

Kronik Stres ve Böbrek: Sıçan Modeli Üzerinde Morfometrik ve Histopatolojik Çalışma

Chronic Stress and Kidney: A Morphometric and Histopathologic Study on a Rat Model

Elvan Şahin¹, Tuba Demirci², Semin Gedikli³

¹ Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Sakarya

² Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

³ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

Correspondence / Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Tuba DEMİRCİ

Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yakutiye/Erzurum, Türkiye

T: +90 505 713 6344

E-mail: drtubademirci@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received : 15.12.2017

Kabul Tarihi / Accepted : 22.12.2017

Özet

Amaç: Günlük yaşamın bir parçası haline gelen stres, vücudun dengesini bozarak pek çok hastalığa neden olur. Biz de bu çalışmada, kronik strese sebep olan faktörlere maruz kaldığında böbrekte meydana gelebilecek olası yapısal değişiklikleri araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Bu çalışmada 12 adet *Sprague Dawley* cinsi yetişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar rastgele kontrol (n=6) ve stres (n=6) grubu olarak ikiye ayrıldıktan sonra, stres grubundakilere 4 hafta boyunca "beklenmedik kronik hafif stres" protokolü uygulandı. Deneyin sonunda anestezisi altında feda edilen bütün sıçanların böbrekleri çıkarıldı ve derhal "suya daldırma yöntemi" ile hacimleri ölçüldü. Böbrekler rutin histolojik işlemleri takiben, histopatolojik değerlendirme için ışık mikroskopunda incelendi.

Bulgular: Stres grubundaki sıçanların böbrek hacimlerinin ($0,90 \pm 0,096$ ml) kontrol grubundakilerin böbrek hacimlerine ($1,075 \pm 0,106$ ml) kıyasla önemli düzeye azalmış olduğu ($p < 0,05$; *independent samples t test*) tespit edildi. Stres grubu böbreklerinin ışık mikroskopik değerlendirmesinde, nefron tübüllerinin epitelinde nekrotik dejenerasyon ve dökülmeler saptandı. Proksimal ve distal tübüllerin epitelinde, yer yer hücresel parçalanma ve tübül duvar bütünlüğünün bozulması ile sonuçlanan sitoplazmik şişme ve hücresel vakuolleşmeler belirgindi. Henle kulpunda da lümeninde bariz dilatasyonlar ve epitelde nekrotik değişiklikler tespit edildi. İlaveten glomerüllerde büzülme ve Bowman boşluğunda genişlemeler gözlemlendi.

Sonuç: Elde edilen bulgulara dayanarak, kronik stresin böbrekte büyük olasılıkla fonksiyonel yetersizliğe yol açacak glomerüler hasara ve tübülepitel hücrelerinde zedelenmeye sebep olduğu düşünüldü. (**Sakarya Tıp Dergisi 2017, 7(4):168-175**)

Anahtar Kelimeler: Kronik stres; böbrek; sıçan; histopatoloji; renal hasar; nefron tübülü

Abstract

Objective: Stress, which is a part of daily life, causes many diseases by disrupting the existing balance in the body. In this study, we aimed to investigate possible renal structural changes resulting from the exposing to chronic stress-producing factors.

Method: Twelve male, adult *Sprague Dawley* rats were used in this study. After the rats were divided into two groups as the control (n=6) and stress (n=6) groups, unpredictable chronic mild stress (CMS) protocol was applied to the stress group for 4 weeks. At the end of the experiment, the kidneys were removed from the sacrificed rats under the anaesthesia, and promptly, renal volumes were measured by using the water immersion method. After a routine histological procedure, the kidneys were examined under a light microscope for histopathological evaluations.

Results: When comparing with the control kidney volumes ($1,075 \pm 0,106$ ml), the kidney volumes of the stress group ($0,90 \pm 0,096$ ml) were found significantly lower ($p < 0,05$, *independent samples t test*). At the light microscopic examination of the stress kidneys, necrotic degeneration and epithelial desquamation of the nephron tubules were determined. Cytoplasmic swelling and cellular vacuolizations, leading to cellular lysis and disruption of the tubular wall integrity, were evident in the proximal and distal tubule epithelia. Necrotic alterations of the epithelium and luminal dilatations were also prominent in the loop of Henle. Additionally, glomerular shrinkage and an enlargement of Bowman's space were observed.

Conclusion: On the basis of our findings, it has thought that chronic stress causes to glomerular damage and epithelial cell injury of nephron tubules, leading most probably to functional impairment of kidney. (**Sakarya Med J 2017, 7(4):168-175**)

Giriş

Günlük hayatta karşılaşılan iş, okul, evlilik, vs. ile ilgili sorunlar ve onlarla baş etme çabası kişileri farkında olmadan stresli bir yaşam tarzına sahip duruma getirir. Stres, organizmadaki mevcut denge- nin bozulmasına yol açabilecek bir takım faktörlere karşı vücudun olağan dışı yanıtlar vermesi¹ ve vücutta birçok değişikliğin meydana gelmesi olarak tanımlanır.² Vücuttaki bu değişiklikler arasında immünolojik, endokrin ya da davranışsal değişiklikler sayılabilir.³ Uzun dönem strese maruz kalan insanlarda bitkinlik, erken yaşlanma,⁴ mide ülseri,⁵ kronik anksiyete, depresyon, obezite, inflamasyon, immünolojik ve kardiyovasküler hastalıklar⁶ gibi durumların ortaya çıktığını bildiren çalışmalar mevcuttur.^{7,8} Stres koroner kalp hastalıklarının gerek başlangıcını gerekse de seyrini etkileyen önemli bir psikososyal faktördür.⁹ Kardiyak nedenlere bağlı olarak meydana gelen ölümlerin büyük bir oranında emosyonel stres önemli bir rol oynamaktadır.¹⁰ Bazı çalışmalarda kronik stresin adrenal bezde de hiperplazi ve hipertrofi gibi patolojik durumlara yol açtığı rapor edilmiştir.^{11,12}

Organizmanın, stres yaratan durumlarla yüz yüze geldiğinde karşı reaksiyon oluşturarak yanıt vermesini sağlayan en majör bileşeni hipotalamik-pitüiter-adrenal (HPA) akstır.¹³ Stresöre maruz kalımdan saniyeler sonra HPA aksı aktive olur ve hipotalamustan kortikotropin salgılatıcı hormonun (corticotropin releasing hormone-CRH) salgılanması uyarılır. CRH stimülasyonu ile ön hipofizden salgılanan adrenokortikotropik hormon (adrenocorticotropik hormone-ACTH), adrenal korteksten kortizol başta olmak üzere glukokortikoid hormonların salgılanmasını uyarır. CRH ile birlikte vazopressin de ACTH salgılanmasını uyarır,¹⁴ böbrekler üzerinde etkisini gösteren güçlü bir uyarıcıdır.¹⁵ Kortizolün immun yanıtın tüm komponentleri üzerindeki inhibitör etkisinden dolayı, HPA aksının aktivasyonu da inflamatuvar-immun yanıt üzerinde önemli ölçüde inhibitör etki gösterir.¹⁶

Kronik strese maruz kalmanın böbrek morfolojisi üzerindeki etkilerini gösteren literatür sayısı oldukça kısıtlıdır. Son yıllarda yapılan bir çalışmada kronik strese bağlı olarak böbrekte AT1a reseptör ekspresyonunun artmasının, renin-angiotensin sisteminin aktivasyonu ile ilişkili patolojilerde angiotensin II'nin negatif etkilerini arttırdığı rapor edilmiştir.¹⁷ Yine prepubertal sıçanları kronik immo-

bilizasyon stresine maruz bırakarak yapılan bir çalışmada, strese bağlı glukokortikoid miktarındaki artışın renal doku morfolojisini olumsuz şekilde etkileyebileceği bildirilmiştir.¹⁸

Beklenmedik kronik hafif stres (unpredictable chronic mild stress-CMS) protokolü, çeşitli kısıtlamalar uygulanarak hayvanlarda depresyon modeli oluşturmak için sıkça kullanılan ve oldukça kabul gören bir yöntemdir. CMS protokolü, belli bir dönem boyunca hayvanlara uygulanan çeşitli stresörleri içerir. Uygulama sonucunda hayvanlarda, şeker alımına karşı isteksizlikle kendini gösteren ve anhedoni (anhedonia) olarak adlandırılan depresif durum gelişmektedir.^{19,20}

Biz de bu çalışmada, kronik strese maruz bırakılan hayvan modeli üzerinde böbrekte oluşması muhtemel histopatolojik değişiklikleri ışık mikroskopik düzeyde araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Deney Hayvanları ve Deney Protokolü

Çalışmada 12 adet yetişkin erkek *Sprague Dawley* cinsi sıçan (rat) kullanıldı. Çalışma için etik kurul onayı Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK) alındı. Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (ATADEM) sağlanan deney hayvanları standart pellet yemle ve çeşme suyu ile *ad libitum* olarak beslendi ve 24°C sıcaklıkta, 12 saat karanlık/12 saat aydınlık siklusta barındırıldı. Çalışmada kullanılan 12 adet sıçan, her grupta 6 adet olmak üzere rastgele 2 gruba ayrıldı. Gruplardan biri kontrol grubu diğeri ise stres grubu olarak adlandırıldı. Dört haftalık deney süresi boyunca stres grubuna CMS protokolü uygulandı. Deney boyunca kontrol grubuna hiçbir stresör uygulanmadı. Yapılan literatür^{19,21-24} taramalarından yola çıkarak hazırlanan CMS protokolündeki stresörler aşağıdaki şekilde belirlendi:

- 6 sıçan bir arada 30 cm x 30 cm x 30 cm boyutlarındaki tahta kutuda tutuldu [30 dakika (dk), 2 saat veya 4 saat/farklı günlerde] ve daha sonra çıkarılarak kafeslerine konuldu.
- 6 sıçan bir arada, tekerlekli bir masa üzerinde bulunan 30x30x30 cm boyutlarındaki tahta kutuya konuldu ve masa bir kişi tarafından ileri geri hareket ettirilerek (30 dk veya 1 saat boyunca/farklı günlerde) denekler sallandı ve aynı za-

manda bir osilatör aracılığı ile üretilen 240 hz'lik gürültüye maruz bırakıldı.

- Sıçanlar kendi kafeslerinden çıkarılarak, tek tek ayrı kafeslere konuldu ve 12 saat veya 24 saat boyunca tek bırakıldı.
- 6 sıçan su sıcaklığı 18°C veya 30 °C olan cam su havuzunda 10 dk veya 15 dk boyunca farklı günlerde yüzdürüldü.
- Sıçanlara galvanostatla üretilen 1,0 miliamperlik veya 1,5 miliamperlik elektrik şoku farklı günlerde uygulandı. Akım 10 saniye (sn) uygulanıp kesildi, 120-150 sn beklemeden sonra aynı işlem 10 dk veya 15 dk boyunca tekrarlandı.
- Sıçanların kuyruğuna, kuyruk kökünden 1 cm uzaklıkta bir mandal takılarak 5 dk veya 10 dk beklendi ve sonra çıkarıldı.

Bu stresörler stres grubu hayvanlarına 4 hafta boyunca belirli aralıklarla uygulandı.

Morfometrik ve Histolojik Prosedür

Deney sonunda sıçanlar, Ketamin hidroklorür (50 mg/kg, Ketalar®, Pfizer, Türkiye) ve Xylazin (10 mg/kg, Rompun®, Bayer, Kanada) anestezisi altında sakrifiye edildi. Abdominal diseksiyonla sıçanların sağ ve sol böbrekleri çıkarıldı ve suya daldırma yöntemi^{23,25,26} ile böbrek hacimleri ölçülüp kaydedildi. Ardından böbrekler %10'luk nötral formalin solüsyonu içerisinde fiksasyona bırakıldı. Fiksasyonu sağlanan böbrekler, dereceli alkol ve ksilol serilerinden geçirildikten sonra parafine gömüldü. Parafinde bloklanmış doku örnekleri mikrotom (Leica RM2125RT, Germany) ile kesildi. 4-5 µm kalınlığında alınan kesitler hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandıktan sonra, dijital renkli kamera ataçmanı (Nikon DS-Fi1, Japan) olan bir ışık mikroskopunda (Nikon Eclipse E600, Japan) incelenerek fotoğrafları çekildi.

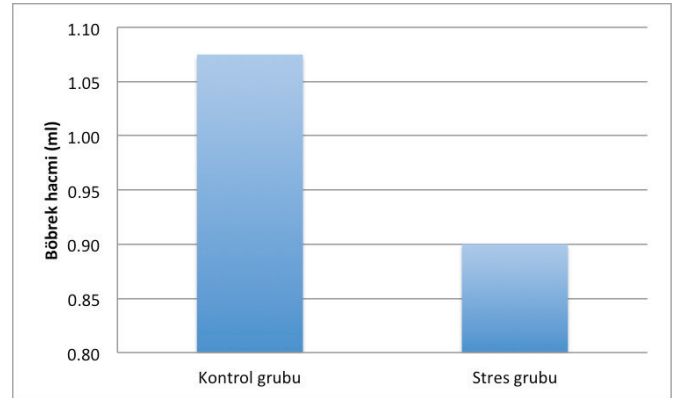
İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi *Microsoft SPSS for Windows 20.0* istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arası karşılaştırma için *independent samples t test* kullanıldı. Veriler ortalama ve standart sapma ile ifade edildi. $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Morfometrik değerlendirme için, her iki deney grubunda da ab-

dominal diseksiyon ile çıkarılan böbreklerin hacmi, suya daldırma yöntemi ile ölçüldü. Buna göre kontrol grubuna ait sıçanların böbrek hacmi $1,075 \pm 0,106$ ml ve stres grubundaki sıçanların böbrek hacmi $0,90 \pm 0,096$ ml olarak hesaplandı. Volümetrik veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, stres grubunda böbrek hacminin, kontrol grubundakine kıyasla önemli düzeyde azalmış olduğu görüldü ($p < 0,05$; *independent samples t test*) (Şekil 1).

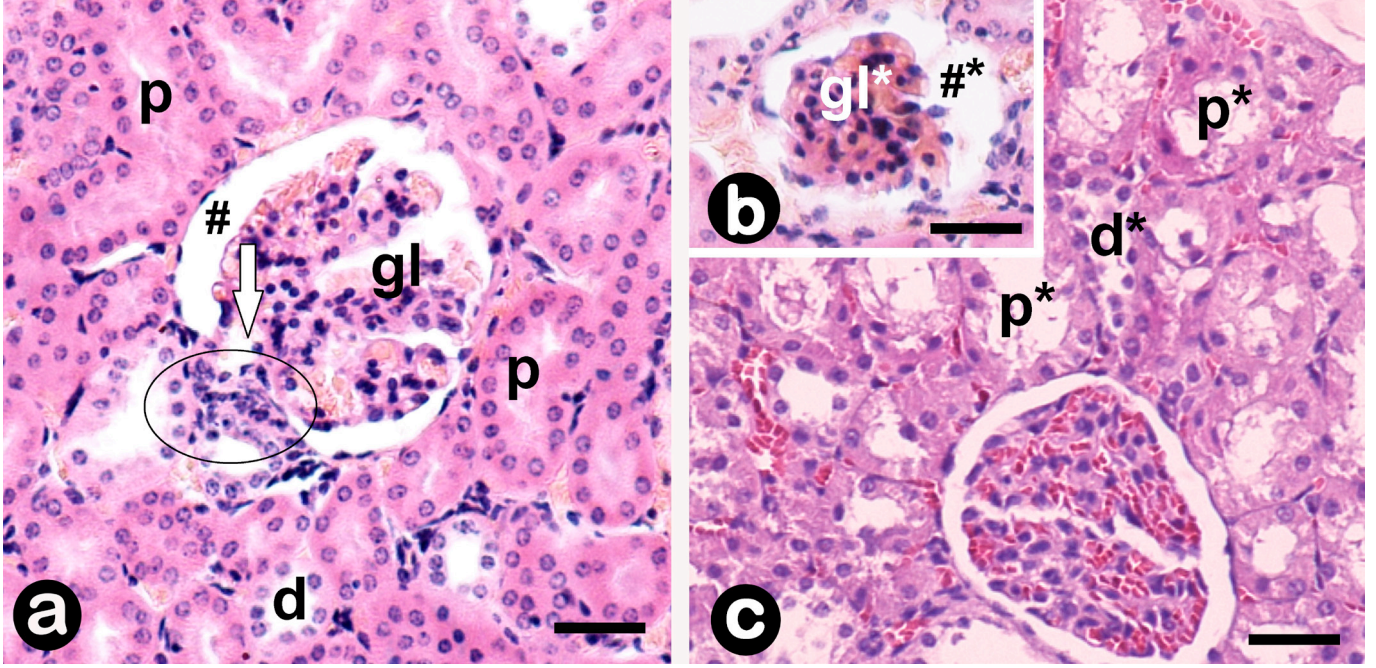


Şekil 1. Kontrol ve stres gruplarına ait böbrek hacimlerinin istatistiksel ortalamalarını gösteren grafik.

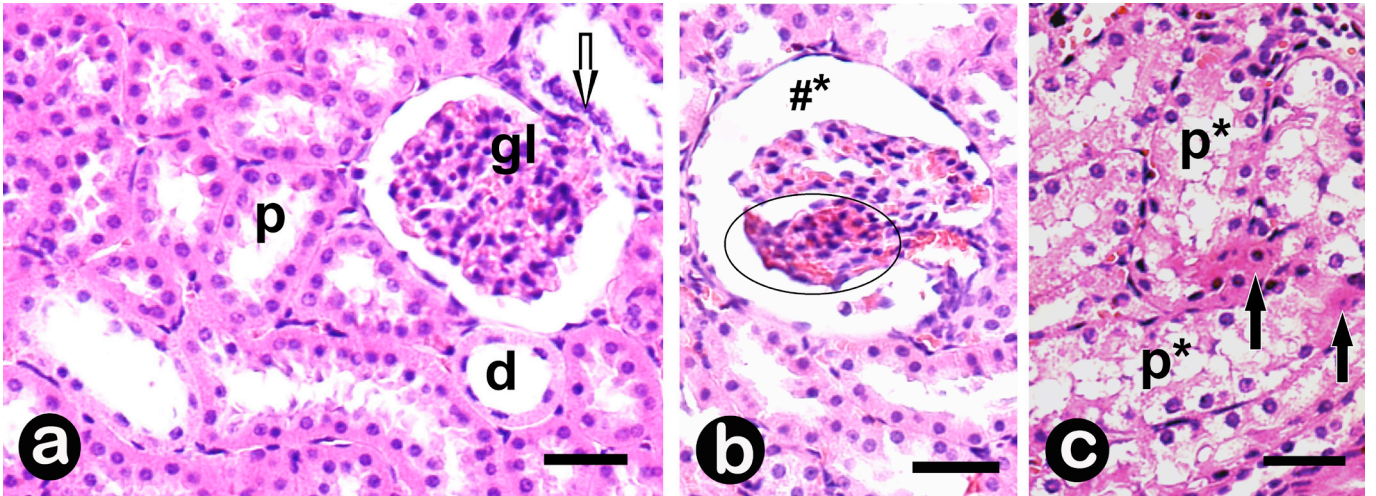
Histokimyasal yöntemle boyanmış parafin kesitler ışık mikroskopunda incelendiğinde, kontrol grubu böbreklerinin korteksi ortada bir glomerül içeren sferik renal korpusküllerle ve enine ya da uzunlamasına kesilmiş kıvrıntılı nefron tübülleri ile karakterize olan normal görünüşte idi. Renal korpuskülün damar kutbunda, afferent arteriöl duvarındaki modifiye kas hücrelerini, kutup yastıkcığı hücrelerini ve distaltübül duvarındaki makula densayı içeren jukstaglomeruler aparat belirgin olarak görüldü (Şekil 2a ve 3a). Medulla ise nefronun düz tübüler segmentleri ve düz toplayıcı kanalların varlığı nedeniyle çizgili görünümde izlendi (Şekil 4a).

Stres grubu sıçanlardan alınan böbreklerin kortikal labirentinde yer yer büzülmüş glomerüllere rastlandı. Glomerülü bu şekilde dejenerasyon gösteren renal korpusküllerin Bowman aralığı kontrole nazaran daha genişlemiş olarak görüldü (Şekil 2b, 3b). Bunun yanı sıra, nefron tübüllerinin kıvrıntılı parçalarını döşeyen epitel hücrelerinde belirgin patolojik değişiklikler izlendi. Bu değişiklikler sitoplazmik şişme, sitoplazmik vakuolizasyon, deskuamasyon ve bazı alanlarda da sitoplazmik eozinofilide artış ve nükleer piknoz ile

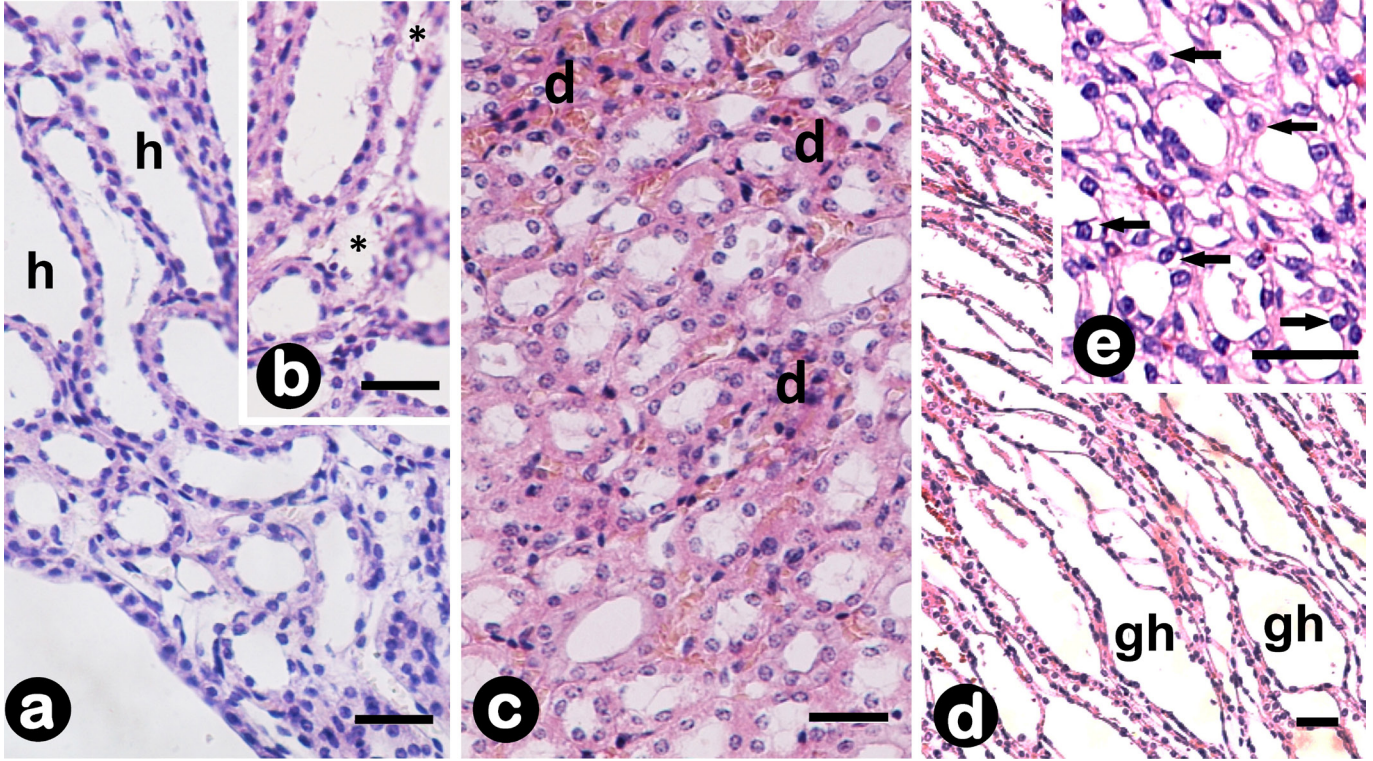
kendini ifade eden nekrotik değişimler olarak değerlendirildi (Şekil 2c, 3c).



Şekil 2. Kontrol grubu (a) ve stres grubu (b,c) böbrek kortekslerine ait ışık mikrograflar. gl: normal glomerül; gl*: büzüşmüş glomerül; #: normal Bowman aralığı; #*: genişlemiş Bowman aralığı; p: normal proksimal tübül; d: normal distal tübül; p*: epitelide dejenere proksimal tübül; d*: epitelide dejenere distal tübül; beyaz ok: glomerülün afferent arteriolü; daire içindeki alan: jukstaglomerüler aparat. Boya: H-E. Bar: 50 µm.



Şekil 3. Kontrol grubu (a) ve stres grubu (b,c) böbrek kortekslerine ait ışık mikrograflar. gl: normal glomerül; #*: genişlemiş Bowman aralığı; p: normal proksimal tübül; d: normal distal tübül; p*:epitel hücrelerinde ileri derecede vakuolizasyon olan dejenere proksimal tübül; daire içindeki alan: büzüşmüş glomerüler bölüm; beyaz ok: makula densa; siyah ok: proksimal tübül epitelinde nekrotik hücreler. Boya: H-E. Bar: 50 µm.



Şekil 4. Kontrol grubu (a) ve stres grubu (b,c,d,e) böbrek medullalarına ait ışık mikroyraflar. h: normal görünümde olan Henle kulpunun ince parçası; *: duvar bütünlüğü bozulmuş olan dejenere Henle kulpu; gh: genişlemiş Henle kulpu; siyak ok: Henle kulpunun kalın parçasındaki epitel hücrelerinde vakuolizasyon ve sitoplazmik şişme; d: medullada bağ dokusu artışı ile birlikte görülen hücresel debris alanları (nekrotik fokus). Boya: H-E. Bar: 50 µm.

Stres grubuna ait böbreklerin medullasında da histopatolojik değişiklikler mevcuttu (Şekil 4b, 4c, 4d, 4e). Medullanın düz tübülleri arasında yer yer, hücresel debris içeren nekrotik odaklar (nekrotik fokus) görüldü. Bu hücresel debris alanlarında, koyu eozinofil boyanmış bağ dokusu artışı ile karakterize fibrozis dikkat çekiciydi (Şekil 4c). Henle kulpunun özellikle ince parçasında, küçük büyütmelerde dahi oldukça belirgin olan lüminal genişlemeler görüldü (Şekil 4d). Henle'nin ince parçasını döşeyen tek katlı yassı epitelde bazı alanlarda ciddi hasar oluştuğu ve böylece duvar bütünlüğünün bozulduğu saptandı (Şekil 4b). Henle kulpunun kalın parçalarını döşeyen epitel hücrelerinde ise sitoplazmik şişme ve vakuolizasyon mevcuttu (Şekil 4e).

Tartışma

Stres, insanda depresyon oluşmasına neden olan en önemli etkenlerden biridir. Hayvan modelleri oluşturmada kullanılan CMS protokolü hem depresyon oluşturmada hem de depresyonun pa-

tofizyolojisini ve tedavi yöntemlerini araştırmada kullanılan geçerli bir yöntemdir.^{19-24,27} Stresli koşullar altında vücuttaki tüm organların aktivitesinde değişiklikler meydana geldiği bilinmektedir. Bu duruma verilebilecek en iyi örneklerden biri adrenal korteksten salınan glukokortikoid miktarındaki artıştır. Stresli durumda glukokortikoidlerin varlığında idrardaki hidrojen iyon miktarının arttığı,¹⁸ glukokortikoid artışının fetal dönemde böbrek ve daha birçok organda endokrin ve metabolik dengelerin bozulmasına neden olarak fetal gelişimi bile olumsuz etkilediği bildirilmektedir. Hu ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada tekrarlayan yüzmeye stresine maruz bırakılan hayvanların hem adrenal bez hem de böbrek ağırlıklarında önemli bir artışın olduğu tespit edilmiştir.²⁸ Ancak biz, kronik strese maruz bırakılan sıçanlarda, böbrek hacminin kontrole kıyasla azalmış olduğunu saptadık. Benchimol de Souza ve ark. (2011) da morfometrik ve stereolojik analizler yaparak kronik stresin, sıçanlarda puberte öncesi nefron sayısında önemli bir azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir.¹⁸ Biz de stres grubunda saptadığımız

böbrek hacmindeki azalmanın, strese bağlı böbrek hasarından ve doku kaybından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Üzüntü ve psikolojik stres gibi durumların yüksek oranda oksidatif hasar kaynağı olduğu bilinmektedir.²⁹ Yapılan çalışmalarda tek-rarlayan beklenmedik stresin, beyinde reaktif oksijen türevlerinin (ROS) oluşumuna neden olduğu²⁷ ve bu oluşumların da oksidatif hasara yol açtığı gösterilmiştir.³⁰ Vücutta antioksidan savunma mekanizmaları ile serbest radikallerin oluşumu arasında var olan dengenin bozulması ile doku hasarının meydana gelmesi oksidatif stres olarak adlandırılır.^{31,32} Fizyolojik olarak oksidatif bileşiklerin oluşması, doku tamir sürecinde ve inflamasyonda önemli bir adımdır. Aslında bu bileşikler mikroorganizmalara ve malign hücrelere karşı gösterilmesi gereken savunma mekanizmasının birer parçasıdır.^{33,34} Bazen de ROS, stresli durumlara yanıt olarak oluşturulan ve hücre uyumu kolaylaştıran bir ara bulucu gibi davranmaktadır.³⁵ Ancak oksidatif süreçlerin uygun ve doğru olmayan aktivasyonu, hücre ve doku hasarına neden olan patolojik durumların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır.^{32,33} Oksidatif stres ve inflamasyon, kronik böbrek hastalıklarının yaygın bir özelliği ve ilerlemiş renal hasarın en büyük göstergesidir.³⁶ Çeşitli nedenlerle oluşan oksidatif stresin böbrek glomerüllerinde ve tübüllerinde hem yapısal hem de fonksiyonel anormalliklere yol açtığını gösteren çalışmalar mevcuttur.^{37,38} Stres akut renal bozukluklardan,³⁹ obstrüktif nefropati,⁴⁰ hiperlipidemia,⁴¹ glomeruler hasar,⁴² hemodiyaliz ve kronik renal bozukluklara kadar pek çok renal soruna⁴³ neden olmaktadır. Hücrelerin ve organellerin membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olan ROS, özellikle proksimal tübüllerdeki epitel hücrelerinin ya da kapiller endotel hücrelerinin geçirgenliğinde artışa neden olmakta, bu durum da enerji üretimi ve hücre transport için gerekli olan kapasiteyi ve yapısal bütünlüğü bozmaktadır.^{44,45} Serbest radikallerin neden olduğu kapiller bazal membran hasarı mikrovasküler sızıntıyı artırarak endotel hücre hasarı ile sonuçlanmaktadır.⁴⁵ Oksidatif stres glomerüllerin yapısını ve fonksiyonlarını değiştirebilir.⁴⁶ Çünkü nefronun diğer kısımlarına oranla bu kısım daha hassas bir yapıya sahiptir.⁴¹

Biz de bu çalışmada stres uygulanan grupta gerek nefron tübüllerinde ve gerekse glomerüllerde nekrotik değişiklikler ve ciddi hücre hasarlanma gözlemledik. Bu hasarın, strese bağlı olarak

tetiklenen lipid peroksidasyonundaki olası artıştan kaynaklanmış olabileceğini düşündük.

Sisplatin uygulaması ile oluşturulan nefrotoksisitenin, böbreklerde lipid peroksidasyonundaki artışa bağlı olduğunu gösteren çalışmalarda, sisplatinin superoksit anyonları, hidroksil radikalleri gibi serbest radikalleri artırdığı ortaya konulmuştur.⁴⁷⁻⁵¹ Tarladacalisir ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada hücre hasarına ve nekroza yol açan ROS artışına bağlı olarak tübüler dilatasyon, tübüler nekroz, yassılaşmış tübüler hücreler, bazofilik sitoplazmalı genişlemiş nükleuslu hücreler, genişlemiş Bowman kapsülü ve kalınlaşmış Bowman kapsülü bazal membranı tespit etmişlerdir.⁵¹

Stresli koşullar, serbest radikallerin üretiminde artışa neden olarak oksidatif stresin artmasına ve böylece oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulmasına yol açarlar.⁵² ROS artışıyla orantılı olarak çoğalan oksidatif stresin dokularda hasara neden olduğu da bilinmektedir.⁵³ Son yıllarda yapılan çalışmalarda elde edilen veriler ROS'un, iskemik akut böbrek yetmezliği, akut glomerulonefrit, toksik renal hastalıklar gibi pek çok renal hastalığın patofizyolojisinde anahtar rol üstlendiğini göstermiştir.⁵⁴⁻⁵⁶ ROS, glomerüler bazal membranı bozarak, glomerüler ve tübüler hücre fonksiyonlarının değişmesine⁵⁵ ve glomerüler filtrasyonda aksaklıklara neden olmaktadır.⁵⁷

Biz de yaptığımız deneyde, kronik stres uygulanan sıçanlarda nefronun kıvrıntılı tübüllerinin epitel hücrelerinde dökülme ve dejenerasyon gözlemledik. Ayrıca tübül lümenlerinde genişleme ve tübüller arasında hücre debris alanları tespit ettik. Kontrol grubuyla kıyasladığımızda stres grubunda büzüşmüş glomerüller ve genişlemiş Bowman kapsülü gördük. Henle kulpu epitelinde de yine hücresel şişme ve ileri düzeyde vakuolleşme ile karakterize hücresel zedelenme saptadık. Elde ettiğimiz bu veriler ışığında, kronik strese maruz kalındığında böbrek dokusunda, organ yetmezliğine kadar götürebilecek düzeyde ciddi histopatolojik değişikliklerin oluşabileceği kanısına vardık. Stresle indüklenen renal yapı değişikliklerinin renal hastalıkların patogenezinde önemli rol oynayabileceğini ve fakat bu etkinin mekanizmalarını açıklayabilecek daha ileri düzeyde moleküler çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

- Diane A, Victoriano M, Fromentin G, Tome D, Larue-Achagiotis C. Acute stress modifies food choice in Wistar male and female rats. *Appetite* 2008;50:397-407.
- Balcioglu I, Savrun M. Stress and Hormones. *T Klin J Psychiatry* 2001;2:43-50.
- Silberman DM, Wald MR, Genaro AM. Acute and chronic stress exert opposing effects on antibody responses associated with changes in stress hormone regulation of T-lymphocyte reactivity. *J Neuroimmunol* 2003;144:53-60.
- Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:17312-17315.
- Gulati K, Chakraborti A, Ray A. Gender Based Differences in Stress-induced Gastric Ulcer Formation and its Regulation by Nitric Oxide (NO): An Experimental Study. *Curr Pharm Design* 2015;21:3395-3401.
- Derian W, Soundarraj D, Rosenberg M. Stress-induced cardiomyopathy: Not always apical ballooning. *Reviews in cardiovascular medicine* 2007;8:228-233.
- Bruder-Nascimento T, Campos DHS, Leopoldo AS, Lima-Leopoldo AP, Okoshi K, Cordellini S et al. Chronic Stress Improves the Myocardial Function without Altering L-type Ca²⁺ Channel Activity in Rats. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia* 2012;99:907-914.
- Vanitallie TB. Stress: A risk factor for serious illness. *Metabolism-Clinical and Experimental* 2002;51:40-45.
- Tennant C. Work stress and coronary heart disease. *Journal of cardiovascular risk* 2000;7:273-276.
- Vlastelica M. Emotional stress as a trigger in sudden cardiac death. *Psychiat Danub* 2008;20:411-414.
- Kim YS, Lee MY, Choi CS, Sohn YW, Park BR, Choi MG et al. The effect of chronic variable stress on bowel habit and adrenal function in rats. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2008;23:1840-1846.
- Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 2006;291:E965-973.
- Diorio D, Viau V, Meaney MJ. The Role of the Medial Prefrontal Cortex (Cingulate Gyrus) in the Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to Stress. *J Neurosci* 1993;13:3839-3847.
- Lo Sauro C, Ravalidi C, Cabras PL, Faravelli C, Ricca V. Stress, hypothalamic-pituitary-adrenal axis and eating disorders. *Neuropsychobiology* 2008;57:95-115.
- Desborough JP. The stress response to trauma and surgery. *Brit J Anaesth* 2000;85:109-117.
- Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 2002;53:865-871.
- Milik E, Cudnoch-Jedrzejewska A, Szczepanska-Sadowska E. Effect of Chronic Mild Stress on AT1 Receptor Messenger RNA Expression in the Brain and Kidney of Rats. *Psychosom Med* 2016;78:208-220.
- Benchimol de Souza D, Silva D, Marinho Costa Silva C, Barcellos Sampaio FJ, Silva Costa W, Martins Cortez C. Effects of immobilization stress on kidneys of Wistar male rats: a morphometrical and stereological analysis. *Kidney Blood Press Res* 2011;34:424-429.
- Dalla C, Antoniou K, Drossopoulou G, Xagoraris M, Kokras N, Sfrikakis A et al. Chronic mild stress impact: are females more vulnerable? *Neuroscience* 2005;135:703-714.
- Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 2005;52:90-110.
- Willner P. Animal models of depression: an overview. *Pharmacology & therapeutics* 1990;45:425-455.
- Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology* 1997;134:319-329.
- Demirci T, Sahin E. Heart And Stress: A Morphometric and Light Microscopic Study In A Rat Model. *Averroes European Medical Journal* 2017;4:1-9.
- Demirci T. Kronik strese ve yağlı diyete maruz bırakılan sıçanlarda testis ve spermlerin immunhistokimyasal ve morfometrik yöntemler eşliğinde ışık mikroskopik değerlendirilmesi. *Tıpta Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi* 2011.
- Altunkaynak BZ, Ozbek E. Overweight and structural alterations of the liver in female rats fed a high-fat diet: a stereological and histological study. *Turk J Gastroenterol* 2009;20:93-103.
- Demirci T, Ozbek E. Volumetric and light microscopic analyses of adrenal glands in stress-administrated female rats. *Surg Radiol Anat* 2009;31(suppl): 125.
- Bhatt S, Radhakrishnan M, Jindal A, Devadoss T, Dhar AK. Neuropharmacological evaluation of a novel 5-HT3 receptor antagonist (6g) on chronic unpredictable mild stress-induced changes in behavioural and brain oxidative stress parameters in mice. *Indian J Pharmacol* 2014;46:191-196.
- Hu Y, Gursoy E, Cardounel A, et al. Biological effects of single and repeated swimming stress in male rats: beneficial effects of glucocorticoids. *Endocrine* 2000;13:123-129.
- Aschbacher K, O'Donovan A, Wolkowitz OM, Dhabhar FS, Su Y, Epel E. Good stress, bad stress and oxidative stress: insights from anticipatory cortisol reactivity. *Psychoneuroendocrinology* 2013;38:1698-1708.
- Gutierrez J, Ballinger SW, Darley-Usmar VM, Landar A. Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circ Res* 2006;99:924-932.
- Aruoma OL. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *JAACS* 1998;75:199-211.
- Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997;82:291-295.
- Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1272-1280.
- Handelman GJ. Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif* 2000;18:343-349.
- Sena LA, Chandel NS. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell* 2012;48:158-167.
- Kim HJ, Vaziri ND, Norris K, An WS, Quiroz Y, Rodriguez-Iturbe B. High-calorie diet with moderate protein restriction prevents cachexia and ameliorates oxidative stress, inflammation and proteinuria in experimental chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2010;14:536-547.
- Rajavel V, Abdul Sattar MZ, Abdulla MA, Kassim NM, Abdullah NA. Chronic Administration of Oil Palm (*Elaeis guineensis*) Leaves Extract Attenuates Hyperglycaemic-Induced Oxidative Stress and Improves Renal Histopathology and Function in Experimental Diabetes. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012;2012:195367.
- Lee EA, Seo JY, Jiang Z, Yu MR, Kwon MK, Ha H et al. Reactive oxygen species mediate high glucose-induced plasminogen activator inhibitor-1 up-regulation in mesangial cells and in diabetic kidney. *Kidney Int* 2005;67:1762-1771.
- Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev* 1999;31:971-997.
- Klahr. Urinary tract obstruction. *Semin Nephrol* 2001;21:133-145.
- Sakatsume M, Kadomura M, Sakata I, Imai N, Kondo D, Osawa Y et al. Novel glomerular lipoprotein deposits associated with apolipoprotein E2 homozygosity. *Kidney Int* 2001;59:1911-1918.
- Kitamura M, Ishikawa Y. Oxidant-induced apoptosis of glomerular cells: intracellular signaling and its intervention by bioflavonoid. *Kidney Int* 1999;56:1223-1229.
- Handelman GJ, Walter MF, Adhikarla R, Gross J, Dallal GE, Levin NW et al. Elevated plasma F2-isoprostanes in patients on long-term hemodialysis. *Kidney Int* 2001;59:1960-1966.
- Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull* 1993;49:621-629.
- Baker GL, Corry RJ, Autor AP. Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase. *Ann Surg* 1985;202:628-641.
- Rodrigo R, Bosco C. Oxidative stress and protective effects of polyphenols: comparative studies in human and rodent kidney. A review. *Comp*

Kaynaklar



Kaynaklar

- Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol 2006;142:317-327.
47. Antunes LM, Darin JD, Bianchi Nde L. Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res* 2001;43:145-150.
 48. Hannemann J, Baumann K. Cisplatin-induced lipid peroxidation and decrease of gluconeogenesis in rat kidney cortex: different effects of antioxidants and radical scavengers. *Toxicology* 1988;51:119-132.
 49. Sadzuka Y, Shoji T, Takino Y. Mechanism of the increase in lipid peroxide induced by cisplatin in the kidneys of rats. *Toxicol Lett* 1992;62:293-300.
 50. Sugihara K, Nakano S, Koda M, Tanaka K, Fukuishi N, Gemba M. Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues. *Jpn J Pharmacol* 1987;43:247-252.
 51. Tarladacalisir YT, Kanter M, Uygun M. Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: a light and electron microscopic study. *Ren Fail* 2008;30:1-8.
 52. Nirmal J, Babu CS, Harisudhan T, Ramanathan M. Evaluation of behavioural and antioxidant activity of *Cytisus scoparius* Link in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *BMC Complement Altern Med* 2008;8:15.
 53. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes* 2003;52:1-8.
 54. CeballosPicot I, WitkoSarsat V, MeradBoudia M, Nguyen AT, Thevenin M, Jaudon MC et al. Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radical Biology and Medicine* 1996;21:845-853.
 55. Baud L, Ardailou R. Reactive Oxygen Species - Production and Role in the Kidney. *American Journal of Physiology* 1986;251:F765-F776.
 56. Vaziri ND, Bai Y, Ni Z, Quiroz Y, Pandian R, Rodriguez-Iturbe B. Intra-renal angiotensin II/AT1 receptor, oxidative stress, inflammation, and progressive injury in renal mass reduction. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;323:85-93.
 57. Yoshioka T, Bills T, Moorejarrett T, Greene HL, Burr IM, Ichikawa I. Role of Intrinsic Antioxidant Enzymes in Renal Oxidant Injury. *Kidney International* 1990;38:282-288.

