ile NH_4Cl 'in birlikte verildiği grupta; sadece NH_4Cl verilen grupta olduğu gibi ağırlık 30. günde 222.4 ± 3.6 g olmak üzere giderek önemli düzeyde arttı ($p < 0.001$) fakat bundan sonraki günlerde de önemli düzeyde düşerek ($p < 0.001$) 50. gün 196.2 ± 2.3 g olmak üzere başlangıçtaki ağırlığın altına indi. Bu düşüş 14 g (% 6.7) kadar olup II. gruba göre nisbeten daha azdır.

Çizelge 4.1.1. Deney süresince grupların günlere göre ağırlıkları (g).

- a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x^-$	10.gün $\bar{x} \pm s_x^-$	20.gün $\bar{x} \pm s_x^-$	30.gün $\bar{x} \pm s_x^-$	40.gün $\bar{x} \pm s_x^-$	50.gün $\bar{x} \pm s_x^-$
I Kontrol	10	226.8±4.2	228.8±4.2	228.4±4.3	232.6±5.0	234.0±5.4	235.8±5.5
II AC	10	217.0±2.6	214.4±2.3	212.6±2.1	209.4±2.4	199.4±2.1	178.2±1.0
III NH ₄ Cl	10	189.4±4.4	203.6±6.3	206.4±6.5	212.4±7.6	208.6±7.6	206.0±7.8
IV AC + NH ₄ Cl	10	210.2±2.7	212.6±2.6	218.6±3.6	222.4±3.6	217.6±3.5	196.2±2.6

a

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	B	B	B
II	10	D	D	CD	C	B	A
III	10	A	B	B	B	B	B
IV	10	B	B	D	D	CD	A

I. A= p>0.05
B= p<0.001

II. A= p>0.05 C= p<0.01
B= p<0.05 D= p<0.001

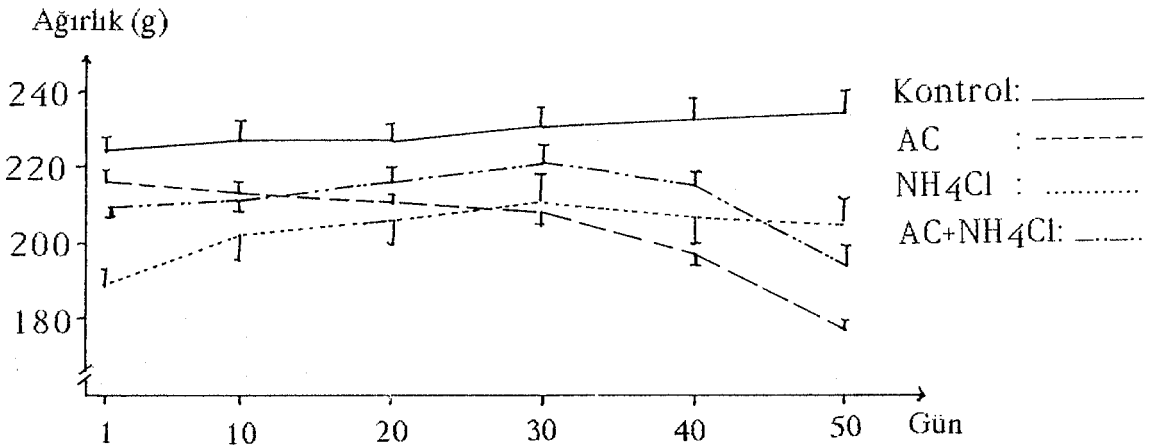
III. A= p>0.05
B= p<0.001

IV. A= p>0.05 C= p<0.01
B= p<0.05 D= p<0.001

b

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	C	B	B	B	B	C
II	10	BC	AB	AB	A	A	A
III	10	A	A	A	A	A	B
IV	10	B	A	AB	AB	AB	AB

1. A= p>0.05 10. A= p>0.05 20. A= p>0.05 30. A= p>0.05 40. A= p>0.05 50. A= p>0.05
B= p<0.05 B= p<0.01 B= p<0.01 B= p<0.01 B= p<0.01 B= p<0.05
C= p<0.001 C= p<0.001 C= p<0.001



Şekil 4.1.1. Deney süresince grupların günlere göre ağırlık değişimleri.

4.2. Biyokimyasal Bulgular :

24 saatlik idrar hacmi, idrar pH'sı ve spektrofotometrik olarak ölçülen idrar kreatinin, üre azotu, kalsiyum, fosfor, ürik asit ile 50. gün alınan kanda ölçülen plazma kreatinin, BUN, kalsiyum, fosfor, ürik asit ve enzimlerden SGOT, SGPT ve ALP ölçümü sonuçları.

4.2.1. İdrar hacmi :

Tablo 4.2.1 ve Şekil 4.2.1 de görüldüğü gibi, kontrol grubundan toplanan idrar hacimleri günler arasında istatistiksel açıdan önemli fark göstermedi ($p>0.05$).

II. grupta ilk günden itibaren 20. güne kadar idrar miktarında kontrol gruba göre önemli artış oldu, bu artış 20. gün en yüksek düzeye ulaştı ($p<0.001$). Bundan sonraki günlerde devamlı bir azalma görüldü ve 50. gün ilk günkü miktara yaklaştı. Tüm günlerde belirlenen artışlar kontrol değerlere göre önemli görüldü ($p<0.01$).

III. grupta idrar hacmi kendi içinde günlere ve kontrole göre önemli bir farklılık göstermedi ($p>0.05$).

IV. grupta ise idrar hacmi 1. gün bütün gruplara göre önemli düzeyde bir artış gösterdi ($p<0.001$). Bu artış 10. güne kadar sürdü, 20. ve 30. günlerde istatistiksel açıdan önemsiz bir düşüş gösterdi, 40. gün tekrar artarak 10. günkü miktara yaklaştı, 50. gün tekrar düştü. Bu artış ve düşüşler grup içinde günlere göre önemli bulunmadı ($p>0.05$). Diğer gruplarla karşılaştırıldığında II. grubun 20. günü hariç hepsinden yüksek bulundu.

4.2.2 pH :

Tablo 4.2.2 ve Şekil 4.2.2 de görüldüğü gibi,

Kontrol grubunda günler arasında idrar pH sı önemli bir farklılık göstermedi ($p>0.05$).

II. grupta pH ilk gün bütün gruplara göre önemli düzeyde alkali tarafa (7.76) kaydı ($p<0.001$), fakat 10. gün önemli ölçüde düştü, .

Çizelge 4.2.1. Deney süresince grupların günlere göre idrar hacımları (ml).

- a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	4.52±0.2	4.60±0.4	4.92±0.2	4.86±0.4	5.18±0.4	5.52±0.4
II AC	10	6.20±0.1	8.80±0.2	10.58±0.6	8.36±0.2	8.08±0.3	7.36±0.1
III NH ₄ Cl	10	4.96±0.2	5.46±0.2	5.72±0.1	5.36±0.2	5.40±0.2	4.92±0.2
IV AC + NH ₄ Cl	10	7.58±0.5	10.26±0.7	8.98±0.4	8.98±0.3	10.08±1.1	8.64±0.7

a

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	A	B	D	B	B	AB
III	10	A	A	A	A	A	A
IV	10	A	B	B	B	B	AB

I. A= p>0.05

II. A= p>0.05
B= p<0.01

D= p<0.001

III. A= p>0.05

IV. A= p>0.05
B= p<0.05

b

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	AB
II	10	B	B	C	B	B	B
III	10	A	A	A	A	A	A
IV	10	C	B	B	B	B	B

I. A= p>0.05
B= p<0.01
C= p<0.001

10. A= p>0.05

B= p<0.001

C= p<0.001

20. A= p>0.05

B= p<0.01

C= p<0.001

30. A= p>0.05

B= p<0.001

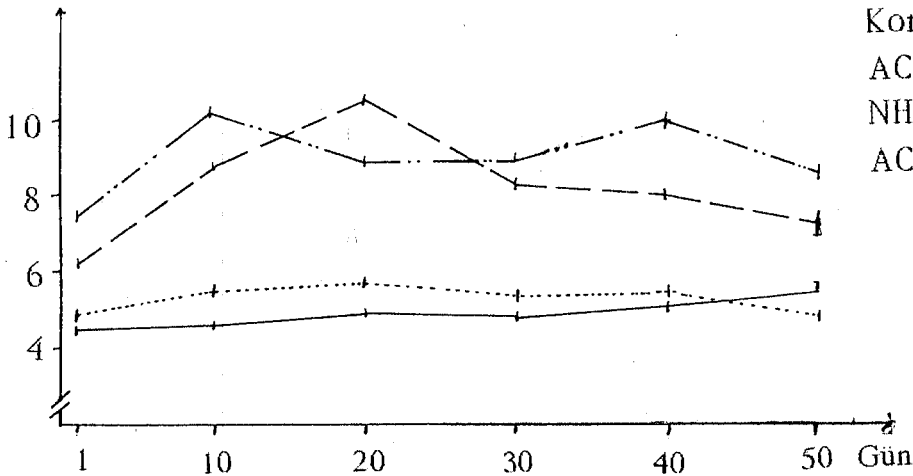
40. A= p>0.05

B= p<0.001

50. A= p>0.05

B= p<0.001

İdrar hacmı (ml)



Şekil 4.2.1. Deney süresince grupların günlere göre idrar hacımları.

Çizelge 4.2.2. Deney süresince grupların günlere göre idrar pH'ları.

- a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1.gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	6.78±0.06	6.76±0.03	6.66±0.05	6.82±0.04	6.76±0.05	6.74±0.05
II AC	10	7.76±0.15	7.26±0.07	7.20±0.05	7.14±0.05	6.98±0.06	6.92±0.09
III NH ₄ Cl	10	6.50±0.09	6.38±0.02	6.24±0.03	6.26±0.03	6.22±0.02	6.24±0.07
IV AC + NH ₄ Cl	10	6.82±0.06	6.78±0.06	6.62±0.08	6.80±0.03	6.44±0.06	6.48±0.09

a

GRUPLAR	n	1.gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	D	A	A	A	A	A
III	10	B	AB	A	A	A	A
IV	10	B	B	AB	B	A	A

I. A= p>0.05

II. A= p>0.05 D= p<0.001

III. A= p>0.05

B= P<0.01

IV. A= p>0.05

B= p<0.001

b

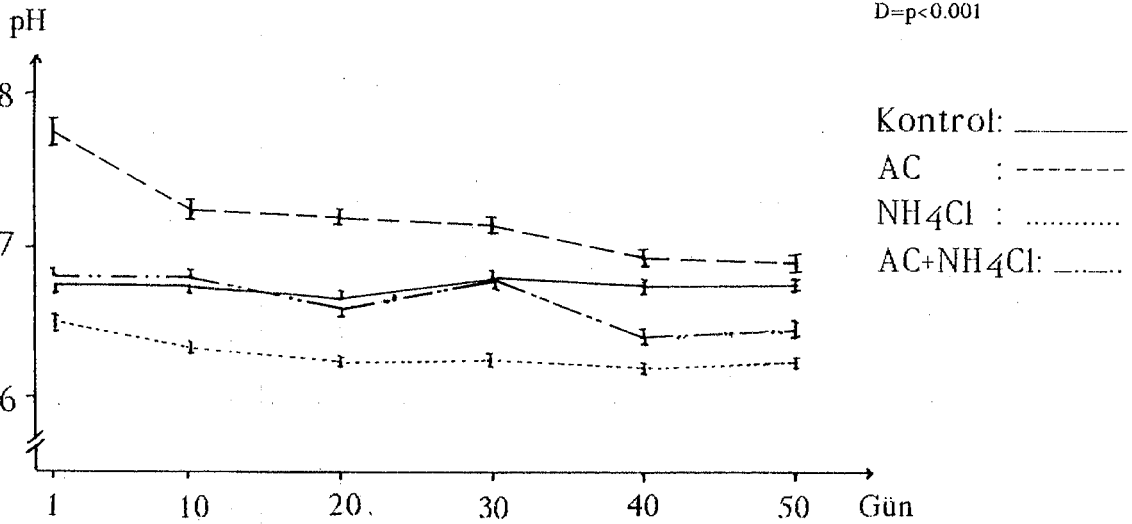
GRUPLAR	n	1.gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	B	B	B	C	B
II	10	D	C	C	C	D	B
III	10	A	A	A	A	A	A
IV	10	A	B	B	B	B	AB

1. A= p>0.05 10. A= p>0.05 20. A= p>0.05 30. A= p>0.05 40. A= p>0.05 50. A= p>0.05
D= p<0.001 B= p<0.05 B= p<0.01 B= p<0.01 B= p<0.05 B= p<0.001

C= p<0.001

C= p<0.001

C= p<0.001

C= p<0.01
D= p<0.001

Şekil 4.2.2. Deney süresince grupların günlere göre idrar pH'ları.

bu düşüş devam ederek 40. gün pH 7 nin altına indi, 50. gün pH 6.92 ± 0.09 oldu. Sonuçta 1. ve 50 gün arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulundu ($p < 0.001$).

III. grupta 1. gün 6.50 ± 0.09 olan pH, 20 gün 6.24 ± 0.03 oldu aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.05$), daha sonraki günlerde bu asidik seviyede devam etti. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, beklenildiği gibi bütün günlerde kontrole göre daha asidik değerler elde edildi.

IV. grupta pH başlangıçta 6.82 ± 0.06 olup, 30. güne kadar değişmedi, 40. gün ise 6.44 ± 0.06 oldu, aradaki 0.38 lik fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.05$), daha sonraki günler bu değer değişmeden kaldı.

4.2.3. Kreatinin :

Çizelge 4.2.3 ve Şekil 4.2.3 de görüldüğü gibi,

Kontrol grubunda en düşük 68.2 ± 1.3 , en yüksek 70.6 ± 1.0 olan kreatinin değeri günlere göre önemli bir fark göstermedi ($p > 0.05$).

II. grupta 1. gün kontrol ile hemen hemen aynı olan kreatinin seviyesi (69.6 ± 1.0), 20. güne kadar önemli düzeyde (56.2 ± 2.5) düştü ($p < 0.001$), daha sonraki günler yükselerek 40. gün kontrol grubu seviyesine yükseldi.

III. grupta ilk gün yüksek olan kreatinin değeri (81.2 ± 2.6), 10. gün önemli ölçüde düşerek ($p < 0.05$) diğer günlerde de bu seviyede devam etti. İlk günkü bu artış diğer deney grupları ve kontrol grubuna göre önemli bulundu ($p < 0.001$).

IV. grupta 1. günden 30. güne kadar kendi içinde istatistiksel yönden önemsiz ($p > 0.05$) olmakla birlikte devamlı bir düşme, 30. günden sonra ise devamlı ve önemli bir yükselme oldu ($p < 0.05$). Bu değerler kontrol ve III. gruba göre 10. ve 30. günlerde önemli düzeyde ($p < 0.05$) düşme göstermesine karşılık II. grup değerleri ile paralel seyretti.

Çizelge 4.2.3. Deney süresince grupların günlere göre kreatinin seviyeleri (mg/100 ml).

a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x$	10. gün $\bar{x} \pm s_x$	20. gün $\bar{x} \pm s_x$	30. gün $\bar{x} \pm s_x$	40. gün $\bar{x} \pm s_x$	50. gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	70.2 ± 0.7	69.8 ± 0.9	68.2 ± 1.3	70.6 ± 1.0	68.4 ± 1.5	70.0 ± 0.6
II AC	10	69.6 ± 1.0	64.6 ± 1.0	56.2 ± 2.5	58.6 ± 3.3	73.0 ± 1.9	67.2 ± 1.8
III NH ₄ Cl	10	81.2 ± 2.6	73.0 ± 2.0	76.2 ± 2.6	74.8 ± 2.0	75.2 ± 2.0	76.8 ± 1.8
IV AC + NH ₄ Cl	10	64.4 ± 1.3	57.6 ± 2.4	60.8 ± 2.1	55.4 ± 4.2	63.2 ± 0.7	66.0 ± 1.6

a

GRUPLAR	n	1. gün	10. gün	20. gün	30. gün	40. gün	50. gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	B	AB	A	A	B	B
III	10	B	A	AB	AB	AB	AB
IV	10	AB	AB	AB	A	AB	B

I. A= p>0.05

II. A= p>0.05
B= P<0.001III. A= p>0.05
B= P<0.05IV. A= p>0.05
B= P<0.05

b

GRUPLAR	n	1. gün	10. gün	20. gün	30. gün	40. gün	50. gün
I	10	A	BC	B	B	AB	A
II	10	A	B	A	A	BC	A
III	10	B	C	B	B	C	B
IV	10	A	A	AB	A	A	A

1. A= p>0.05
B= p<0.001

10. A= p>0.05
B= p<0.05
C= P<0.001

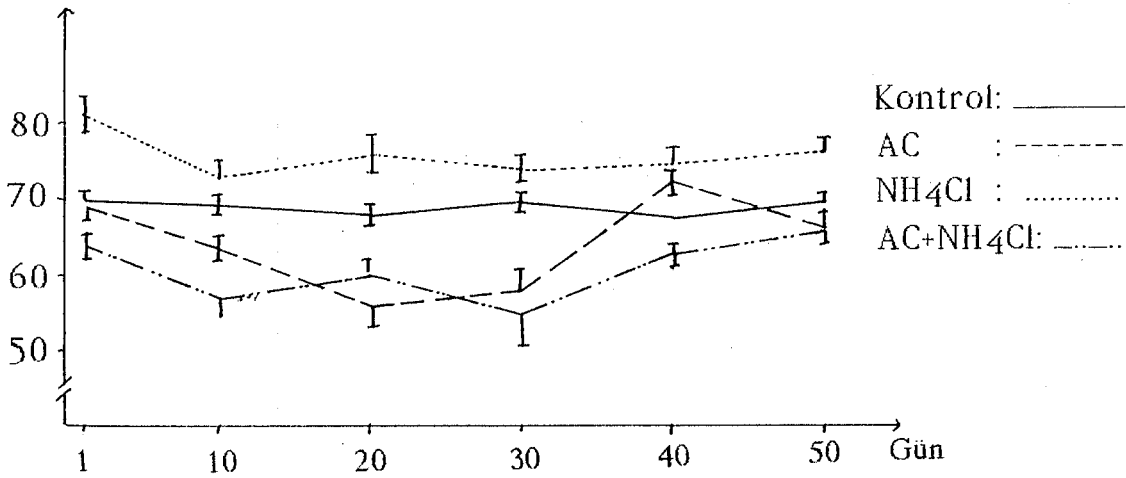
20. A= p>0.05
B= p<0.001

30. A= p>0.05
B= p<0.001

40. A= p>0.05
B= p<0.05
C= P<0.001

50. A= p>0.05
B= p<0.001

Kreatinin (mg/100 ml)



Şekil 4.2.3. Deney süresince grupların günlere göre kreatinin seviyeleri.

4.2.4. Üre azotu :

Çizelge 4.2.4 ve Şekil 4.2.4 de görüldüğü gibi.

Kontrol grubunda günlere göre bazı düşme ve yükselmeler olmuşsa da bu düşme ve yükselmeler önemsiz bulundu ($p>0.05$).

II. grupta 1. gün, kontrol grubundan daha düşük bir seviyede fakat istatistiksel yönden önemsiz olan ($p>0.05$) üre azotu değeri 20. güne kadar önemli ölçüde düşme gösterdi ($p<0.001$), bu günden itibaren önemli ölçüde artarak ($p<0.001$) 50. gün kontrol değerlerinde üzerine çıktı.

III. grupta, 1. günkü değerler 20. güne kadar önemli düzeyde düşerek ($p<0.05$) kontrol değerlere iyice yaklaştı, bunu takip eden günlerde tekrar önemli düzeyde artma gösterdi ($p<0.05$).

IV. grupta üre azotu 1. gün kontrole göre düşük olmakla birlikte istatistiksel yönden fark göstermedi ($p>0.05$), fakat 20. güne kadar devamlı ve 20. gün önemli düzeyde düştü ($p<0.001$), bundan sonra tekrar artarak 50. gün kontrol grubu seviyesine çıktı.

4.2.5. Kalsiyum :

Çizelge 4.2.5 ve Şekil 4.2.5 de görüldüğü gibi.

Kontrol grubunda 16.2 ± 2.0 ile 17.6 ± 1.3 arasında olan kalsiyum değerleri günler arasında önemli bir farklılık göstermedi ($p>0.05$).

II. grupta ilk gün kontrole göre önemli düzeyde ($p<0.05$) düşük olan değerler 20. güne kadar önemsiz düzeyde de olsa yükselme gösterdi ($p>0.05$), bu yükselme 40. güne kadar azaldı, 50. gün artarak kontrol değerler seviyesine çıktı. Kalsiyumun 1. ve 50. günkü değerleri arasındaki fark önemli olup ($p<0.05$) diğer günlerdeki düşme ve yükselmeler önemsiz bulundu ($p>0.05$).

III. grupta 30. güne kadar kendi içinde aynı fakat kontrole göre yüksek olan kalsiyum değerlerinde 30. günden itibaren önemli düzeyde bir artış görüldü ($p<0.05$).

IV. grupta ilk gün bütün gruplardan düşük olan kalsiyum seviyesi 10. gün önemli ölçüde düştü ($p<0.05$), bunu takip eden günlerde önemli düzeyde artarak ($p<0.001$) 50. gün III. grubun seviyesine çıktı.

Çizelge 4.2.4. Deney süresince grupların günlere göre üre azotu seviyeleri (mg/100 ml).

a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,

b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	1960±74.8	1768±95.1	1840±35.5	1748±45.9	1796±42.3	1930±61.2
II AC	10	1792±101.5	1460±30.7	1040±26.0	1352±43.0	1416±58.0	2024±108.4
III NH ₄ Cl	10	2084±62.3	1988±53.9	1860±73.6	1936±32.5	2072±29.4	2216±44.1
IV AC + NH ₄ Cl	10	1688±126.8	1444±53.7	1264±47.2	1524±67.8	1404±124.5	1996±87.4

a

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	C	B	A	B	B	C
III	10	B	AB	A	AB	B	B
IV	10	B	AB	A	AB	AB	B

I. A= p>0.05

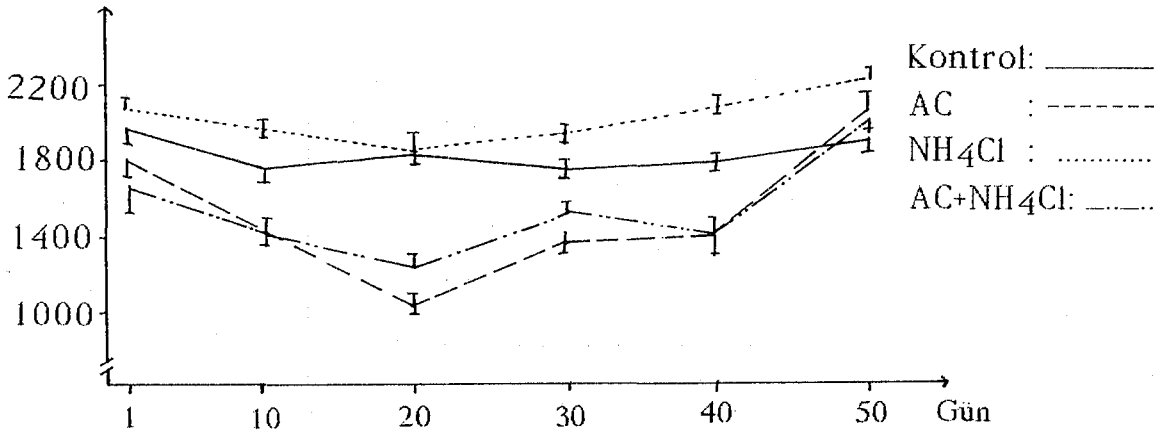
II. A= p>0.05 C= p<0.001
B= p<0.05III. A= p>0.05
B= p<0.001IV. A= p>0.05
B= p<0.001

b

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	AB	B	D	B	A	A
II	10	A	A	A	A	A	A
III	10	B	C	D	C	B	A
IV	10	A	A	B	AB	A	A

1. A= p>0.05 B= p<0.05
10. A= p>0.05 B= p<0.01 C= P<0.001
20. A= p>0.05 B= p<0.05 C= p<0.001
30. A= p>0.05 B= p<0.05 C= p<0.001
40. A= p>0.05 B= p<0.001
50. A= p>0.05

Üre azotu (mg/100 ml)



Şekil 4.2.4. Deney süresince grupların günlere göre üre azotu seviyeleri.

Çizelge 4.2.5. Deney süresince grupların günlere göre kalsiyum seviyeleri (mg/100 ml).
a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1.gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	16.8 ± 0.9	16.0 ± 1.3	17.6 ± 1.3	16.6 ± 1.2	16.2 ± 2.0	15.2 ± 1.3
II AC	10	12.6 ± 0.5	13.6 ± 0.8	15.8 ± 1.2	14.4 ± 1.2	14.0 ± 1.3	16.8 ± 1.0
III NH ₄ Cl	10	20.6 ± 0.9	20.6 ± 0.8	19.6 ± 1.4	19.8 ± 0.9	22.6 ± 1.1	24.2 ± 1.0
IV AC + NH ₄ Cl	10	11.2 ± 0.6	6.2 ± 0.6	13.4 ± 1.2	17.4 ± 2.0	19.2 ± 1.1	24.4 ± 1.3

a

GRUPLAR	n	1.gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	A	AB	AB	AB	AB	B
III	10	A	A	A	A	AB	B
IV	10	B	A	BC	C	C	D

I. A= p>0.05

II. A= p>0.05
B= p<0.05III. A= p>0.05
B= p<0.001IV. A= p>0.05
B= p<0.05
C= p<0.01
D= p<0.001

b

GRUPLAR	n	1.gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	B	B	AB	A	A	A
II	10	A	B	AB	A	A	A
III	10	C	C	B	A	B	B
IV	10	A	A	A	A	AB	B

1. A= p>0.05

10. A= p>0.05

20. A= p>0.05

30. A= p>0.05

40. A= p>0.05

50. A= p>0.05

B= p<0.05

B= p<0.01

B= p<0.05

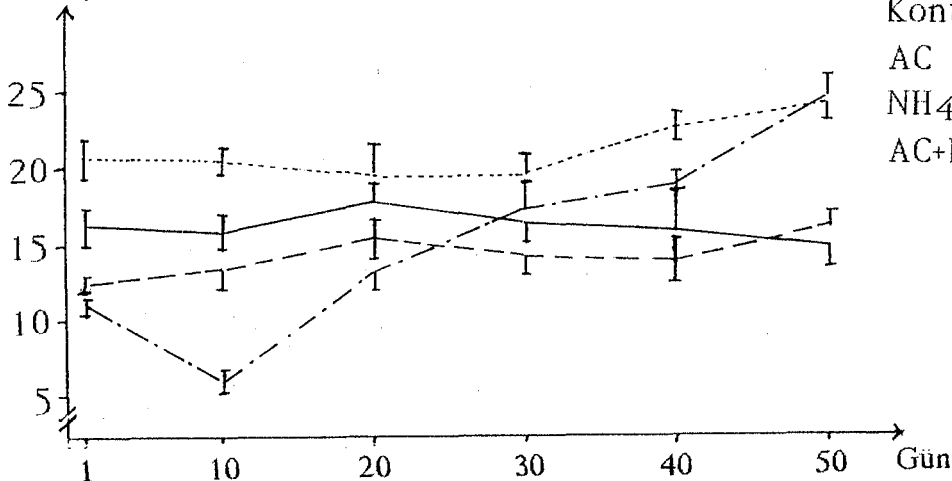
B= p<0.001

B= p<0.001

C= p<0.001

C= p<0.001

Kalsiyum (mg/100 ml)



Kontrol: _____

AC : _____

NH₄Cl : _____AC+NH₄Cl: _____

Şekil 4.2.5. Deney süresince grupların günlere göre kalsiyum seviyeleri.

4.2.6. Fosfor :

Çizelge 4.2.6 ve Şekil 4.2.6 da görüldüğü gibi.

Kontrol grubunda günler arasında önemli bir fark görülmedi ($p>0.05$).

II. grupta 10. gün fosfor seviyesi önemli düzeyde arttı ($p<0.001$), 20. ve 30. günlerde önemli düzeyde düşerek ($p<0.001$) 1. günkü değerinde altına indi, 40. gün tekrar önemli düzeyde artış gösterdi ($p<0.01$).

III. grupta 1. gün kontrol değerinde altında olan fosfor değerleri 50. güne kadar devamlı olarak artış göstermiş olup bu artış istatistiksel olarak kendi içinde günlere göre önemli bulundu ($p<0.001$).

IV. grupta 1. gün kontrole göre daha düşük olan değerler 10. gün önemli düzeyde arttı ($p<0.05$), 20., 30. ve 40. günlerde kontrol grubu değerlerine indi ($p<0.05$), 50. gün ise tekrar önemli düzeyde artış gösterdi ($p<0.01$).

4.2.7. Ürik asit :

Çizelge 4.2.7 ve Şekil 4.2.7 de görüldüğü gibi.

Kontrol grubunda günler arasında önemli bir fark görülmedi ($p>0.05$).

II. grupta 1. gün kontrol grubu seviyesinde olan değerler 30. güne kadar önemli düzeyde düştü ($p<0.05$), bunu takip eden günlerde ise önemsiz düzeyde de olsa bir artış gösterdi ($p>0.05$).

III. grupta 1. gün yüksek olan değerler 10. gün önemli düzeyde düştü ($p<0.001$), daha sonraki günlerde önemsiz düzeydeki düşme ve yükselmelerle 10. günkü değerini sürdürdü.

IV. grupta ise kontrole yakın olan değerler bundan sonraki günlerde kontrolden düşük fakat kendi içlerinde aynı seviyede devam etti.

Çizelge 4.2.6. Deney süresince grupların günlere göre fosfor seviyeleri (mg/100 ml).
a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	103.6±6.5	113.2±9.1	117.8±3.6	111.0±4.3	120.2±4.0	118.8±4.4
II AC	10	111.6±3.6	195.4±6.3	97.6±3.1	93.6±7.4	149.0±8.9	137.6±9.8
III NH ₄ Cl	10	83.6±4.0	102.8±5.1	106.6±4.5	110.0±9.0	197.0±7.1	233.2±7.7
IV AC + NH ₄ Cl	10	81.6±4.7	145.0±11.2	115.6±7.0	115.0±7.0	112.0±4.8	205.2±11.4

a

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	A	D	A	A	C	C
III	10	A	AB	AB	B	C	D
IV	10	A	B	AB	AB	AB	C

I. A= p>0.05

II. A= p>0.05

III. A= p>0.05

C= p<0.01

IV. A= p>0.05

C= p<0.01

B= p<0.05

D= p<0.001

D= p<0.001

b

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	B	A	B	A	A	A
II	10	B	C	A	A	B	A
III	10	A	A	AB	A	C	CD
IV	10	A	B	AB	A	A	C

1. A= p>0.05

10. A= p>0.05

20. A= p>0.05

30. A= p>0.05

40. A= p>0.05

50. A= p>0.05

B= p<0.001

B= p<0.05

B= p<0.05

B= p<0.05

C= p<0.01

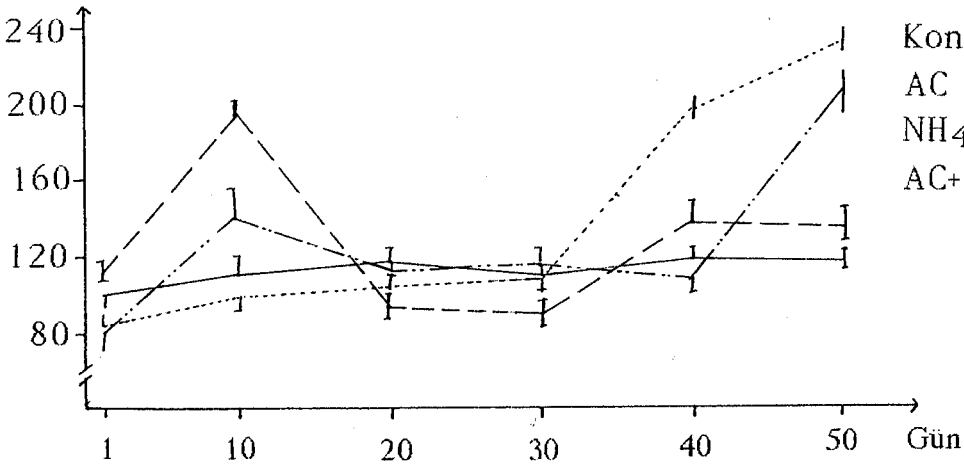
C= p<0.001

C= p<0.001

C= p<0.001

D= p<0.001

Fosfor (mg/100 ml)



Kontrol: _____

AC : - - - - -

NH₄Cl :
AC+NH₄Cl: -

Şekil 4.2.6. Deney süresince grupların günlere göre fosfor seviyeleri.

Çizelge 4.2.7. Deney süresince grupların günlere göre ürik asit seviyeleri (mg/100 ml).

- a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	11.4 ± 0.5	11.0 ± 0.9	10.4 ± 0.9	10.2 ± 0.8	10.4 ± 0.3	10.2 ± 0.7
II AC	10	11.4 ± 0.7	9.0 ± 0.3	8.8 ± 0.7	7.0 ± 0.6	8.2 ± 1.0	9.0 ± 0.7
III NH ₄ Cl	10	16.2 ± 1.7	5.0 ± 0.5	6.8 ± 0.4	5.6 ± 0.3	6.6 ± 0.2	7.2 ± 0.4
IV AC+NH ₄ Cl	10	9.0 ± 0.8	4.6 ± 0.6	6.8 ± 0.7	3.6 ± 0.7	6.4 ± 0.3	7.8 ± 0.4

a

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	B	AB	A	A	A	AB
III	10	D	A	A	A	A	A
IV	10	C	AB	BC	A	B	BC

I. A= p>0.05

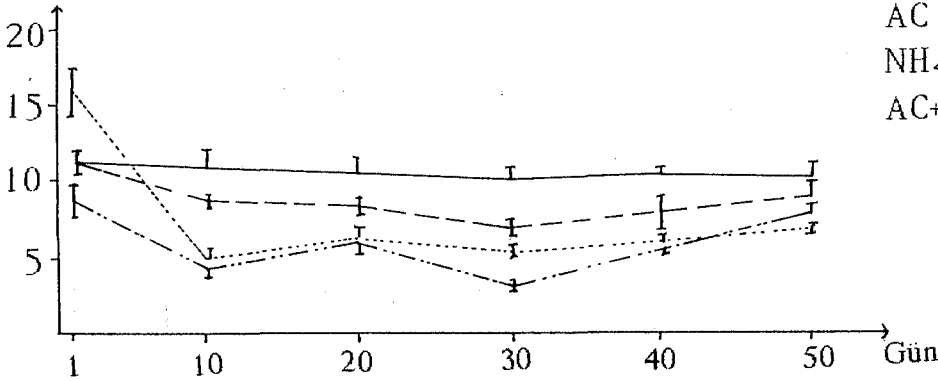
II. A= p>0.05
B= p<0.01III. A= p>0.05
D= p<0.001IV. A= p>0.05
B= p<0.05
C= p<0.001

b

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	B	B	C	B	B
II	10	A	B	AB	B	AB	AB
III	10	B	A	A	AB	A	A
IV	10	A	A	A	A	A	A

1. A= p>0.05 10. A= p>0.05 20. A= p>0.05 30. A= p>0.05 40. A= p>0.05 50. A= p>0.05
B= p<0.001 B= p<0.001 B= p<0.01 B= p<0.05 B= p<0.001 B= p<0.01
C= p<0.001

Ürik asit (mg/100 ml)



Kontrol: _____

AC : - - - - -

NH₄Cl :AC+NH₄Cl: - . - . - .

Şekil 4.2.7. Deney süresince grupların günlere göre ürik asit seviyeleri.

4.3. İdrardaki Kristal Sayısı :

Yapılan mikroskopik incelemelerde bütün grupların idrarlarında kristal olarak magnezyum - amonyum - fosfat kristalleri (Şekil 4.3.1.), ayrıca AC verilen II. grupta 30. günden itibaren, her sıçanın idrarında az da olsa (1 - 3 adet) kalsiyum fosfat kristalleri (Şekil 4.3.2) gözlemlendi.

Kristal sayısını ele aldığımızda, Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3.3 de görüldüğü gibi.

Kontrol grubunda toplanan idrarlardaki kristal sayısı günlere göre 8.2 ± 1.1 ile 13.8 ± 1.1 arasında düşme ve yükselmeler gösterdi. Günler arasındaki bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p > 0.05$).

II. grupta ilk gün oldukça düşük olan kristal sayısı 10. gün önemli düzeyde arttı ($p < 0.01$) ve 20. gün önemli düzeyde düştü ($p < 0.01$). 30., 40. ve 50. günlerde ise devamlı artarak kontrol değerlere ulaştı.

III. grupta 1. gün kontrol grubu kristal sayılarıyla hemen hemen aynı olan değer 10. ve 20. günlerde önemli düzeyde düştü ($p < 0.001$), daha sonraki günlerde az da olsa bir artış gösteridi ($p < 0.05$).

IV. grupta ilk gün kontrol gruba göre önemli ölçüde düşük ($p < 0.01$) olan kristal sayısı 10. gün önemli düzeyde arttı ($p < 0.001$), bunu takip eden günlerde ise önemli düzeyde düşerek ($p < 0.001$) kendi başlangıç seviyesine indi.

4.4. Plazmadaki Spektrofotometrik Ölçümler :

4.4.1. Elektrolit düzeyleri :

Çizelge 4.4.1 de görüldüğü gibi.

Kreatinin düzeyi; her ne kadar AC grubunda diğer gruplara nazaran yüksek bulunmuşsa da bu yükseklik önemli bulunmadı ($p > 0.05$).

BUN düzeyi; kontrol ve II. grupta birbirine çok yakın ve önemsiz ($p > 0.05$) iken III. ve IV. gruplarda ilk iki gruba nazaran önemli düzeyde düşük bulundu ($p < 0.001$).

Kalsiyum düzeyi ; bütün gruplarda hemen hemen aynı seviyede olup istatistiksel olarak önemsiz bulundu ($p > 0.05$).



Şekil 4.3.1. Deney süresince grupların idrarlarında görülen magnezyum - amonyum - fosfat kristalleri.



Şekil 4.3.2. 30. günden itibaren Acetazolamide verilen sıçanların idrarlarında görülen kalsiyum fosfat kristalleri.

Çizelge 4.3. Deney süresince grupların günlere göre idrarda bulunan kristal sayıları

- a) Herbir grubun günlere göre karşılaştırılması,
b) Herbir gün için grupların birbirleriyle karşılaştırılması.

GRUPLAR	n	1. gün $\bar{x} \pm s_x$	10.gün $\bar{x} \pm s_x$	20.gün $\bar{x} \pm s_x$	30.gün $\bar{x} \pm s_x$	40.gün $\bar{x} \pm s_x$	50.gün $\bar{x} \pm s_x$
I Kontrol	10	12.2 ± 1.9	13.8 ± 1.1	10.4 ± 1.7	9.4 ± 1.6	8.2 ± 1.1	11.2 ± 0.6
II AC	10	3.0 ± 0.7	7.8 ± 0.8	4.0 ± 0.5	7.6 ± 0.7	9.4 ± 0.3	11.4 ± 1.3
III NH ₄ Cl	10	13.4 ± 2.3	6.0 ± 1.2	3.0 ± 0.3	6.4 ± 0.7	5.8 ± 0.8	7.4 ± 1.1
IV AC + NH ₄ Cl	10	3.8 ± 0.8	17.0 ± 1.1	11.4 ± 0.5	8.0 ± 3.4	4.8 ± 0.3	7.4 ± 0.5

a

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	A	A	A	A	A	A
II	10	A	C	A	C	CD	D
III	10	D	AB	A	AB	A	B
IV	10	A	D	C	B	A	AB

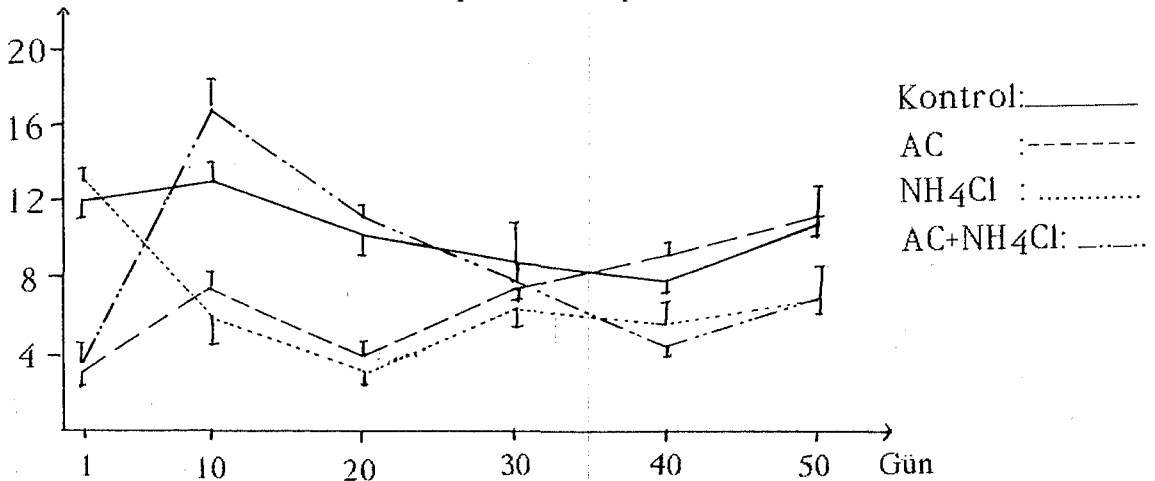
I. A= p>0.05 II. A= p>0.05 C= p<0.01 D= p<0.001
III. A= p>0.05 B= p<0.05 D= p<0.001
IV. A= p>0.05 C= p<0.01 B= p<0.05 D= p<0.001

b

GRUPLAR	n	1. gün	10.gün	20.gün	30.gün	40.gün	50.gün
I	10	C	C	C	A	AB	C
II	10	A	A	A	A	B	C
III	10	C	A	A	A	A	A
IV	10	A	D	CD	A	A	A

1. A= p>0.05 C= p<0.001
10. A= p>0.05 C= p<0.01 D= p<0.001
20. A= p>0.05 C= p<0.01 D= p<0.001
30. A= p>0.05 C= p<0.01 D= p<0.001
40. A= p>0.05 B= p<0.001
50. A= p>0.05 C= p<0.01

Kristal sayısı



Şekil 4.3.3. Deney süresince grupların idrarlarında görülen kristal seviyeleri.

Çizelge 4.4.1. Deney sonu plazmada ölçülen kreatinin, BUN, Kalsiyum, Fosfor, Ürik asit ve enzimlerden SGOT, SGPT, ALP değerleri.

GRUPLAR	n	Kreatinin mg/100 ml	BUN mg/100 ml	Kalsiyum mg/100 ml	Fosfor mg/100 ml	Ürik asit mg/100 ml	ENZİMLER		
							SGOT U/L	SGPT U/L	ALP U/L
I Kontrol	10	0.36 ± 0.1	21.1 ± 1.0	9.6 ± 0.2	5.2 ± 0.2	1.04 ± 0.01	91.8 ± 3.2	61.6 ± 2.3	86.3 ± 3.4
II AC	10	0.42 ± 0.1	20.3 ± 1.0	9.6 ± 0.2	5.4 ± 0.1	0.77 ± 0.08	93.0 ± 3.7	65.0 ± 2.2	97.9 ± 3.4
III NH ₄ CL	10	0.36 ± 0.1	16.5 ± 0.4	9.8 ± 0.1	5.6 ± 0.2	0.32 ± 0.01	90.2 ± 3.5	65.4 ± 2.8	99.9 ± 6.6
IV AC + NH ₄ Cl	10	0.34 ± 0.1	15.3 ± 0.5	9.8 ± 0.3	6.7 ± 0.3	0.43 ± 0.02	80.4 ± 1.5	55.6 ± 1.8	68.3 ± 0.8

* : p<0.05
 ** : p<0.01
 *** : p<0.001

Fosfor düzeyi; kontrol gruba nazaran, deney gruplarında yüksek bulundu fakat bu yükseklik sadece AC ve NH_4Cl birlikte verilen IV. grupta önemliydi ($p<0.001$).

Ürik asit düzeyi; bütün deney gruplarında kontrole göre düşük bulundu. Ürik asit düzeyindeki bu düşme II. grupta ($p<0.01$) ve III. ile IV. grupta ($p<0.001$) önemliydi.

4.4.2. Enzim düzeyleri :

Çizelge 4.4.1 de görüldüğü gibi.

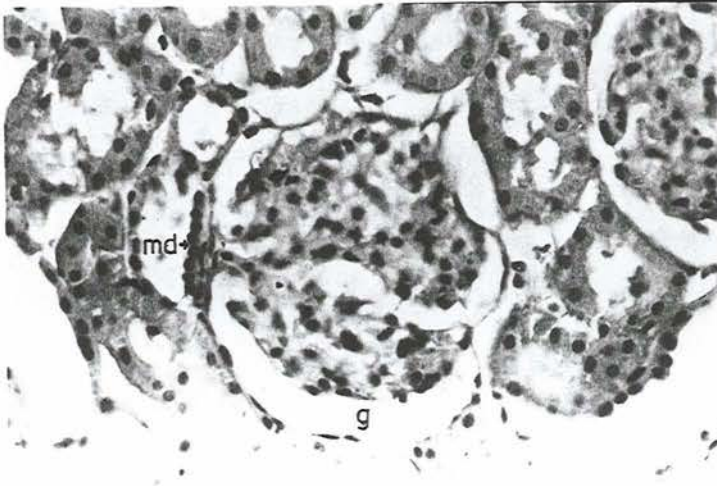
50. gün alınan kandan elde edilen plazmada ölçülen SGOT ve SGPT düzeyleri bütün gruplarda kontrole göre önemli fark göstermezken ($p>0.05$), ALP IV. grupta bütün gruplardan düşük bulundu ($p<0.001$).

4.6. Histopatolojik Bulgular :

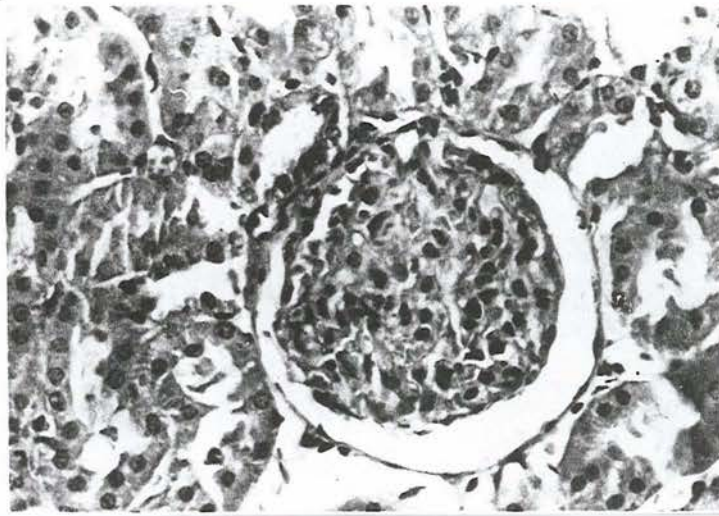
Hazırlanan kesitlerin ışık mikroskobu ile incelenmesinde kontrol grubu sıçanların böbreklerinde, korteks bölgesinde böbrek cisimcikleri genelde düzgün toparlak yapıda, glomeruli hilal biçiminde, glomerulus bir kenara çekilmiş olarak görüldü. Bowman kapsülünün paryetal duvarı düzgün, tek katlı yassı epitel ile döşeli, korteks bölgesinde proksimal ve distal kontortalara ait kesitler bir arada, bazı alanlarda distal tübülüsün glomerulus kan kutbuna yakın geçen kesitlerinde juxtaglomerular apparatusun bir bölümünü oluşturan makula densa yapısı görüldü (Şekil 4.6.1). Korteksin derin bölgelerinde ise nefronun proksimal ve distal rektasına ait kesitler, yine bu bölgede Henle kulpunun ince parçasına ait kısımlar ve yine tüm kortekste tek katlı yassı epitelle örtülü peritübüler yapı ayırt edildi. Medullar bölge boyları tek katlı kübik ve prizmatik arasında değişen toplayıcı kanallarla dolu olarak görüldü.

Deney gruplarında, klasik boyama yöntemiyle, böbrek cisimcikleri ve tübülüs yapılarında kontrol gruplarına oranla belirgin bir farklılık gözlenmedi (Şekil 4.6.2, 4.6.3, 4.6.4).

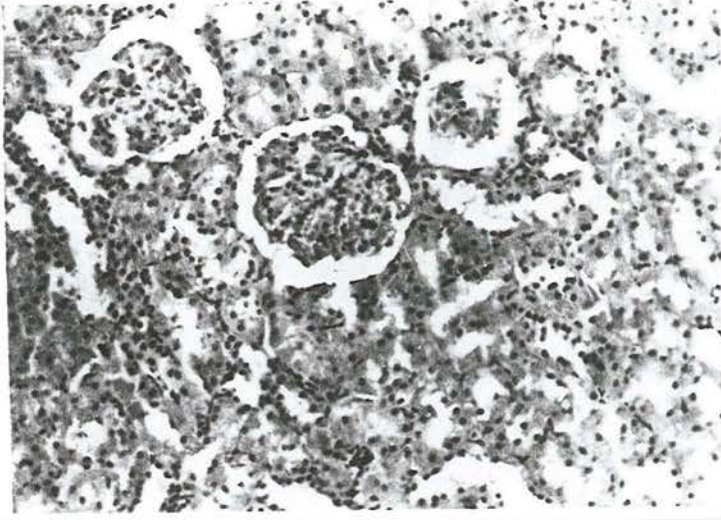
Muhtemel bir taş teşekkülü yapısını araştırmak amacıyla kullandığımız Von Kossa ve Gomori gümüşleme yöntemlerinde, boyama yöntemi kontrolü için kullandığımız prostat kesitlerinde, prostat bez dokusu içinde, lümeninde değişik çapta konsantrik lameller tarzında kalsiyum fosfat taş yapısı metalik gümüşü indirgemiş olarak görüldüğü halda (Şekil 4.6.5), aynı anda reaksiyona soktuğumuz deney gruplarında gümüş çökmesine ait görüntüler tesbit edilmedi (4.6.6).



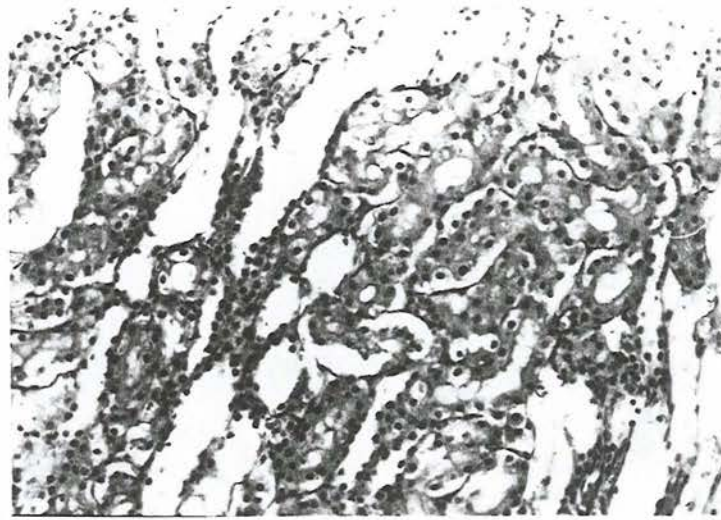
Şekil 4.6.1. Kontrol grubunda böbreğin histolojik yapısı (g: glomerulus, md: makula densa), H.E. x128.



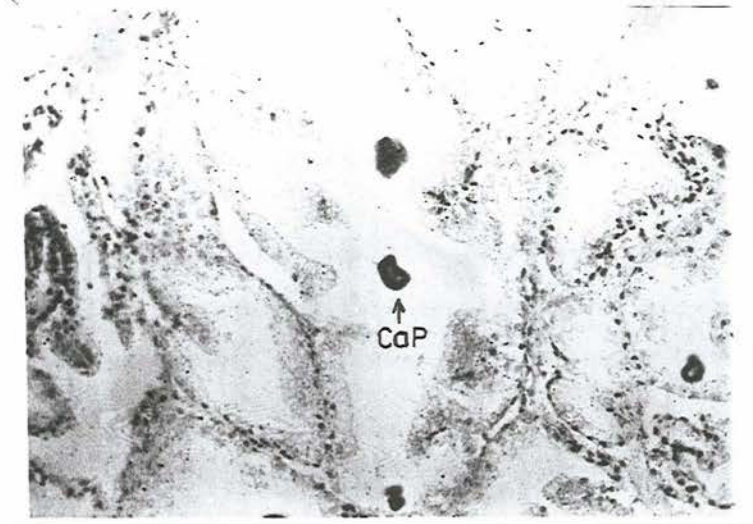
Şekil 4.6.2. Acetazolamide verilen II.grupta böbreğin histolojik yapısı, H.E. x128.



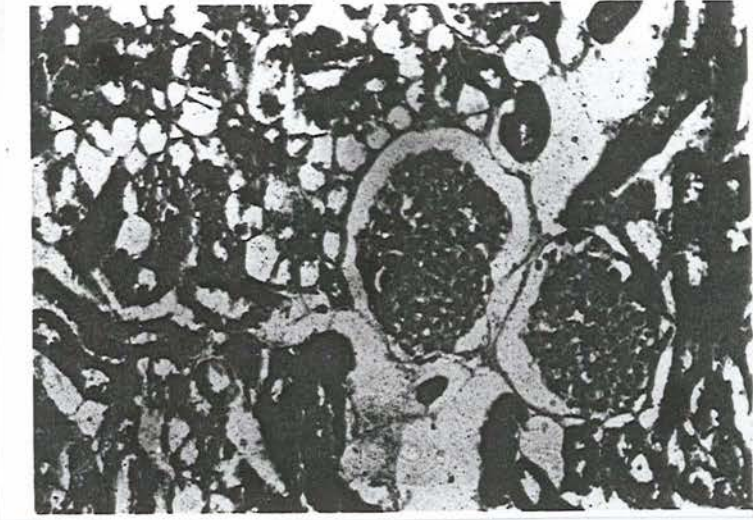
Şekil 4.6.3. Amonyum klorid verilen III. grupta böbreğin histolojik yapısı, H.E. x128.



Şekil 4.6.4. Acetazolamide ile amonyum klorid verilen IV. grupta böbreğin histolojik yapısı, H.E. x128.



Şekil 4.6.5. Gomori boyama yöntemiyle boyanmış prostat bezindeki kalsiyum fosfat taşları (CaP : kalsiyum fosfat taşı), Gümüşnitrat + safranin. x64.



Şekil 4.6.6. Gomori boyama yöntemiyle boyanmış Acetazolamide verilen II. gruba ait böbrek kesiti. Gümüş nitrat + Safranin, x64.

5 . T A R T I Ő M A

Bu bölümde , deney hayvanlarına ayrı ayrı ve birlikte verilen acetazolamide (AC) ve amonyum klorid (NH_4Cl) in oluşturdukları etkiler bulgular bölümünde verdiğimiz sıraya göre tartışılacaktır.

Vücut ağırlığı, deney süresince kontrol grubunda vücut ağırlığı düzenli olarak ve toplam % 4.1 lik bir artış göstermiştir. II. grupta ise ilk 30 gün % 3.5, 30. günden sonra ise % 14.3 ve toplam % 17.8 kadar bir ağırlık kaybı olmuştur. III. grupta bunun aksine ilk 30 gün % 12.1 lik bir artış, 30. günden sonra ise % 3 lük bir düşüş görülmüştür. IV. grupta vücut ağırlığında ilk 30 gün % 5.8 lik artış, bundan sonra ise % 11.8 lik bir düşüş görülmüştür. Bunlardan anlaşıldığı gibi AC tek başına önemli bir vücut ağırlığı kaybına neden olurken NH_4Cl bu etkiyi ilk 30 gün kontrol değere ulaştırmış, fakat daha sonraki günlerde hızlı kilo kaybını engelleyememiştir. AC nin bu etkisi Maren (1977)'in çalışmasıyla uyum sağlamaktadır. Çünkü Maren (1977) 6 ay süreyle 900 mg/kg/gün dozunda uyguladığı AC'nin ağırlık artışı ve boy uzamasını engellediğini bildirmektedir. AC'nin kilo kaybına olan etkisini önliyecek bir çalışmaya rastlayamadığımızdan NH_4Cl 'in bu engelleyici etkisini tartışamadık.

İdrar hacmı, kontrole göre bütün gruplarda özellikle 20. güne kadar devamlı bir artış göstermiş olup daha sonraki günler azalmışsada daima kontrol değerlerin üzerinde kalmıştır. Bu AC ve NH_4Cl 'in diüretik etkilerini desteklemekte olup (3,12,14,24,28,30,31,40,54,60,68,76) bu iki madde birlikte verildiklerinde etkinin daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır. Fakat Gaugoux et al. (1987) bunların tersine, köpeklerle yaptıkları bir çalışmada AC'nin tek başına verildiğinde (20 mg/kg/gün), diüretik etkisinin, AC'nin NH_4Cl ile birlikte verildiğinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. AC'nin diğer yan etkilerini ortadan kaldırmak gayesiyle ilave madde olarak verdiğimiz NH_4Cl 'in diüretik etkiyi desteklemesi olumlu bir sonuç olarak düşünülebilir. Bulgularımızda da diüretik etkinin 20. günden sonra giderek düşmesi metabolik diürez oluşturan maddelerin etki mekanizmaları gereğidir (16,40). Çünkü

meydana gelen asidozu kompanse etmek için böbrek hücrelerinde NH_3 sentezi artar, NH_3 H^+ iyonları ile birleşerek amonyum (NH_4^+) iyonu haline geçer ve distal tüp lümenine salınır, buna karşılık lümendeki Na^+ iyonları suyu da birlikte sürükleyerek tübül hücrelerine geçer, böylece diüretik etki ortadan kalkar (40).

pH, Kontrole göre II. grup ilk gün alkali bir değere (7.76) sahip olup bunu takip eden günlerde devamlı düşerek 40. gün asidik karakter (6.98) kazanmıştır. III. grup devamlı olarak asidik karakterde olup (6.22 - 6.50) , IV. grupta 30. güne kadar kontrol değerlerle aynı kalmış, bundan sonraki günlerde ise I. gruptakine paralel olarak daha da asidik tarafa kaymıştır. Yapılan değişik çalışmalarda da sıçanlara perfüzyon ile AC verildiğinde ilk 20 dakikada idrar pH'sının 6.28 den 8.13 e çıktığı (61), köpeklerde ilk 40 dakikada 6.9 dan 7.6 ya değiştiği bildirilmiştir (30). Köpeklerle yapılan bu ikinci çalışmada köpeklere AC'nin yanında NH_4Cl verildiğinde pH ilk 40 dakikada 7.10 a çıkmış fakat 80. dakikada tekrar 6.9 a düşmüştür. Bu bulgular bizim ilk günlük bulgularımızla uyumludur. Diğer deneysel araştırmalar ve olgu takdimi çalışmalarda AC'in tek başına idrar pH sını alkali yaptığı bildirilmişse de (3,7,13,24,29,30, 32,37,42,54,59,61,69) bazı olgu takdimlerinde 5 ay ile 3 yıl arasında AC kullananlarda idrar pH sının 5.5 ile 7.5 arasında değiştiği bildirilmiştir (29,59). Bizim çalışmamızda da bunlarla uyumlu olarak idrar pH sı AC verilenlerde ilk günler bazik karakterde iken az da olsa giderek 50. güne doğru asidik karakter kazanmıştır. İdrarı asitleştirici tampon sistemlerden sayılan NH_3 in bu etkisi AC tarafından büyük ölçüde azaltılmaktadır (30,49), fakat uzun süre (5 ay , 3 yıl) AC kullanıldığında metabolik asidoz oluşmakta, bunu kompanse edebilmek için de böbrek bir süre sonra distal tübüllerden yeniden NH_3 salgılamaya başlamaktadır (16,31,40). NH_3 H^+ iyonlarıyla birleşerek NH_4^+ oluşumunu sağlamakta, NH_4^+ de tübül sıvısında bulunan Cl^- ile birleşerek zayıf bir asit olan NH_4Cl ün meydana gelmesine neden olmakta, bu da idrarın asidik karakter kazanmasını sağlamaktadır (31). Bu özellik AC verilen grubun idrar pH sının 50 gün gibi bir zamanda neden asidik yöne kaydığını açıklamaktadır.

İdrar kreatinin seviyesi, kontrole göre, II. grupta 20. gün, III. grupta ilk gün, IV. grupta ise 10. ve 30. günler önemli düzeyde değişmiştir. Her grubu kendi içinde değerlendirdiğimizde yine aynı günlerde değişiklik göstermiştir.

Plazma kreatinin seviyesi ise AC verilen II. grupta diğer grupların değerlerinden biraz fazla ise de bu fazlalık önemli bulunmamıştır.

İncelenen diğer bazı araştırmalarda da genellikle idrar kreatinin seviyesinin değişmediğini (49,59), kan kreatinin seviyesinin ise ya önemsiz düzeyde arttığını (1,23), ya da normal sınırlar içinde olduğu (21,49,58,59,68) bildirilmiştir. Bulduğumuz sonuçlar bunlarla uyum sağlamaktadır.

İdrar üre azotu kontrole göre, bütün gruplarda 20. gün en fazla olmak üzere devamlı azalmış, bunu takip eden günlerde ise yükselerek 50. gün II. ve IV. grupta kontrol değerlerle aynı seviyeye gelmiş, III. grupta ise kontrol değerlerin biraz üzerine çıkmıştır.

Plazma üre azotu (BUN) değerleri ise kontrole göre tüm gruplarda fazla bir değişiklik göstermemiştir.

Yapılan literatür taramalarında AC'in idrar üre azotu seviyesi üzerine etkisini bildiren herhangi bir çalışmaya rastlanılmamakla birlikte sadece bir çalışmada plazma BUN seviyesinin değişmeden kaldığı bildirilmiştir (58). Bu sonuç bizim sonuçlarımızla uyumludur.

İdrarla kalsiyum atılımı kontrole göre, II. grupta az da olsa düşük, buna karşılık III. grupta yüksek bulunmuştur. IV. grupta ise, ilk gün kontrol grubu değerlerine göre önemli düzeyde düşük ($p<0.05$) olan kalsiyum seviyesi 10. günden itibaren devamlı artarak 30. gün kontrol değerlerin üzerine çıkmıştır.

Plazma kalsiyum değerleri bütün gruplarda değişmeden kalmıştır.

Yapılan literatür incelemelerinde idrarla atılan kalsiyum seviyesinin ya değişmediği (11,12,58,64) veya önemsiz de olsa kontrol gruba göre azaldığı (29,36), kan kalsiyum seviyesinin ise değişmediği (36,58,64) bildirilmiş olup bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumludur.

İdrar fosfor değeri, II. grupta 1. ve 10. gün kontrol değerlere göre yüksek olup 20. ve 30. günlerde kontrol grubu değerlerinin altına düşmüş, 40. ve 50. günlerde tekrar artarak kontrol grubu değerlerinin üzerine çıkmıştır. III. grupta 30. güne kadar kontrol değerlerinden düşük olan fosfor seviyesi 40. ve 50. günlerde önemli düzeyde artış göstermiştir. IV. grupta ise 40. güne kadar II. grubun değerlerine paralellik gösteren fosfor değerleri 50. gün daha da artarak III. grubun değerlerine yaklaşmıştır.

Plazma fosfor seviyesi, kontrole göre tüm deney gruplarında yüksek bulunmuş fakat bu yükseklik sadece II. ve IV. grupta önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Bununla ilgili çalışmalarda, fosforun geri emilimini azaltarak fosfaturia meydana getirdiği bildirilen AC'in idrarla atılan fosfor miktarını artırdığı, buna karşılık kan fosfor seviyesini etkilemediği bildirilmiş olup (1,12,13,19,24,29,36,58,64) bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumludur.

İdrarla atılan ürik asit seviyesi kontrole göre bütün deney gruplarında daha düşük değerlerde bulunmuştur. Bu düşük değer II. grupta sadece 30. gün önemli ($p<0.05$) iken, III. ve IV. gruplarda deney süresince önemli bulunmamıştır.

Plazma ürik asit seviyesi de II. grupta kontrol gruba göre az da olsa düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Bulgularımız literatür bulgularıyla karşılaştırıldığında, Steele et al (1975) bizim bulgularımıza zıt olarak AC'in uricosuric etki meydana getirdiğini belirtirken Ayvazian and Ayvazian (1961) bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak AC'in ürik asit seviyesinin idrar ve kanda azaldığını bildirmişlerdir.

Sadece plazmada 50. gün ölçülen enzimlerden SGOT, SGPT ve ALP seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan önemsiz olarak II. grupta yüksek, III. ve IV. grupta ise düşük bulunmuştur. Enzimlerle ilgili böyle bir çalışmaya rastlanılmadığından enzim sonuçlarımızı tartışmak mümkün olmamıştır. Fakat biraz öncede belirttiğimiz gibi, kullanılan bu maddeler plazma enzim seviyelerini kontrole yakın tutmuştur.

İdarda kristal durumuna gelince deney süresince kontrol grubu dahil bütün gruplardaki sıçanların idrarlarında mağnezyum - amonyum - fosfat kristalleri görülmüş, buna ilaveten AC verilen grupta 30. günden sonra çok az (1-3) sayıda kalsiyum fosfat kristallerine rastlanılmıştır. Bazı araştırmacılar mağnezyum - amonyum - fosfat ve kalsiyum fosfat kristallerinin alkali idrarlarda görüldüğünü (10,38) özellikle kalsiyum fosfat kristali oluşumunun idrar pH sı ile çok yakın ilişkili olduğunu, özellikle alkali idrara sebep olan AC kullanılma durumlarında bu kristallerin görüldüğünü bildirmişlerdir (7,29,42,48,59,73). Bunun yanında bazı araştırmacılar da bu sınırın 5 - 6 olduğunu, bazik tarafa kaydıça mağnezyum - amonyum - fosfat ve kalsiyum fosfat kristalizasyonunun artacağını, baziklik devam ettikçe bunun taş oluşturacağını bildirmişlerdir (9,16,26,33). Bizim çalışmamızda da pH sı asidik karakterde olan kontrol, III. ve IV. grupların idrarında devamlı olarak mağnezyum - amonyum - fosfat kristalleri görülürken, AC verilen II. grupta idrar pH sı bazik iken gene mağnezyum - amonyum - fosfat kristalleri, buna karşılık idrar pH sın aside kaydığı 30. günden sonra da ilk güne nazaran daha fazla sayıda mağnezyum - amonyum - fosfat kristalleri görülmüş, bunlara ilaveten de çok az sayıda da olsa kalsiyum fosfat kristalleri tesbit edilmiştir.

Böbrek histopatolojisi ve taş oluşumuyla ilgili bulgularımızda grupların hiç birinde histopatolojik herhangi bir bölgeye, kalsifikasyon odağına veya taş oluşumuna rastlanamamıştır. Diğer araştırmacıardan Harrison and Harrison (1955) ile McGeown (1957) da oral olarak diamox verilen (20 mg/100 g vücut ağırlığı) sıçanlarda ve farelerde böbrek görüntülerinin normal olduğunu bildirmişlerdir. Yine Harrison and Harrison (1955), 3 haftalık sıçanlara (Sprague - Dawley ırkı), 3 hafta boyunca, günde 20 - 25 mg/100 g vücut ağırlığı dozunda oral olarak, diamox ve taş yapıcı belirli diyetler birlikte verilince kortiko - medullar bölgede taşa rastlandığını, McGeown'da (1957) aynı dozu farelere verdiğinde 4 hafta sonunda bazı farelerde kortiko - medullar bölgede çok ince kalsifikasyon odakları oluştuğunu bildirmişlerdir. Görüldüğü gibi her iki araştırmacının kullandığı doz da bizim kullandığımız ve hastalarda da kullanılmakta olan 15 mg/kg lık dozun çok çok üzerindedir. Harrison and Harrison (1955) aynı yayınlarında, AC ile çalışan diğer araştırmacılarında

böyle bir taş yapıcı etki belirleyemediklerini, kendilerinin daha önceki bir çalışmada 900 mg/kg olarak AC verdiklerinde ancak birkaç sıçanda taş oluşturabildiklerini belirtmiştir. Bütün bunlardan da anlaşılacağı gibi, AC ya hayvanlarda çok yüksek dozlarda verildiğinde (36,52), ya da insanlarda çok uzun süre kullanıldığında (1,3,11,29,48,59,64) taş neden olabilmektedir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Önemli bir diüretik olan ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan AC'in, hastalara uygulandığı tarzda sıçanlara verildiğinde, idrar hacmi, pH ve elektrolitler üzerine etkisi ile yan etki olarak meydana getirdiği bilinen kalsiyum fosfat taşına ne ölçüde neden olduğu, bunlara ilaveten AC ile birlikte yine bir diüretik olan NH_4Cl in bu parametreleri ne düzeyde değiştirebileceğini gözlemek amacıyla düzenlediğimiz bu araştırma sonucu elde ettiğimiz bulguları literatür bilgileriyle karşılaştırarak şu sonuçlara varılmıştır.

1. AC'in tek başına 30. güne kadar önemsiz ölçüde, 30. günden sonra ise oldukça önemli düzeyde ağırlık kaybına neden olduğu, fakat NH_4Cl ile birlikte verildiğinde kilo kaybının az da olsa engellendiği görüldü. Aynı sonuçları veren literatür bilgilerine de dayanarak bu ilacın büyüme çağındaki çocuklarda kullanılmasında çok dikkatli olunmalıdır.

2. Normalda asit karakterli olan idrarın, AC kullanılması halinde ilk günler alkaliye dönüşmesi, fakat giderek özellikle 40. günden sonra yeniden asidik yöne kayması, eğer bu ilaç idrarı bazik tutmak gayesiyle kullanılacaksa bu özelliği göz önüne alınarak kullanılma süresi ona göre ayarlanmalıdır.

3. AC tek başına veya NH_4Cl ile birlikte kullanıldığında idrar ve plazmada kreatinin, üre azotu, kalsiyum, fosfor ve ürik asit gibi bazı elektrolitlerin düzeyini değiştirmeyip kontrol değerlere yakın tuttuğundan, bu yönden zararlı bir etkisi olmadığı tekrar doğrulanmıştır.

4. Böbrekte taş oluşumu ve idrarda kristal teşekkülü yönünden AC tek başına kullanıldığında, böbrek taşı oluşumu görülmezken, idrarda kontrol gruplarında da görülen magnezyum - amonyum - fosfat kristallerine ilaveten 30. günden itibaren hemen hemen her sıçanın idrarında nadirde olsa (1-3) kalsiyum fosfat kristalleri görülmüştür. Diğer yandan asiditeyi sağlayan NH_4Cl kullanıldığında kalsiyum fosfat kristallerine rastlanılmamıştır. Bu iki madde birlikte verildiğinde yine devamlı asidik yönde kalan idrarlarda kalsiyum fosfat kristallerine rastlanılmamıştır.

5. AC ve NH_4Cl tek veya beraber kullanıldığında böbreğin normal dokusunu aynen muhafaza ettiği görülmüştür.

Sonuç olarak, tedavi için idrarı bazik yapmak gayesiyle kullanılan AC'in bu etkisinin ancak 30 - 40 gün sürebildiği ve böyle kısa sürede, zamanla kalsiyum fosfat taşı haline dönebilecek kalsiyum fosfat kristallerini oluşturduğu, daha uzun sürelerde kalsiyum fosfat kristal veya taşı oluşabileceği ihtimalini bertaraf edebilmek için kalsiyum fosfat kristali oluşumunu engellediğini tesbit ettiğimiz NH_4Cl in AC ile birlikte kullanılmasında yarar olabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Ahlstrand, C. and Tiselius, H.G.: Urine composition and stone formation during treatment with acetazolamide. *Scand.J.Urol.Nephrol.* 21: 225 - 228, 1987.
2. Amiel, C., Kuntziger, H., Richet, G.: Micropuncture study of handling of phosphate by proximal and distal nephron in norma and parathyroidectomized rat. Evidence for distal reabsorption. *Pflügers Arch.* 317(2): 93 - 109, 1970.
3. Amin, H.A.: Dissolution of uric acid calculi with systemic alkalization *J.Urol.* 134(5): 976, 1985.
4. Ayvazian, J.H. and Ayvazian, L.F.: A study of the hyperuricemia induced by hydrochlorothiazide and acetazolamide separately and in combination. *J.Clin.Invest.* 40: 1961 - 1966, 1961.
5. Bachra, B.N. and Trautz, O.R.: Carbonic anhydrase and the precipitation of apatite. *Science*, 137: 337 - 338, 1962.
6. Bancraft, J.D. and Stevens, A.: Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone, Edinburg, London and New York, 1977, pp. 240 - 245.
7. Barnhouse, D.H.: In vitro formation of precipitates in sterile and infected urines. *Invest.Urol.* 5(4): 342 - 347, 1968.
8. Başaran, A.: Tıbbi biyoloji ders kitabı, Bilim Teknik Yayınevi, Eskişehir, 1989, s. 459 - 479.
9. Başaran, A., Başaran N., Güneş, H. V., Dönmez, T., Kelle, A., Değirmenci, İ.: Sıçan böbreğine yerleştirilen yabancı bir cismin bazı diüretiklerle birlikte üriner sistemdeki etkileri (2) . VIII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 19-21 Mayıs 1989, İstanbul.
10. Bauer, J., Ackermann, P.G., Tara, G.: Clinical laboratory methods Eight Ed., The C.V.Mosby Company, Saint Louis, 1974, pp. 50-71.
11. Bearn, P.E.: Disappearance of staghorn calculi following withdrawal of treatment with acetazolamide. *Br.J.Urol.* 63(3): 329, 1989.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

12. Beck , P . E . and Goldberg, M. : Effects of acetazolamide and parathyroidectomy on renal transport of sodium, calcium and phosphate. *Am.J.Physiol.* 224(5): 1136 - 1142, 1973.
13. Berliner, R. W. , Kennedy , T. J., Orloff, J.: Relationship between acidification of the urine and potassium metabolism. *Am.J.Med.* 11: 274 - 282, 1951.
14. Blantz, R.C. and Pelago, J.C.: A functional role for the tubulo-glomerular feedback mechanism. Edit. review. *Kidney Int.* 25: 739 - 746, 1984.
15. Burg, M.B. and Stoner,L.: Sodium transport in distal nephron. *Fed.Proc.* 33: 31 - 36, 1974.
16. Burke, S.R.: The composition and function of body fluids. Second Ed., The C.V. Mosby Company, Saint Louis, 1976, pp. 78 - 79.
17. Carter, M.J.: Carbonic anhydrase : Isoenzymes, properties, distribution and functional significance. *Biol Rev.* 47 : 465 - 513, 1972.
18. Davenport, H. W. and Wilhelmi, A.E.: Renal carbonic anhydrase. *Proc.Soc.Exptl.Biol.Med.* 48: 53 - 56, 1941.
19. Eknoyan, G., Suki, W.n., Maldonada, M.M.: Effect of diüretics on urinary excetion of phosphate, calcium and magnesium in thyro-parathyroidectomized dogs. *J.Lab.Clin.Med.*76: 257-266, 1970.
20. Elliot, J.S.: Structure and composition of urinary calculi. *J.Urol.* 109 : 82 - 83, 1973.
21. Epstein, D.L. and Grant, W.M.: Carbonic anhidrase inhibitor side effects. *Arch.Ophthalmol.* 95 : 1378 - 1382, 1977.
22. Fleisch, H.: Inhibitors and promoters of stone formation. *Kidney Int.* 13 : 361 - 371, 1978.
23. Forster, P.J.G., Nuki, G., Rylance, H.J., Wallace, R.C.: Effect of high altitude and acetazolamide on human serum and urine purines. *Adv.Exp.Med.Biol.* 195 : 601 - 607, 1986.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

24. Fulop, M. and Brazan, P.: Phosphaturic effect of sodium bicarbonate and acetazolamide in dogs. *J.Clin.Invest.* 47 : 983 - 991, 1968.
25. Gabe, M.: Histological techniques. Masson, Springer-Verlag, New York, 1976, pp. 303 - 306.
26. Gault, M.H., Robertson, W.G., Senciall, D.R.: The oxalate : phosphate ratio in urinary tract calculi by infrared revised analysis. *Clin.Chim.Acta.* 166 : 103 - 105, 1987.
27. Gerson, C.D., Cohen, N., Pinkel, M., Janowitz, H.D.: Effect of parenteral acetazolamide on intestinal absorption of salt and water in man. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 149: 950 - 952, 1975.
28. Goldberg, M.: The renal physiology of diuretics, in: Handbook of Physiology, J.Orloff, S.G.Berliner (Eds.). American Physiological Society, Washington, 1973, pp. 1003 - 1031.
29. Gordon, E. E. and Sheps, S. G.: Effect of acetazolamide on citrate excretion and formation of renal calculi. *N. Engl. J. Med.* 256 : 1215 - 1219, 1957.
30. Gaugoux, A., Vinay, P., Zizian, L., Tejedor, A., Noel, J.: Effect of acetazolamide on renal metabolism and ammoniogenesis in the dog. *Kidney Int.* 31 : 1279 - 1290, 1987.
31. Guyton, A.C.: Fiziyoloji (Çev. A.Kazancıgil) Güven Kitabevi, Ankara, 1978, s. 101 - 186.
32. Günalp, İ.: Modern üroloji, Yargıçoğlu Matbaası, Ankara, 1978, 1128 s
33. Günalp, İ., Gerçel, R., Kafkas, M., Yaman, S.: Uroloji, Ankara Üniv. Tıp Fak. yay. sayı: 286, 1973, s.368.
34. Gündüz, T.: Kantitatif analiz laboratuvar kitabı, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 1974, s. 173 - 177.
35. Gürçay, A.: Böbrek fonksiyonları ve idrar analizi: Klinik Nefroloji Ş.Çağlar (Der.). Medial yay. 1986, s. 47 - 56.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

36. Harrison, H.E. and Harrison, H.C.: Inhibition of urine citrate excretion and the production of renal calcinosis in the rat by acetazolamide (Diamox) administration. *J.Clin.Invest.* 34 : 1662 - 1670, 1955.
37. Hayes, C.P., Owen, E. E., Robinson, R. R.: Renal ammonia excretion during acetazolamide or sodium bicarbonate administration. *Am.J. Physiol.* 210 : 744 - 750, 1966.
38. İmren, A.H.: Klinik tanıda laboratuvar. Menteş Kitabevi, İstanbul, 1977. s. 405 - 411.
39. Kass, M. A., Allan, E. K., Mae, G.: Acetazolamide and urolithiasis. *Ophthalmology* 88 : 261 - 265, 1981.
40. Kayaalp, S. O.: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, V.Baskı, 2.cilt Feryal Matbaacılık Ltd.Şti. Ankara, 1990, s. 1426 - 1472.
41. Kokko, J.P.: Membrane characteristics governing salt and water transport in the loop of Henle. *Fed.Proc.* 33 : 25 - 30, 1974.
42. Korkud,G. ve Karabağ, K.: Üroloji, İstanbul Üniv.Tıp Fak. Yay. Rektörlük no: 3328, Dekanlık no: 139, İstanbul, 1985, s. 247 - 277.
43. Kaushanpour , E. : Renal physiology : principles and functions. W.B. Sanders company, London, 1976, pp. 121 - 387.
44. Laux, B.E. and Raicle, M.E.: The effect of acetazolamide on cerebral blood flow and oxygen utilization in the Rhesus monkey. *J.Clin.Invest.* 62 : 585 - 592, 1978.
45. Lillie, R.D.: Histopathologic technic and practical histochemistry. The Blakiston Copany, New York. 1954, pp. 264 - 265.
46. Lindskog, S., Engberg, P., Forsman, C., Ibrahim, S.A., Johnsson, B.H., Simonsson, I., Tibell, L.: Kinetics and mechanism of carbonic anhydrase isoenzymes. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 429 : 61 - 75, 1984.
47. Lönnerholm, G., Wistrand, P.J., Barany, E.: Carbonic anhydrase isoenzymes in the rat kidney. Effects of chronic acetazolamide treatment. *Acta Physiol.Scand.* 126 : 51 - 60, 1986.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

48. Mackenzie, A.R.: Acetazolamide - induced renal stone. J.Urol. 84 : 453 -455, 1960.
49. Maren, T.H.: Carbonic anhydrase: Chemistry, physiology and inhibition. Physiol.Rev. 47 : 595 - 761, 1967.
50. Maren. T.H.: Use of inhibitors in physiological studies of carbonic anhydrase. Am.J.Physiol. 232 : F 291 - 297, 1977.
51. Maren, T.H. and Wiley, C. E.: Renal activity and pharmacology of N-acyl and related sulfonamides. J.Pharmacol.Exptl.Therap. 143 : 230 - 242, 1964.
52. McGeown, M.G.: The urinary amino acids in relation to calculus disease J.Urol. 78 : 318 - 322, 1957.
53. Morgan, T. and Berliner, R.W.: Permeability of loop of Henle, vasa recta and collecting duct to water, urea and sodium. Am. J. Physiol. 215 : 108 - 115, 1968.
54. Mudge, G.H.: Diuretics and other agents employed in the mobilization of edema fluid. in: The pharmacological basis of therapeutics, A.G.Gilman, L.S.Goodman, A.Gilman,: Mac Millan Publishing co. Inc. New York, 1980, pp. 892 - 915.
55. Murphy, B.T. and Pyrah, L. N.: The composition, structure and mechanisms of the formation of urinary calculi. Br. J. Urol. 34 : 129 - 159, 1962.
56. Noyan,A.:Fizyoloji ders kitabı. Anadolu Üniv.yay. no:2, 1984, s.373-405
57. Özdamar, K.: Biyoistatistik. Bilim Teknik Kitabevi, Eskişehir, 1985. s. 373 - 405.
58. Pepsy,M.B.:Acetazolamide and renal stone formation. Lancet I: 837,1970

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

59. Persky, L., Chambers, D., Potts, A.: Calculus formation and ureteral colic following acetazolamide (Diamox) therapy. *J.A.M.A.* 161(17): 1625 - 1626, 1956.
60. Persson, A.E.G. and Wright, F.S.: Evidence for feedback mediated reduction of glomerular filtration rate during infusion of acetazolamide. *Acta Physiol.Scand.* 114 : 1 - 7, 1982.
61. Phenix, P. and Welbourne, T.C.: Renal glutaminases: Diamox inhibition of glutamyltransferase. *Am.J.Physiol.* 228(4) : 1269 - 1275, 1975.
62. Puschett, J.B. and Goldberg, M.: The relationship between the renal handling of phosphate and bicarbonate in man. *J.Lab.Clin.Med.* 73 : 956 - 969, 1969.
63. Roblin, R. O. and Clapp, J. W. : The preparation of heterocyclic sulfonamides. *J.Am.Chem.Soc.* 72 : 4890 - 4892, 1950.
64. Rubenstein, M.A. and Bucy, J.G.: Acetazolamide - induced renal calculi. *J.Urol.* 114 : 610 - 612, 1975.
65. Sartorius, O.W., Roemmelt, J.C., Pitts, R.F.: The renal regulation of acid base balance in man. IV. the nature of the renal composition in ammonium chloride acidosis. *J.Clin.Invest.* 28 : 423, 1949.
66. Shinkawa, H. and Kimura, R.S.: Effect of diuretics on endolymphatic hydrops. *Acta Otolaryngol.(Stockh.)*. 101(1-2) : 43 - 52, 1986.
67. Shorr, E.: Relation between urinary excretion of citric acid and calcium : Its implication for urinary calcium stone formation. *Science* 96 : 587 - 588, 1942.
68. Skott, P., Hommel, E., Bruun, N.E., Larsen, S.A., Parving, H.H.: Effects of acetazolamide on kidney function in type I (insulin - dependent) diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 31 : 806 - 810, 1988.
69. Steele, T.H., Manuel, M.A., Boner, G.: Diuretics, urate excretion and sodium reabsorption : effect of acetazolamide and urinary alkalization. *Nephron* 14 : 48 - 61, 1975.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam ediyor)

70. Takemoto, M.: Prophylaxis for acetazolamide induced urolithiasis : Clinical study. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi 69 : 968, 1978.
71. Thomas, W.C.: Renal calculi. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, 1976, pp. 81 - 82.
72. Tietz, M.W.: Textbook of clinical chemistry, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1986, pp. 1276 - 1281.
73. Tiselius, H.G.: The effect of pH on urinary inhibition of calcium oxalate crystal growth. Br.J.Urol. 53 : 470 - 474, 1981.
74. Tozuka, K., Yonese, Y., Konjiki,T., Sudo,T.: Study of calcium phosphate crystalluria. J.Urol. 138 : 326 - 329, 1987.
75. Turgan, Ç. ve Yasavul, Ş.: Böbrek taşları: Klinik nefroloji, Ş. Çağlar (Der.). Medial yay. 1986, s. 231 - 239.
76. Weiner, I.M.: Drugs affecting renal function and electrolyte metabolism, in : The pharmacological basis of therapeutics , A. G. Gilman, T.W.Rall, A.S. Nies, P. Taylor, Pergamon Press, New York, 1991,pp. 708 - 731.
77. Wistrand, P.J.: Properties of membrane - bound carbonic anhydrase. Ann.N.Y.Acad.Sci. 429 : 195 - 206, 1984.
78. Yenson, M.: İnsan biyokimyası, Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş., İstanbul, 1988, s. 116 - 119.