



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARADA ESWL (Vucut Dışı Şok Dalgası) SONRASI OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK VE HSP 70 (Heat Shock Protein) EKSPRESYONU KULLANILARAK DEĞERLENDİRİLMESİ VE FOSFODİESTERAZ TİP 5 İNHİBİTÖRÜNÜN (Tadalafil) ROLÜ

Dr. Mahmut Esat DANIŞOĞLU

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2011



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARADA ESWL (Vucut Dışı Şok Dalgası) SONRASI OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOPATOLOJİK OLARAK VE HSP 70 (Heat Shock Protein) EKSPRESYONU KULLANILARAK DEĞERLENDİRİLMESİ VE FOSFODİESTERAZ TİP 5 İNHİBİTÖRÜNÜN (Tadalafil) ROLÜ

Dr. Mahmut Esat DANIŞOĞLU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Hakan KILIÇARSLAN

BURSA – 2011

İÇİNDEKİLER

Özet	ii
İngilizce Özet	iv
Giriş	1
1. Böbrek Anatomisi	3
1.1. Arter Sistemi	4
1.2. Ven Sistemi	6
1.3. Lenfatik Sistemi	6
1.4. Glomerüllerin ve Toplayıcı Kanalların Mikroskopik Anatomisi.	7
2. Böbrek Fizyolojisi.....	8
2.1. Böbreğin İdrar Oluşturma Mekanizması.....	8
2.2. Renal Tubuler Hücre Fonksiyonları.....	9
2.3. Tubuli Segmentlerinin Absorbsiyon Yetenekleri.....	9
3. SWL	11
4. Renal İskemik Hasarın Patofizyolojisi ve Morfolojisi.....	22
5. Serbest Radikallerin Etkileri.....	33
6. Nitrik Oksit.....	34
7. cGMP.....	37
8. Dokuda Oksijen Radikallerinin oluşumu.....	38
9. Renal İskemi ve Reperfüzyonun Neden Olduğu Histopatolojik Değişiklikler.....	39
10. SWL ve Deneysel Hayvan Araştırmaları.....	40
11. Heat Shock Protein (HSP).....	41
12. Tadalafil.....	45
Gereç ve Yöntem	48
Bulgular	56
Tartışma ve Sonuç	66
Kaynaklar	79
Teşekkür	89
Özgeçmiş	90

ÖZET

Çalışmamızda şok dalga litotripsi (SWL) sonrası oluşan değişikliklerin histopatolojik olarak ve HSP-70 ekspresyonu kullanılarak değerlendirilmesi ve bir fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü olan Tadalafilin oluşan hasarı önlemedeki rolünü sıçan modelinde incelenmeyi amaçladık.

Kırk adet erişkin erkek Sprague Dawley cinsi sıçan biri kontrol olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Çalışmaya alınan 40 sıçanın 8 i sham grubu geri kalan 32 tanesi ise çalışma gruplarını oluşturdu. Otuziki sıçan, SWL uygulanıp 3. ve 7. gün nefrektomi yapılan, öncesinde tadalafil verilip SWL uygulanan ve 3. ve 7. günlerde nefrektomi yapılan gruplar olarak ayrıldı. Tüm sıçanlara laparotomi yapılarak her iki taraf perirenal yağ dokusuna 1 er adet hemoklip yerleştirildi. SWL yerleştirilen hemokliplerin merkezi odaklanarak uygulandı. 1500 şok 14 kV güçte SWL uygulandı. Işık mikroskopu ile proksimal tübülüsler, peritübüler alanda fibrozis, mononükleer hücre infiltrasyonu ve glomerüller incelendi. SWL sonrası böbrekte iskemik hasara cevap olarak oluşan HSP-70 ekspresyonu da araştırıldı. Gruplar kendi aralarında ve kontrol grubuyla karşılaştırıldı.

Gruplara göre ışık mikroskopisi altında proksimal tubulus hücreleri, kortikal tubuluslar, medüller kollektör tubuluslardaki değişiklikler ve peritubuler alandaki fibrozis varlığının dağılımına bakıldığında, karşılaştırmada grup 1 ile 5, grup 1 ile 4, grup 2 ile 3, grup 4 ile 5 dışında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Glomerüldeki ışık mikroskopisi değişikliklerinin, karşılaştırmasında gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Gruplara göre kortikal kollektör ve medüller kolektör tubuluslerdeki HSP-70 boyanma dağılımına bakıldığında karşılaştırmada, grup 1 ile 5, grup 1 ile 4, grup 2 ile 3, grup 4 ile 5 dışında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Glomerüllerdeki HSP-70 boyanma dağılımına bakıldığında karşılaştırmada, grup 1 ile 2, grup 1 ile 3, grup 1 ile 5,

istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır. Proksimal tübülüs hücrelerinde hiçbir grupta HSP-70 boyanması olmamıştı.

Sonuç olarak; SWL'nin böbrekte iskemi reperfüzyon hasarına neden olabileceği ışık mikroskopisi ve HSP-70 boyama bulgularına dayanarak gösterilmiştir. Bulgularımız, tadalafilin SWL'ye bağlı oluşan bu renal hücre hasarını engelleyebileceğini düşündürmüştür

Anahtar kelimeler: Heat Shock Protein, şok dalga litotripsi, iskemi reperfüzyon hasarı, tadalafil.

SUMMARY

Evaluation of the Changes Observed After SWL (Shock Wave Lithotripsy) Based on Histopathologic Examination and HSP 70 (Heat Shock Protein) Expression in the Rats and the Role of Phosphodiesterase Type 5 (Tadalafil)

Our study aimed to evaluate the changes observed after SWL based on histopathologic examination and HSP-70 expression and to examine the role of tadalafil, a phosphodiesterase type 5 inhibitor, in the prevention of the injury in a rat model.

A total of 40 adult, male Sprague Dawley rats were divided into 5 groups, one of which was the control. Of these 40 rats, 8 consisted the sham group and the remaining 32 consisted the study groups. Thirty two rats were divided as follows: SWL + nephrectomy at Days 3 and 7; administration of tadalafil followed by SWL; and nephrectomy at Days 3 and 7. All rats underwent laparotomy, during which two hemoclips was placed in the perirenal adipose tissue of the both sides. SWL was given by focusing into the center of the hemoclips placed. SWL was given at 14 kV for 1500 shocks. Proximal tubules, peritubular fibrosis, mononuclear cell infiltration and glomeruli were examined using light microscope. We examined HSP-70 expression, which occurred in response to renal ischemic injury observed after SWL. The groups were compared between each other and with the control group.

When proximal tubule cells, cortical tubules, changes of medullar collector tubule and the presence peritubular fibrosis were examined by groups using light microscope, it was seen that there was statistically significant difference, except for the comparisons between Group 1 and 5, Group 1 and 4, Group 2 and 3, Group 4 and 5. When the groups were compared for the changes of glomerulus observed using light microscope, no statistically significant difference was found.

When the groups were compared for the distribution of HSP-70 staining in cortical collector and medullar collector tubules, a statistically significant difference was found, except between Group 1 and 5, Group 1 and 4, Group 2 and 3, Group 4 and 5. The comparison of the distribution of HSP-70 staining in the glomeruli revealed a statistically significant difference between group 1 and 2, group 1 and 3 and group 1 and 5. Proximal tubule cells showed HSP-70 staining in none of the groups.

Consequently, based on the results of light microscopy and HSP 70 staining, we demonstrated that SWL could cause renal ischemia-reperfusion injury. Our results suggested that tadalafil could prevent this SWL-related renal cell injury.

Key words: Heat Shock Protein, shock wave lithotripsy, ischemia-reperfusion injury, tadalafil.

GİRİŞ

Üriner sistem taş hastalığı, insanlık tarihinin bilinen en eski ve yaygın hastalıklarından biridir. Milattan önce 4000'li yıllardan günümüze ulaşan Mısır'daki mumyalarda mesane ve böbrek taşlarının saptanması ve Hipokrat'a ait yazılarda mesane taşı ile ilgili bilgilerin verilmesi bu tezi desteklemektedir (1). Üriner sistem taş hastalığı, üriner enfeksiyonlar ve prostat patolojilerinden sonra üriner sistemi en sık etkileyen üçüncü patolojidir (1).

Üriner sistem taş hastalığının insidansı %2 ile %3 arasında değişmekte olup sık nüks etmektedir. Cerrahi ve diğer tedavi yöntemlerle taştan arındırılan bir hastada yeniden taş oluşumunu engellemek için uygun profilaksi yapılmadığı takdirde kalsiyum oksalat taşlarının rekkürens oranı 1 yıl için %10, 5 yıl için %35 ve 10 yıl için %50 dir (2).

Üriner sistem taş hastalığının yüksek oranlarda nüks etmesi, iş gücü ve maddi kayba yol açması, açık cerrahi tedavi yöntemlerinin invaziv ve göreceli olarak uzun süre hastanede kalmayı gerektirmesi, tedavide minimal invaziv yöntemlere gereksinim oluşturmaktadır (3). İlk kez 1980 yılında Caussy tarafından üriner sistem taş hastalığı tedavisine sunulan ekstrakorporeal şok dalga litotripsi (SWL) yöntemi, seçilmiş olgularda tatminkar başarı oranları ile çoğu üst üriner sistem taşlarının tedavisinde tercih edilen ilk yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır(4).

SWL ile üriner sistem taşlarının tedavisi tıp tarihinde gerçekleşen en önemli gelişmelerden biridir. Bu yöntem; vücut dışındaki bir kaynaktan elde edilen ses dalgalarının şok dalgaları haline getirilip, taşa yönlendirilmesiyle taşın parçalanması esasına dayanır (5).

Halen birçok ülkede değişik model ve etkinlikteki litotriptörler ile vücut dışından uygulanan şok dalgaları ile özellikle böbrek ve üreter taşlarının tedavisi yaygın bir şekilde yapılmaktadır. Buna karşın SWL'nin uzun dönemdeki etkileri tam olarak bilinmemektedir (6, 7). Organizmada sebep olduğu histopatolojik, ultrastrüktürel ve biyokimyasal değişiklikler ve bunların

yol açabileceği lokal ve sistemik bozukluklar üzerine çalışmalar sürmektedir (8-11). Yöntemin kullanıma girdiği ilk yıllarda 500-1000 atış ile o günün şartlarındaki cihazlarla uygulanan tedaviler sonucunda varılan "SWL'nin böbrek ve komşu dokularda hasar meydana getirmedeği" kanısı, klinik ve deneysel çalışmalarla bugün değişmiştir. Şimdiye kadar ileri sürülmüş mekanizmalardan biri SWL'nin vasküler hasar ve tromboz zemininde oluşan hipoksi ve iskemi yoluyla hasar oluşturduğu görüşüdür (12).

Histopatolojik çalışmalar yüksek enerjili şok dalgalarının böbreklerde meydana getirdiği hasarın en önemli nedeninin bozulmuş intrarenal perfuzyona bağlı olduğunu ortaya koymuştur ki buradaki hedef hücrenin renal tubüler hücreler olduğu önceki çalışmalarla ortaya konmuştur. SWL sonrasında uygulama yapılan böbrekte ve kontralateral böbrekte renal kan akımında azalma ve etkilenen böbrekte radyonüklid üriner klirensinde gecikme olduğu bildirilmiştir. Kontralateral böbrekte renal kan akımında azalma, SWL'ye bağlı renal parankimal hasar sonucu renorenal refleksin geliştiğine işaret etmektedir. Ayrıca iskemiye maruz kalmış vücut dokularının yeniden oksijenize kanla buluşmasına bağlı olarak oluşan serbest oksijen radikallerinin dokuda paradoksik olarak oluşturduğu reperfüzyon hasarı pek çok organda deneysel ve klinik olarak gösterilmiştir (13, 14).

Dokularda, lokal hasarlanma, irritanlar ve enfeksiyonun varlığı, yeni damar oluşumunu indüklemektedir. Bu oluşum, çevre dokular tarafından salgılanan faktörlerce kontrol edilir. Burada en önemli parametre dokulara gelen oksijenin azalmasıdır. Hücrelerin hipoksik ortama adaptasyonu çeşitli faktörlerce sağlanır. İskemi ve reperfüzyon (I/R) sırasında hücresel enerjinin tükenmesine, hücre içinde sodyum, kalsiyum ve reaktif oksijen radikallerinin birikmesine, proteazları, nitrik oksit sentetazları, fosfolipazları ve endonükleazları içeren çok sayıda enzim sisteminin aktive olmasına yol açar; hücre hasarı ve ölümüyle sonuçlanır. Reperfüzyonun kendisi, aktive polimorfonükleer lökositlerin ve trombositlerin dokuyu infiltre etmeleri ile ortaya çıkan akut inflamatuvar yanıtı sekonder olarak lokal hasara yol açar. Doku hasarlanması; sitokinler, nitrik oksit (NO) seviyesindeki lokal

dengesizlikler, endotel hücresi adhezyon molekülleri, trombosit aktive edici faktörler ve serbest radikaller aracılığıyla gerçekleşir (15, 16).

NO, çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlara dahil olan bir anahtar moleküldür. NO'nun hücre fonksiyonları üzerinde düzenleyici, koruyucu ve zararlı etkileri olduğunun anlaşılmasından bu yana, NO donörleri ve antagonistleri, çok sayıda çalışmada I/R hasarının önlenmesinde test edilmiştir. NO'nun çeşitli ikincil mesajcı kaskadları üzerinden etki ettiği gösterilmiştir; ancak etkilerinin çoğu siklik guanozin monofosfat (cGMP) aracılığıyla meydana gelir. NO, cGMP üretimini, sadece vasküler yapılarda değil, aynı zamanda proksimal tübüllerde, çıkan kalın kolda ve toplayıcı duktuslarda da stimüle eder. cGMP, I/R hasarı sırasında intraselüler kalsiyum düzeylerinin regülasyonunda ve trombosit fonksiyonlarının modülasyonunda önemli bir rol oynar. Gerek primer taş hastalığının, gerekse nükslerin engellenmesi konusunda medikal tedavide kullanılan ideal bir ajan henüz tanımlanmamıştır. Birbiriyle bağlantılı olaylar dizisi olan I/R hasarına birçok faktör katılsa da, SWL sonrası oluşan değişikliklerin histopatolojik olarak ve heat shock protein (hsp 70) ekspresyonu kullanılarak değerlendirilmesi ve Tadalafilin oluşan hasarı önlemedeki rolünü ortaya koymayı amaçladık (15, 16).

1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler vücut sıvılarının içeriğinin kontrolünde esas role sahip, vücudun metabolik son ürünlerinin atılımını sağlayan önemli bir organdır. Böbrekler retroperitoneal yerleşimli, kolumna vertebralisin iki tarafında, genellikle 11. torakal vertebra ile 3. lumbal vertebra arasında bulunurlar. Karaciğer nedeniyle genellikle sağ böbrek, sol böbreğe göre biraz daha aşağı lokalizasyonda bulunur. Ağırlıkları yaklaşık olarak erkekte 125 ile 170 gram, kadınlarda 115 ile 155 gramdır. Her böbrek yaklaşık 11.25 cm uzunluğunda 5 ile 7.5 cm eninde ve 2.5 cm'den daha kalın olup sol böbrek biraz daha ince ve uzundur. İki böbreğin toplam ağırlıkları tüm vücut ağırlığının yaklaşık 1/240'ı kadardır (17, 18).

Sağ böbrek; altta kolon, üstte surrenal bezi, önde karaciğer ve hilum yakınlarında duodenum ve vena kava inferiorla komşuluk gösterir. Sol böbrek; üstte surrenal bezi, ön-üstte mide, üst-dışta dalak, hilum bölgesinde pankreas kuyruğu, altta jejenum ve kolonla komşudur (19).

Renal pelvis 5-7 ml. kapasiteli konik bir yapıdır. Pelvis, 2-3 ana majör kalise, bunlar da papillalarda sonlanan 7-13 kalise ayrılır. Kalis boyunları infundibulum olarak adlandırılır. Böbreğe giren ana vasküler yapılarla birlikte renal pelvisin bulunduğu bölüm renal sinüs olarak adlandırılır ve burada arkadan öne doğru renal pelvis, renal arter ve renal ven bulunur. Renal sinüste bu yapıları değişik oranda yağ dokusu çevreler (19).

Böbreğin dışını örten fibröz kapsül sinüs içine dönerek papillaya kadar uzanır ve apse, hematom gibi olayların perirenal alana ya da böbrek dışındaki olayların iç tarafa yayılmasını önlemek amacıyla bariyer oluşturur. Bu fibröz kapsülün dışında ise böbrek renal fasya (Gerota fasyası) ile sarılmıştır. Renal fasyanın ön ve arka iki yaprağı mevcut olup iki yaprak yan kenarda birleşir. Ön yaprak medialde, böbrek damarlarının ön yüzünden orta hatta yaklaşır ve aorta ile vena kava inferior'u saran dokuya karışır. Arka yaprak quadratus lumborum ve psoas majör fasyasının önünde içe doğru uzanır. Psoas fasyasının dış ve iç kenarları ile fascia prevertebralis ve discus intervertebralis'lere tutunur. Renal parankim, korteks ve medulla olmak üzere ikiye ayrılır. Açık renkli korteks, daha koyu renkli olan medulla, sagittal kesit yapılmış böbrekte çıplak gözle fark edilir. Medulla, renal piramid adı verilen multipl konik yapıda segmentler içerir. Her bir piramidin yuvarlak tepesi papilla adını alır ve minör kalislere açılır. Her bir piramidin tabanı, böbreğin dış kenarına paraleldir. Renal korteks, piramidlerin hem aralarını hem de periferal olarak renal sinüse kadar sarar. Korteksin piramidler arasındaki bölümü renal kolonu (Bertini) oluşturur. Damarlar parankime buradan girer ve çıkarlar (17, 18).

1.1. Arter Sistemi

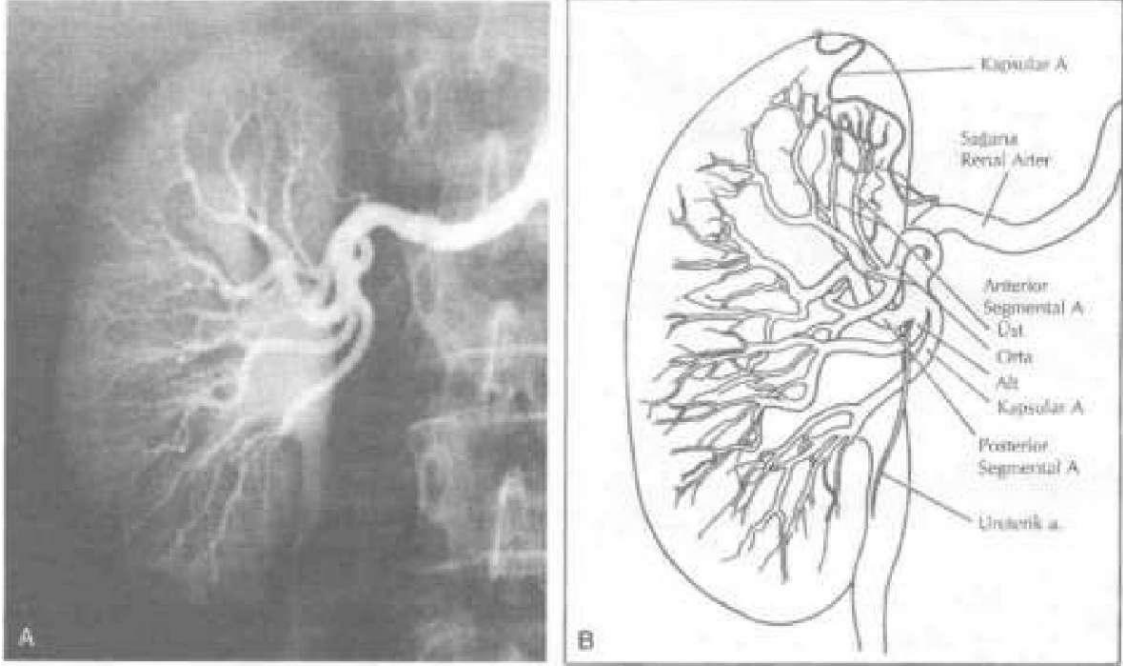
Varyasyonları nedeniyle renal vasküler yapıda kesin bir standart saptamak zordur. Ana arter ve venin varyasyonları oldukça sık olup %25-40 arasındadır. En çok görülen varyasyon, çok sayıda renal arter olmasıdır. %70

oranında aortadan tek sağ ve sol renal arter olarak çıkar ve sağın çıkışı biraz daha yukardadır. Böbreğe ulaşmadan sağ renal arter inferior surrenal, küçük perinefritik, kapsüler ve proksimal üreteral dallar verir. Aksesuar sağ renal arter olasılığı %30'dur. Bunlar ana arterin alt ya da üstünde ve ona paralel uzanarak hiluma girerler. Ancak bazı aksesuar arterler alt ya da daha sık olarak üst kutba girebilir (17, 18).

Ana renal arter, tipik olarak 4 ya da daha fazla segmental (sıklıkla 5 dal) damarlara ayrılır (Şekil-1). Bunlar; apikal, ön-üst, ön-arka, alt ve arka segmentlerdir. İlk ve en sabit segmental bölünme posterior daldır. Genellikle ana renal arterden renal hilusa girmeden çıkar ve pelvis renalisin arkasından geçerek böbreğin büyük posterior segmentini besler. Diğer ön bölünmeler ana renal arterin hilusa giren tipik dallarıdır. Segmenter arterler arasında anastomoz yoktur. Segmenter arterler her piramid için lobar arter olarak devam eder ve 2-3 interlobar artere ayrılıp piramidlerin arasında kortekse kadar uzanırlar. Kortikomedüller bölgede interlobar arterler piramid tabanına paralel seyretmek üzere dönerek arkuat arter adını alırlar (1, 17).

Arkuat arterlerden birçok interlobüler arterler çıkar. İnterlobüler arterlerin de birbiriyle anastomozu yoktur ve kortekse dik olarak uzanırlar ve birkısmı fibröz kapsülü delerek adrenal, gonodal ve frenik damarların yaptığı kapsüler pleksusa katılırlar.

İnterlobüler arterlerin ana dalları afferent glomerüler arteriolü oluşturur. Glomerüler yumaktan çıkan efferent arteriol, peritubuler kapiller ağ yaparak proximal ve distal tubulikontraksiyonu sağlar. Bu kapiller pleksus venöz kapillerlerle birleşerek interlobüler venlere dökülür (17, 18).



Şekil-1: Renal anjiyografiyle gösterilmiş sağ renal arter ve dalları (18).

1.2. Ven Sistemi

Postglomerular kapillerler sonunda interlobuler venlere drene olurlar ve sırasıyla arkuat venler, interlober venler ve segmental venleri oluşturduktan sonra segmenter venler birleşerek renal veni oluşturur. Arter sisteminin aksine renal parankimal venler arasında anastomoz sıktır. Sağ renal ven kısa olup doğrudan vena kava inferiora açılır. Dal sayısı azdır ve varsa yalnız aberan gonodal veni alır. Uzun olan sol renal vene; inferior frenik, adrenal ve gonodal venler açılır. Sol renal ven; lomber venler, hemiazigoz sistemi ve küçük paravertebral venlerle birleşerek sirkumaortik pleksusu oluşturur (1, 17).

1.3. Lenfatik Sistemi

Böbreğin zengin lenfatik drenajı sinüsten çıkan kan damarlarını izler. Böbrek ve çevresinde üç lenfatik sistem yer alır. Böbrek dokusundan kaynaklanan ana lenfatik pleksus renal tubuliler arasında seyrederek ve 4-5 adet geniş kanalla hiluma gelir, renal veni izleyerek lenfatik turunkusu oluşturur ve o da sol tarafta lateral aortik nodüllere açılır. Subkapsüler pleksus kapsül altı dokuları drene ederek hilumda diğer pleksusla birleşir.

Perinefritik pleksus ise subkapsüler pleksusla birleşerek ya da bağımsız olarak lateral aortik nodüllere açılır (17, 18).

Lateral aortik nodüller sol tarafta; aortanın anterior ve posteriorunda, inferior mezenterik arter seviyesinin altında yer alır. Bazı lenfatik kanallar sol böbrekten direk supradiyafragmatik ve retrokrural nodlara drene olabilir. Ancak sol tarafta interaortokaval nodüllere açılım oldukça nadirdir. Sağ böbrekteki lenfatik turunkus ise, interaortokaval ve sağ parakaval lenf nodlarına dökülür. Bu nodlar inferior vena kava'nın anterior ve posteriorundadır (17, 18).

1.4.Glomerüllerin ve Toplayıcı Kanalların Mikroskopik Anatomisi

Böbreklerin fonksiyon yapan en küçük ünitesi olan nefronlar bir böbrekte ortalama 1.5 milyon ve toplam 3 milyon kadardır. Nefron, 0.2 mm çaplı renal korpüskül (Malpighi cismi) ile başlar. Bu cisim, tek tabaka epitelden yapılmış Bowman kapsülüne invajine olmuş glomerül yumağından oluşur. Korpüsküle afferent arteriolün girip efferent arteriolün çıktığı kutba vasküler kutup, Bowman kapsülünün proksimal tubülüyle birleştiği boyna da üriner kutup denir (17, 18).

Glomerüler kapiller podosit adı verilen, damarlar içinde uzantılar veren (foot proses) özel epitel hücreleriyle örtülüdür. Kapiller endotelinde podosit, foot proses, pedisel adını alır ve kandan ilk filtratın oluşmasında selektif filtrasyona yardım eder. Proksimal tubülü, yoğun mikrovillus şeklinde (Brush border) karakteristik kalın, kübik epitelle örtülüdür. Bu brush border, geniş bir yüzey oluşturarak, glomerülden filtre edilen sıvının çoğunun yeniden emilmesini sağlar. Proksimal konkorti tubülü, önce kalın düz ve sonrada incelen henle loop'unun tubülisi olarak medullaya devam eder. Henle Kulp'u, jukstameduller glomerülden başlayarak renal medullanın derinliklerine kadar değişen boylarda, kıvrılmadan, keskin dönüşler yapmadan uzanır. Henle kulpunun çıkan kolu, önce kalınlaşır ve sonra distal konkorti tubuli olur, tekrar kaynaklandığı glomerulus ve proksimal tubülüye yapışır. Üriner filtrat en son kolektör tubülüye gelir, kolektör tubülü tekrar renal medullaya içine yönelerek, medullar piramidin apeksine, renal papillaya açılır (18).

2. Böbrek Fizyolojisi

2.1. Böbreğin idrar oluşturma mekanizması

Böbreğin iki büyük görevi vardır: Vücutta metabolizma artıklarının temizlenmesi ve vücut sıvılarındaki maddelerin konsantrasyonunu kontrol edilmesidir (19).

İki böbrekte yaklaşık 2.400.000 nefron vardır ve her nefron kendi başına idrar yapma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle böbrek fonksiyonlarını açıklamak için bütün böbreği açıklamak yerine tek bir nefronun fonksiyonunu incelemek yeterli olacaktır. Bir nefron temel olarak, sıvının filtre edildiği glomerulus ile filtre edilen sıvının böbrek pelvisine akarken idrar niteliğini kazandığı uzun bir tubulustan oluşmuştur (19).

Kan afferent arteriyolle glomerüle girer ve efferent arteriyolle ondan ayrılır. Glomerül 50 kadar paralel dala ayrılıp anastomozlar yapan kapillerden oluşmuştur. Epitel hücreleri ile örtülü kapiller yumak Bowman kapsülü içinde yer alır. Glomerüldeki kan basıncı ve onkotik basınçların kümülatif etkisi sonucu, Bowman kapsülü içine sıvının süzülmesi sağlanır. Sıvı buradan da kortekste glomerulusların yanında yer alan proksimal tubuluslara akar. Proksimal tubuluslardan sıvı, böbrek kitlesi içine bazen böbrek medullası dibine kadar uzanan henle kıvrımına geçer. Her bir kıvrım inen kol ve çıkan kol olmak üzere iki kısımdan oluşur. İnen ve çıkan kolun alt uçunda çeper çok ince olduğundan henle kıvrımının ince segmenti adını almaktadır. Kıvrımın çıkan kolu korteks doğrultusunda yükselirken tekrar tubuler sistemin öteki bölümleri gibi kalınlaşır. Henle kıvrımının bu bölümüne çıkan kolun kalın segmenti denmektedir (19).

Sıvı henle kıvrımından geçtikten sonra, proksimal tubül gibi böbrek korteksinde yer alan distal tubüle girer. Korteks düzeyinde sekiz kadar distal tubül birleşerek toplayıcı tubülü oluştururlar. Bu tubülün ucu dönerek, tekrar korteksten medullaya doğru aşağıya inip orada toplayıcı kanala dönüşür. Toplayıcı kanallar medullanın derinliklerine doğru, henle kıvrımına paralel uzanırken birbirleriyle birleşerek genişlerler. En alt kısımda geniş toplayıcı kanal böbrek papillasının ucundan böbrek pelvisine açılır. Bu papillalar,

medullanın böbrek kaliksleri içine doğru yaptıkları çıkıntılardan ibarettir. Böbrek pelvisinin girintileri bu kaliksleri oluşturur. Her bir böbrekte bulunan 250 kadar çok geniş toplayıcı kanalın her biri yaklaşık 4000 kadar nefrondan gelen idrarı iletir. Glomerüler filtrat tübüllerden akarken suyun %99'u ve içindeki maddelerin değişen miktarları damar sistemine reabsorbe olur bazı maddelerin konsantrasyonu medulla osmotik basınçla değişir ve bazı maddeler de tübülüsler sekresyona uğrar. Tübulüslerden gelen su ve içindeki erimiş olan maddelerle idrarı oluşturur (19).

2.2. Renal Tübül Hücre Fonksiyonları

Tübülüsler absorpsiyon ve reabsorpsiyon temelde iki mekanizma ile yürütülür: Aktif transport ve pasif transport. Tübülüsleri örten epitel tabakasının lümenine bakan yüzeyi içerdiği binlerce villus sayesinde reabsorpsiyonu kolaylaştıran adeta fırçamsı bir yüzey oluşturur. Tübülüslerden ATP kullanarak reabsorbe olan başlıca maddeler; Na, K, Cl, Ca, Fe, H, HCO₃, ürat ve fosfat iyonları ile glukoz ve aminoasitlerdir. Tübülüslerden aktif transport ile sekrete edilen maddeler ise; hidrojen potasyum iyonları ve ürattır (1, 19).

Pasif transportta ise herhangi bir enerji kullanılmaksızın tamamen konsantrasyon farkı ile iyonlar yer değiştirir. Su osmos ile reabsorbe edilirken lümen içerisinde üre konsantrasyonu artar ve tübülüslerden interstisyuma üre diffüzyonu oluşur (1, 19).

2.3. Tübül Segmentlerinin Absorpsiyon Yetenekleri

2.3.1. Proksimal Tübül

Proksimal tübül hücreleri içerdikleri çok sayıda mitokondrilerle çok hızlı aktif transport sağlayacak şekilde donanmışlardır. Tüm tübül sistemi içindeki reabsorpsiyon ve sekresyonun %65'i proksimal tübülde gerçekleşir. Ayrıca zengin bir interselüler labirent sistemi ve bazal kanallar yardımıyla interstisyel sıvı tarafı da geniş bir membran yüzeyi kazanmıştır. Proksimal tübül epitelinin bir diğer özelliği de hücreler arası bağlantının çok sıkı olmayışıdır ki bu özellik su ve birçok küçük molekülün kolayca reabsorpsiyonunu sağlar (19).

2.3.2. Henle Kulpu

Bu kısımda epitel çok ince olup hücreler çok az mitokondri içerdiklerinden metabolik aktivite minimaldir. Bu ince segmentin inen kolu suya çok geçirgen olup Na ve diğer iyonlara orta derecede geçirgenlik gösterir. İnce segmentin çıkan kolu ise suya daha az geçirgen olup üreye çok geçirgendir. Çıkan kolun kalın kısmında ise epitel oldukça kalınlaşır ve afferent ve efferent arterioller arasından yukarı doğru yükselerek jukstoglomerüler kompleks adı verilen oluşumu yapar. Bu yapı nefron fonksiyonunun regülasyonunda çok önemli roller oynar. Henle kulpu bu kısmında epitel proksimal tubül epiteline benzemekle birlikte bazal kanalların sayısı daha az, fırça kenarı rudimenter olup hücreler arası bağlantılar daha sıklıdır.

Bu kısımda esasen Na, K ve Cl iyonlarının aktif transportu gerçekleşirken su ve üreye geçirgenlik hemen hemen hiç yoktur. Sonuçta bu bölümde tubül sıvısı çok seyrelmiş olmakla birlikte üre konsantrasyonu yüksektir (19).

2.3.3. Distal Tubül

Distal tubülün iki önemli fonksiyonel bölümü vardır: Sulandırıcı segment ve kortikal toplayıcı tubül. Sulandırıcı segmentin Henle kulpu çıkış kalın koluyla aynı morfoljik ve karakteristik özellikleri taşır. Kortikal toplayıcı tubüllerde ise sulandırıcı segment gibi üre hemen hiç geçmez ve böylelikle idrarla atılacak ürenin hepsi kollektör kanallara geçer. Bu kısmın en büyük özelliği aldosterona bağımlı Na reabsorpsiyonu ve K sekresyonunun gerçekleştirmesidir. Ayrıca bir diğer önemli özelliği de ADH varlığında suya geçirgen olmalarıdır. Bir başka deyişle idrarın ne kadar sulandırılacağı bu bölüm belirler (19).

2.3.4. Toplayıcı Kanallar

Buradaki epitel hücreleri kübik şekilde, yüzeyleri düzgün ve az sayıda mitokondri içerirler. Bu bölgede yine ADH bağımlı su reabsorpsiyonu ile birlikte az miktarda üre reabsorpsiyonu da gerçekleşir. Bu bölgenin ikinci büyük özelliği de çok yüksek bir hidrojen iyon gradyanına rağmen lümene

aktif olarak hidrojen iyonu sekresyonunun yapılabilmesidir. Bu da vücut asit-baz dengesinin kontrolünde çok önemli rol oynar (19).

3. SWL

3.1. Tarihçe ve Genel Bilgiler

Beden dışı şok dalgalarıyla taş kırma, üriner sistem taşlarının tedavisinde çığır açmıştır. Rusya'da,1950'lerde taşları parçalamak için şok dalgalarından yararlanma fikri oluştu. Bu sırada bir Alman uçak şirketi olan Dornier, süpersonik uçakların üstündeki pürüzleri incelerken; atmosferde uçağın kanatlarına çarpan yağmur damlalarının oluşturduğu şok dalgalarının sert bir cisimi aşındırabileceğini gösterdi. Bu incelemeler doğrultusunda yapılan çalışmalar sonucu beden dışı şok dalgalarıyla taş kırma (SWL) yöntemi geliştirildi (3, 5, 20).

Almanya'da ilk çalışmalar 1974 yılında başlayıp 1980 yılına kadar sürmüştü,1980 yılında Dornier firması tarafından Human-I (HM-I) cihazı üretilmiş ve 20 şubat 1980 yılında dünyada ilk defa bir hastanın taşı kırılarak tedavi edilmiştir. HM-I cihazı 1982 yılında HM-2'ye ve 1983 yılında geniş ölçüde uygulama alanı bulan HM-3'e modifiye edilmiştir. Aralık 1984'de FDA onayı ile Avrupa, Japonya ve ABD'de HM-3'ün kabul görmesi, Dünya çapında daha etkin bir şekilde kullanılmasını sağlamıştır. Daha sonra Almanya'da Wolf ve Siemens, Fransa'da Techonomed ve Edap, Türkiye'de Elmed, İsrail'de Direx firmaları tarafından SWL cihazları geliştirilmiştir. Bugün Dünya çapında binlerce SWL cihazı ile milyonlarca taş hastası tedavi edilmektedir (3, 5, 21).

Ülkemizde taş insidansının yüksek olması nedeniyle çok gecikmeden SWL uygulanmaya başlanılmıştır. İlk kullanılan cihaz Wolf firmasının Piezolith 2200 tipi cihazı geliştirilerek 2300 modeli uygulanmaya sokulmuştur (20).

SWL, tıptaki en büyük yeniliklerden biridir. Daha az invaziv olması nedeniyle üriner sistem taşlarının tedavisinde ilk tercih edilen tedavi yöntemi olmasını sağlamıştır. SWL vücut dışındaki bir kaynaktan elde edilen ses

dalgalarının şok dalgaları haline getirilip taşa göndermek suretiyle taşın parçalanmasıdır. Üriner taş hastalığının yüksek oranlarda nüksetmesi, iş gücü ve maddi kayba yol açması, açık cerrahinin travmatik olması, postoperatif komplikasyonlara yol açması gibi sebeplerden ötürü daha az invaziv ve daha az iş gücü kaybına yol açan ve hastanede yatış süresini kısaltan yöntemler düşünülmüştür. Perkütan nefrolitotomi (PNL) ve üreterorenoskopik litotripsi gibi yöntemlerinde kullanıma girmesi ile taş cerrahisinde önemli değişiklikler olmuştur. Bu iki tedavi yöntemin de SWL'ye göre daha invaziv olması nedeniyle SWL'nin popülerliğini azaltmamıştır (20).

3.2. Şok dalgalarının özellikleri

Şok dalga jeneratörleri tarafından üretilen ses dalgaları vücut dokuları gibi ortamlarda yayılma özelliği gösteren mekanik dalgalardır. Bilinen sinüzoidal konfigürasyonda ve mekanik özellikli ultrasonik dalganın aksine akustik şok dalgaları harmonik değildir ve doğrusal olmayan basınç karakteristikleri gösterirler. Basınç amplitüdünde kompressif güçler oluşturan hızlı bir yükselme söz konusudur. Süpersonik ve sınırlı amplitüdü olmak üzere iki temel şok dalgası meydana getirir.

Süpersonik dalga yayanlar sınırlı bir mekanda enerji yayarlar. Böylece genişleyen bir plazma ve akustik şok dalgası oluştururlar. Kontrol altındaki koşullarda akustik şok dalgası, taşları kolaylıkla parçalayabilir. Sınırlı amplitüdde dalga yayanlar, nokta kaynaklı enerji sistemlerinin aksine elektriksel deşarj ile aktive olmuş bir yüzeyin konumunu değiştirerek ritmik akustik şok dalgaları oluşturur (5).

Üriner sistem taşlarını vücut dışından kırmak için oluşan şok dalgaları, fiziksel olarak süratle yükselen, kısa süreli yüksek basınçlı bir puls olarak ortaya çıkarlar. Şok dalgasının süratle yükselen dik kenarına " şok cephesi" denir. Şok dalgası pozitif tepe basınçları (P+) litotriptörler arasında farklılık gösterir. Genelde 20 ile 130 Mpa arasında değişir. P (max) 1300 bardır. Basınç yükseliş zamanı ise, 30 nanosaniyeden az ve 600 nanosaniyeden çok olmamak üzere geniş bir sınır içindedir. Teorik olarak hızlı basınç artış zamanı (t) ve kısa atım genişliğinin (tw) küçük taş parçalarını etkin parçalama için gerektiği söylenmektedir. Hızlı basınç zamanı

(t) uzun olduğu zaman taşı parçalamak için daha yüksek bir tepe basıncına (P+) ihtiyaç olmaktadır (20).

3.3. Taşın Parçalanmasında Etkin Şok Dalgası Parametreleri

1. Fokustaki akustik basınç miktarı (enerjisi) milijoule
2. Akustik enerjinin akış yoğunluğu mj/mm

Hasta için etkisi olan parametre negatif basınç eğrisi (P-) dir. Büyük negatif basınçların çoğu sıvıların direnmesi sonucunda ortaya çıkan ve oluştuğunda radyasyona uğrayan ortamın çok küçük volümlerinde akustik enerji konsantrasyonu içinde gelişir. Kavitasyon denilen ultrasonik huzmenin bir sıvının içinde geçerken kabarcıkların oluşması ultrasonun biyofiziksel etkisidir (20).

3.4. Bütün SWL Cihazlarında Bulunan Ana Sistemler

1. Enerji kaynağı
2. Odaklama sistemi
3. Enerji iletim sistemi (komplet su yatağı,parsiyel su yatağı ve su yastığı)
4. Taşı görüntüleme ve lokalizasyon sistemi (ultrasonografi ve/veya floroskopi) (20)

Litotriptörleri birbirinden ayıran gerçek fiziksel karakteristik şok dalgası üretim yöntemidir. Şok dalgası üretiminde kullanılan başlıca sistemler:

1. Spark gap sistemi (elektrohidrolik)
2. Elektromanyetik sistem
3. Piezoelektrik sistem (3, 5, 22).

3.5. Spark Gap (Elektrohidrolik) Sistem

Elektrohidrolik (kıvılcım aralığı) denilen bu sistemde prensip sualtı iki elektrot aracılığı ile yüksek voltaj deşarjı sonucu suyun plazmaya dönüştürülmesi ve oluşan patlayıcı etkiyle şok dalgası oluşturulmasıdır. Bu elektrot metal bir elipsoidin f-1 odağına yerleştirildiğinde patlama sırasında oluşan şok dalgaları elipsoidin yüzeyinden yansıyarak f-2 odağına yani taşa ulaşır. Dornier, Technomed, Direx ve Elmed gibi firmalar bu sistemi kullanmaktadırlar. Bu jenetörlerin en belirgin üstünlüğü böbrek taşlarını

kırmadaki etkinliğidir (3, 20, 23). Bu sistemin dezavantajı ise şok dalga enerjisinin yüksek değişkenlik (+/- %45) göstermesi ve gittikçe azalmasıdır (22).

Dünya'da ideal standart litotriptör olarak kabul gören ilk HM-3 (Humon Model 3) litotriptörü 65'den 110 Mpa tepe basıncı ile güçlü jeneratöre sahip fokus volüm 10.5cm^3 ile etkin bir cihazdır. Bu, daha etkin olan 3.8cm^3 'lük bir volüme indirgenmiştir. Jeneratör voltajı ise 14-30 kw arası ayarlanmıştır. HM4 tipinde ise su yastığı kullanılmış ve basınçta % 5' lik düşme olmuştur. Daha sonra imal edilen MPL (Multipurpose Lithotriptör) 5000 tipinde ise elektrodlar lateral değil aksiyel olarak elips çanakta yer almaktadır. Fokus genişliği ise $5.4 \times 38\text{mm}$ ve 20 kw güçtedir. Daha çok ürolojide kullanılan bir taş kırma cihazıdır. MPL (Multipurpose Lithotriptör) 9000 çok amaçlı imal edilmiş kısaca safra kesesi taşlarının kırılmasında da kullanılabilir. Bu cihazın 20 kw'de fokusu $3.3 \times 34\text{mm}$ ve 26 kw'de ise $4.6 \times 36\text{mm}$ olarak tesbit edilmektedir. Burada 40 cm 'lik çanak ağzı açıklığı sayesinde ortaya bir ultrasonik transdüser monte edilmiştir. Ülkemizde de bu teknolojiye yararlanılarak yine elips çanak içinde elektrot uygulamalı olarak litotriptörler geliştirilmiştir (20).

3.6. Elektromanyetik Sistem

Elektromanyetik sistem, Siemens ve Storz firmaları tarafından üretilen cihazlarda kullanılan bir sistemdir. Bir elektromıknatisin bir membranı çekip bırakması sırasında oluşan enerjinin akustik merceklerle odaklanması esasına dayanır. Bu sistemde şok sırasında oluşan ses ve enerji spark gap sistemine göre daha düşüktür. Bu sistemde şok dalgası üretim cihazının çapı 10 cm'dir. Şok dalgası enerjisi %3'den daha az değişkenlikle oldukça yüksek oranda ve enerjisi azalmayacak şekilde tekrar üretilebilmektedir (20, 23). Enerjisi fazla değişkenlik göstermediği için en uygun sistemdir (22).

3.7. Piezoelektrik Sistem

Wolf ve Edap firmaları tarafından üretilen cihazlarda kullanılan sistemdir. Bir küre parçaları üzerine çok sayıda piezoelektrik elemanlar yerleştirilmiştir. Bunların aynı anda titreşimiyle ortaya çıkan enerji kürenin merkezinde odaklanmaktadır. Ağrı ve ses diğer cihazlara göre daha düşük

olmakla beraber taşın kırılması için daha çok seans gerekmektedir. Bu sistemin dezavantajı şok dalgası üretim cihazı çapının fazla geniş olmasıdır (3, 20, 23, 24).

Noktasal şok dalgası üreten sistemlerde (spark gap gibi) odaklama amacıyla elipsoid bir yansıtıcı kullanılmaktadır. Düzeyssel şok dalgası üreten sistemler (piezoelektrik gibi) şok dalgası üretim cihazının özel küresel bir geometri ile düzenlenmesiyle odaklama yapabilmektedir. Elektromanyetik sistemlerde ise şok dalgalarının odaklanması için akustik bir lens kullanılmaktadır (20).

3.8. Enerji İletim Sistemi

Enerji kaynağında meydana gelen şok dalgalarının iletimi için en uygun ortam olarak hava kabarcığı olmayan serum fizyolojik kullanılmaktadır. İlk SWL cihazı olan HM-3'de hasta vücudu su banyosuna sokulurken Technomed ve Wolf firmaları yalnız bel kısmının suya temas ettiği cihazları imal etmişler, daha sonra içinde su bulunan bir membranın vücuda temas ettiği cihazlar imal edilmeye başlanmıştır (kuru sistem). Bu sistemlerde enerji, membran içinde bulunan su yoluyla iletilir, membranın vücuda temas ettiği kısma hava kabarcığı kalmaması ve iletimin sağlanması için özel bir jel sürülür. Artık bütün cihazlar membran temaslı olarak üretilmektedir. Bu sistemde, hasta ıslanmadığı için daha temiz ve seri tedaviler yapılabilmektedir.

3.9. Görüntüleme Sistemleri

Litotriptörlerde taşın görüntülenmesi için üç çeşit odaklama sistemi kullanılmaktadır. Bunlar:

1. Ultrasonik odaklama
2. Floroskopik odaklama
3. Ultrasonik-floroskopik odaklama (3, 5, 21).

İlk SWL cihazı yalnızca floroskopik olarak görüntüleme yapmakta ve nonopak taşların tedavisi yapılamamaktaydı. Daha sonra imal edilen ve yalnızca ultrason ile çalışan cihazlarda ise üreteropelvik ve üreterovezikal bölge haricinde üreter taşları görüntülenememekteydi. Daha sonra Dornier,

Siemens ve Türk Litotriptörü Multimed gibi bazı cihazlarda hem ultrasonik hemde floroskopik odaklama sistemleri birlikte kullanılmaya başlanılmıştır.

3.10. Floroskopik Odaklama Sistemi

Radyolojik yani floroskopik odaklama sistemlerinde nonopak taşlar dışında üriner sistemin bütün lokalizasyonundaki taşların görüntülenmesi ve kırılması önemli bir avantajdır. Üreterlerde obstrüksiyon yapan taşlar ultrason ile görüntülenmediğinden, ancak radyopak madde verilip floroskopi ile görüntülenip, obstrüksiyonun olduğu veya taşın şüphelenildiği noktaya SWL uygulanması mümkündür.

Uygulama sırasında alınana radyasyon miktarı hasta için klasik filmler sırasında alınanlara göre oldukça düşüktür. Alınan radyasyon miktarı, SWL'yi uygulayan ve devamlı odada bulunan doktorlar için bile röntgen tüpünden bir metre mesafede durulduğu takdirde kabul edilebilir düzeydedir. Bazı litotriptörler radyasyon yayılımını en aza indiren komputeze otopozisyon sistemlerine sahiptirler. Odaklama; taş görüldükten sonra 90 derecelik görüş açısıyla önce bir düzlem üzerinde odak noktasına getirilir ve oblik görüş açısıyla yükseklik ayarlanır. 200 şoktan sonra floroskopi ile odaklama kontrol edilmelidir (3).

3.11. Ultrasonik Odaklama Sistemi

Ultrasonik odaklama sisteminde radyasyon riskinin olmaması, nonopak taşların rahatlıkla lokalize edilip kırılması, 3mm'ye kadar küçük fragmanların kırılabilmesi, aletlerin daha ucuz olması gibi avantajları vardır. Ultrasonik monitorizasyonda hava baloncukları taş fragmentasyonlarının değerlendirilmesinde yanılmalara yol açabileceğinden her 200-300 şok galgasından sonra kısa bir süre ara verilmelidir. Hem floroskopik hemde ultrasonik görüntüleme sistemini içeren jeneratörler ise yukarıdaki sistemlerin dezavantajlarını ortadan kaldırıp daha verimli bir şekilde kullanılmasını sağlamaktadır (20).

3.12. Taş Parçalanma Mekanizmaları

SWL ile taş kırılmasında 4 potansiyel mekanizma vardır.

1. Kompresyon fragmentasyon
2. Ufalanma

3. Akustik kavitasyon
4. Dinamik yük (3, 24)

Şok dalgaları iki ayrı ortam yüzeyinin akustik empedansları arasındaki farklılıklara bağlı olarak kırılma ve yansıma göstermektedir. Bu farklı akustik empedans, taş ve onu çevreleyen idrar (su) arasında olduğundan şok dalgası daha çok kırılma ve yansıma uğramaktadır. Bunun da taşın parçalanmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Vücudun %75'i sudan ibaret olduğu için şok dalgaları çok az bir kayba uğrayarak dokulardan geçip, dakikada kan hacminin beşte birini alan içi kanla dolu (su ortamı) böbrekte, idrarla (su ortamı) çevrili taşa ulaşmaktadır. Parçalanma mekanizması taşa odaklanan şok dalgasının pozitif basınç komponenti ile başlamaktadır. Şok dalgası taşa ulaştığında kısmen yansıtılır. Yine de büyük kısmı geçer ve taş içine emilir. Şok dalgalarının taşa geçen bölümü kısmen taşın arka yüzüne de yansır.

Yansıyan basınç bir gerilim dalgasına dönüşür. Bu işlem tekrarlandığında neticede taşın kompresif gücü aşılır, taş parçalanmaya başlar ve yüzey genişler. Bunun sonucu olarak taş giderek daha küçük parçalara ayrılır (20).

Odaklanmış olan şok dalgasının pozitif basınç komponentine ek olarak negatif basınç komponenti (gerilme kuvveti) de taş parçalanma işlemine yardımcı olmaktadır. Eğer gerilme kuvveti yeterince güçlü ise ortamın kuvvetini aşabilmekte ve sıvılarda ortaya çıkan akustik kavitasyon adı verilen fenomeni meydana getirmektedir. Bu akustik kavitasyon taş yüzeyinde olduğu zaman, yüzeyde mikroerezyonlara yol açtığı saptanmıştır. Diğer taraftan aynı fenomen doku hasarına da neden olmaktadır. Sistin taşları için daha çok daha yüksek enerjili şok dalgası ve süresi gerekir. Kalsiyum oksalat monohidrat ve sistin taşları SWL ile zor kırılan taşlardır (20).

3.13. Şok Dalgalarının Biyolojik Etkileri

Geniş serili çalışmalar, her ne kadar SWL'nin güvenilir, etkili bir yöntem olduğunu gösterse de ciddi yan etki potansiyeline sahip olduğunu bildiren yayınlar da mevcuttur. SWL'nin yaptığı bu olumsuz yan etkiler yaygın

olarak böbrek, karaciğer, pankreas, iskelet kası ve gastrointestinal trakt gibi böbreğe komşu organlarda da meydana gelmektedir. Yan etkiler yalnızca akut olarak gelişmemekte, bazen geç yan etkiler de gözlenmektedir. Şok dalgalarının oluşturduğu akustik kaviteasyonun, tepkisel kimyasal ara ürünlerin (serbest radikaller), mikrojetlerin ve/veya diğer enerjistik olayların doku hasarına yol açtığı öne sürülmektedir (20). Yüksek enerjili şok dalgalarının biyolojik etkilerinden söz ederken uygulama ile ilgili temel özelliklerin ve biyolojik sistemin çok iyi tanımlanmış olması gerekir. Uygulamada belirtilmesi gerekli temel parametreler; toplam şok dalga sayısı, puls frekansı ve spark gap litotriptörler için kullanılan elektrodun niteliğidir. Biyolojik sistem dikkate alındığında ise hücre türü, hücrenin içinde bulunduğu büyüme fazı ve ortam özellikleri (pH, sıcaklık, oksijen satürasyonu, nem, ozmolalite, vb.) gibi konular sonuç açısından önemlidir. Yüksek enerjili şok dalgalarının biyolojik etkilerini belirlemeye yönelik invitro çalışmalar iki temel soru üzerinde yoğunlaşmaktadır:

Birincisi; bu dalgalar hücreler üzerinde istenmeyen etkiye sahip midir? Bu sorunun yanıtının evet olması halinde, zarar oluşum mekanizmaları, hücrede hangi organellerin zarar görebileceği ve şok dalgasının zarardan sorumlu fiziksel karakteristikleri neler olduğu gibi soruların yanıtlanması gerekmektedir.

İkincisi; bu etkiler kötü huylu tümör hücrelerinin öldürülmesi ve kemoterapinin etkinliğinin artırılması gibi durumlarda kullanılabilir mi?

Şok dalgalarının hücresel zararları çok spesifik gözükmemektedir. Hücre organellerinden en fazla zarar gören mitokondrilerdir. Bunun dışında endoplazmik retikulumda genişleme, ikincil lizozomlarda artma, periferik hücresel süreçlerde kayıp, hücre zarı morfolojisindeki diğer etkiler olarak sıralanabilir. Şok dalgalarının diğer klinikopatolojik olgulara uygulanması henüz inceleme aşamasındadır. Bunlarda en ilginç olanı belli tümör hücreleri üzerinde kullanılan kemoterapötik ajanların etkinliğinin şok dalgaları ile artırılmasıdır. Bu iki yöntemin kombinasyonu invitro deneylerde olumlu sonuçlar vermekle birlikte aynı düzeyde olumlu sonuç invivo deneylerden elde edilememiştir (3).

Şok dalgalarının hücresele zararlarından sorumlu fiziksel karakteristikleri çok iyi tanımlanmamıştır. Bununla birlikte en küçük pozitif ve negatif basınç genliğine sahip elektromanyetik litotriptörler, spark gap ve piezoelektrik litotriptörlerden daha az hücresele zarara neden olmaktadır. Uygulanan seans başına toplam şok sayısı önemli parametrelerden biridir ve klinik uygulamada bu sayı 2000-2500 dolayındadır. Uygulamanın bir defada ve yüksek dozda yapılmasının periglomerüler ve intratübüler fibröz alamm artırması yüzünden renal zararı azaltmak için çok sayıda küçük dozlarda yapılması önerilmektedir.

Sonuç olarak; çevre dokulara en az zarar vererek taşların parçalanması konusunda maksimum etkinliğe sahip uygulamanın planlanması bir çok araştırmayı gerektirmektedir. Bu konuya yönelik in vitro çalışmalar mekanik olarak etkin fakat biyolojik açıdan daha az zararlı litotripsinin gelişmesine büyük katkıda bulunacaktır (3, 20).

3.14. SWL Sonrasında Oluşabilecek Böbrek ve Çevre Doku Değişiklikler

1. Obstrüktif üropati
2. Üriner sistem enfeksiyonu/sepsis
3. Böbrek kontüzyonu
4. Perirenal ve subkapsüler hematom
5. Ciltte peteşi ve ekimoz
6. İntrarenal hematom/hemoraji
7. Böbrek boyutlarında artma
8. Subkapsüler ve perirenal sıvı kolleksiyonu
9. Böbrek kisti içine kanama
10. Kortikomedüller farklılaşmanın kaybı
11. Kapiller damarların konjesyonu ve rüptürü
12. Perinefrik yumuşak dokuda kabalaşma ve fasyal kalınlaşma
13. Şok dalgalarının vücuda giriş yerinde ciltte yanıklar
14. Kardiyak aritmi
15. Hipertansiyon
16. Gastrik, duodenal ve kolonik erizyonlar

17. Perinefrik yağ, kas tabakalarında ve submukozada yama şeklinde fibrozis

18. Kronik interstisyel ve tubüler skarlaşma

19. Efektif böbrek akımında azalma

20. Glomerüler filtrasyon hızında geçici değişiklikler. Böbrek fonksiyon kaybı (3, 20, 25).

3.15. SWL'nin Kontrendikasyonları

Böbrek taşlarının SWL ile tedavisinde hasta seçimi, tedavinin başarısı açısından en önemli etkidir. Hastaya bağlı faktörlerin yanısıra taşın boyutu, sayısı, kimyasal yapısı, lokalizasyonu ve üriner sistemin anatomisi de önem taşımaktadır. Elde edilen ilk klinik deneyimlere göre hastaya bağlı bir dizi kesin kontrendikasyonlar bildirilmiştir (26).

3.16. Mutlak Kontrendikasyonlar

1. Tedavi edilmemiş kanama bozuklukları

2. Gebelik

3. Anestezi verilmesi gerekli durumlarda anestezinin kesinlikle kontrendike olduğu durumlar (22)

3.17. Teknik Olarak Kontrendikasyonlar (Kesin)

1. Aşırı şişmanlık (vücut ağırlığının 130 kg üstünde olması)

2. Bazı iskelet anomalileri (22).

3.18. Relatif Kontrendikasyonlar

1. Üriner sistem obstrüksiyonları:

a-İfundibulum (Kaliks boynu) darlığı

b-Üreteral darlık

c-İnfravezikal obstrüksiyonlar

2. Tedavi edilmemiş üriner sistem enfeksiyonları

3. Aktif tüberküloz (22).

3.19. SWL Endikasyonları

İlk yıllarda endikasyon alanı çok geniş tutulmakta iken şimdilerde taş çapı 1.5 cm den büyük taşlar için PNL ön plana çıkarılmaktadır.

3.20. SWL'de Analjezi-Anestezi

- Anestezisiz

- İV Analjezi
- İV Analjezi-Sedasyon
- Genel Anestezi
- Epidural Anestezi

3.21. Komplikasyonlar

Tedavi esnasında komplikasyonlar çok nadirdir (<%1). Kardiyak aritmi, işitmede azalma, hipotonik senkoplar ve epidural anestezi durumunda bulantı gibi yan etkilerdir. En ciddi yan etki olarak, dünya genelinde tedavi edilen 80.000 hastadan üçü ölüm ile sonuçlanmıştır (pulmoner emboli,myokard enfarktüsü). İzlem sırasında ciddi komplikasyonlar çok nadirdir. İntra veya perirenal hematoma insidans oranı %0.6'nın altındadır (27) ve bu oran düşük basınçlı litotripsi ile daha düşük seviyelerde seyretmektedir. SWL'den sonra renal kolik olması zaten beklenen bir durumdur. Ateş görülme oranı ise taşın yapısına ve birlikte gözden kaçan bir enfeksiyonun varlığına bağlıdır.

3.21.1. Kardiyak Aritmi

Ekstrasistol veya taşikardi 1. jenerasyon litotriptörlerde %80 oranında idi, yeni jenerasyon litotriptörlerde bu oran %1 'e düşmüştür (20).

3.21.2. Taş Yolu (Stein Strasse)

SWL sonrası taşların kırılmasını izleyerek oluşan taş parçacıklarından bir kısmı üreterlerde birikerek taş yolu oluşturur. Burada en distalde daha büyük olmak üzere birden fazla taş birikmektedir. Taş yolunu önlemek için büyük hacimli taşlarda işlem öncesinde double-j stent uygulanır. Taş boyutu 2.5 cm'den küçük ise stent koymanın üstünlüğü yoktur. Taş boyutu 2.5 cm'den büyük ise stent konması obstrüksiyon oranını %26'dan %7'ye ve yardımcı girişim oranını ise %15'den %6'ya düşürmektedir (3, 20, 25).

3.21.3. Hematüri

Hastaların hemen hemen hepsinde gözlenen ve genellikle 24 saatte sonlanan hematüri görülmektedir. Hematüri genellikle iki sebebe bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Birincisi; taş fragmanlarının ürotelyum üzerinde yapmış olduğu travma etkisidir. İkincisi ve daha önemlisi şok dalgalarının parankim

üzerinde yaptığı künt travmadır (28). Riehle ve ark. (21) 518 olguluk serilerinde sadece 1 olguda kan transfüzyonu gerektiren düzeyde kanamaya rastlamışlardır. Lingeman ve ark. (23) ise SWL sonrası ortalama Hct düşüşünü %2 olarak bildirmişlerdir.

3.21.4. Sepsis

SWL sonrası üriner enfeksiyon ve sepsis, görülebilecek diğer bir komplikasyondur. Literatüre göre bu oran %0.1 ile %5 arasında değişmektedir (29). Özellikle struvit taşı olanlarda bu risk oldukça yüksektir. Çünkü taş parçacıklarından açığa çıkan bakteriler sepsis riski oluşturmaktadır (30, 31). Beraberinde üriner enfeksiyonu olan olgularda ise enfeksiyon tedavi edildikten sonra SWL uygulamak daha doğrudur (3). SWL tedavisi öncesi, böbrek tüberkülozu olasılığını göz önünde bulundurmak gerekir. Literatür taramasında bugüne kadar böbrek tüberkülozu ile birlikte taşı olan iki olguda SWL sonrası milier tüberküloz geliştiği bildirilmiştir (31).

Bu durum SWL'nin böbrek parankimi üzerinde oluşturduğu travma sonucu hematojen yayılıma bağlanmıştır.

3.21.5. Diğer Komplikasyonlar

1. Pankreatit
2. Dalak rüptürü
3. Akciğer harabiyetine bağlı hemoptizi (20, 25, 32, 33).

Pankreatit sol böbrek üst pol taşlarına uygulanan SWL sonrası gözlenmiştir. Ender de olsa SWL uygulamaları sonrası akciğer harabiyetine bağlı olarak hemoptizi gelişmektedir. Bu durum yüksek yerleşimli böbreklerde, akciğerin anatomik olarak aşağıya doğru yer değiştirdiği durumlarda gelişmektedir. Geç dönem komplikasyonu olarak gelişen hipertansiyon SWL'nin yapmış olduğu travma sonucu intraparankimal kan ve idrar ekstravazasyonuna bağlı gelişen kronik fibrozise bağlanmaktadır (34).

4. Renal İskemik Hasarın Patofizyolojisi ve Morfolojisi

Böbreklerde iskemi sıklıkla transplantasyon, parsiyel nefrektomi, anatofik nefrolitotomi gibi majör ürolojik cerrahilerde, kardiyopulmoner

bypass gibi kardiyak cerrahilerde, yoğun bakım hastalarında ya da travma sonrası gelişen hipovolemide, ağır sepsis de olduğu gibi şiddetli hipotansiyonda ve yanık hastalarında görülmektedir.

Akut böbrek yetmezliğinin (ABY) çoğunda asıl nedeni akut tübüler nekrozdur (ATN). ABY hastanede yatan hastaların %2–5 inde görülebilmekte ve cerrahi ya da dahili yoğun bakımlarda bu oran %20–30'u aşabilmektedir. Çeşitli nefrotoksik ajanlar artan bir sıklıkla ATN nedeni olabilmesine karşın, renal iskemide ve renal hipoperfüzyon akut tübüler nekrozun en sık sebebidir.

Renal iskemide ana olay hücrelerin başlıca enerji kaynağı olan adenozin tri fosfat (ATP) azalmasıdır. ATP eksikliği plazma membran fonksiyonlarında ve intrasellüler ATPaz aktivitesinde bozulmaya yol açar (35, 36). ATPaz normal hücre fonksiyonlarının yerine getirilmesi için gerekli olan bir enzimdir. Sodyum-Potasyum (K^+)-ATPaz aktivitesinin bozulması sitozol içindeki Na^+ ve K^+ konsantrasyonlarının değişmesi ile birlikte hücre şişmesine yol açar. Brady ve ark. (35) göre plazma membran Na^+ - Ca^{+2} -ATPaz ve intrasellüler Ca^{+2} -ATPaz disfonksiyonu Ca^{+2} 'un intrasellüler miktarının yükselmesine neden olur (35, 36). İntrasellüler Ca^{+2} artışı hücre hasarı ile birlikte hücre iskeletinin bozulmasına, Ca^{+2} bağımlı fosfolipazların aktivasyonuna, ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünün (reperfüzyon hasarını artırır) hızlanmasına ve oksidatif fosforilasyonun çözülmesine yol açar. Fosfolipaz aktivasyonu plazma membranı ve mitokondri gibi hücre içi organellerin normal fonksiyonlarını sürdürmesine yardımcı olan lipid tabakasında hasara yol açar.

İskemi sonrası reperfüzyon boyunca oluşan oksidatif stres hücre hasarı ile birlikte. Yüksek intrasellüler Ca^{+2} düzeyi bir kalmodulin bağımlı proteazı aktive ederek ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü sağlar. Edelstein ve ark. (42) göre reperfüzyon süresince hipoksantin ksantine dönüşümü süperoksidlerin ana kaynağıdır (42). Oluşan ksantin oksidaz ortamda biriken hipoksantini ürik aside dönüştürürken nikoatinamid adenin dinükleotid (NAD) yerine reperfüzyonla dokulara ulaşan oksijeni (O_2) kullanırlar. Sonuçta ürik asitle birlikte O_2^- radikalini oluştururlar (37,38). Bu olay OH^- iyonunun metabolizasyonu sonucu hücre hasarına neden olur.

Özellikle membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asiti ile oksijen radikali lipid hidroperoksitlerini oluşturmak için reaksiyona girerler. Peroksidasyonun şiddeti lipidlerin doymamışlık derecesi ile orantılı olarak artar. Peroksi radikali zincir reaksiyonunun taşıyıcısıdır. Lipid peroksidasyonu membran yapısına zarar vererek membran geçirgenliğini bozar ve akışkanlığını şiddetli derecede etkiler (39). OH ve O₂⁻ radikali lipid peroksidasyonuna neden olan en önemli etken maddedir. Serbest radikal doymamış yağ asidinin bir metilen karbonuna bağlı bir H⁻ atomunu yerinden çıkartır ve lipid radikali oluşur. Tiobarbiturik asit lipid peroksidasyonunun gösteren en önemli ajanlardan olup dokularda ölçümü lipid peroksidasyonun indeks parametrelerindedir (40). Son olarak bir proteaz olan kalpain aktive olarak iskemik böbrek hasarının oluşumuna yardımcı olur. Kalpain membran kanallarını düzenler, kinazları aktive eder ve hücre iskeletini sağlayan proteinler arasında etkileşimi sağlar.

İskemik ATN renal tübüler hasarla karakterizedir. Renal iskemi sonrası histolojik olarak gösterilen hasarın majör tuttuğu alan proksimal tübüller olmakla birlikte, henle kulpunun medüller çıkan kolunda ve distal tübülde de hasar olduğu tespit edilmiştir (19). Witzgall ve ark. (41) göre böbreklerin normal fonksiyonu sırasında oksijenin inen vaza rektadan çıkan vaza rektaya difüze olması nedeniyle medulla hipoksi eşiğinde görev yapar(41). Uzamış iskemi süresince meduller hipoksi yoğunlaşır ve dış medullada bulunan nefronlar yüksek orandaki metabolik ihtiyaçlarından dolayı hasara karşı en duyarlı hale gelirler. Proksimal tübülusun S3 kısmı en ciddi hasarın olduğu bölgedir. Bu kısımda etkilenen diğer yapı metabolik olarak aktif olan yüksek oranda Na⁺-K⁺-ATPaz aktivitesine ihtiyaç duyan meduller çıkan kalın koldur.

Molitorise ve ark. (42) tübül hücrelerindeki subletal hasarın bu hücrelerin iskelet yapısını bozduğunu göstermiştir (42). Lieberthal'e göre hücre polaritesinde kayıp en belirgin olanıdır (42). Fırçalı hücre yapısı kaybolur, bazolateral Na⁺-K⁺-ATPaz ve integrinlerin dağılımı değişir. Sonuçta su ve tuzun tübülus hücresi boyunca olan transportu bozulur ve renal epitelin elektrolit ve su kaybını önleyebilme yeteneği etkilenir. Sıkı bileşkelerin kaybı

ATN'un en çarpıcı fizyopatolojik değişimi olan glomerüler filtratın geriye kaçmasına neden olur.

İskemik ATN'da renal kan akımı %50 ya da daha fazla oranda azalır ve perfüzyon defekti dış medullada daha belirgindir. Vazokonstriksiyon ve lökosit, eritrosit ile trombositlerin meduller vasküler yapılarda konjesyonu bu düşüşün predominant nedenleridir. İskemik renal hasarda intrarenal vazokonstriksiyon belirgindir. Vazokonstriksiyon endotelin ve endotel-derive nitrik oksit arasındaki dengesizlik nedeniyle ortaya çıkar. Endotelin reseptör blokerlerinin iskemik renal hasarı düzelttiği ve renal fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir. Lieberthal'e (43) göre ATN'daki endotel hasarı nitrik oksit sentetazı etkileyerek endotel-kaynaklı nitrik oksit üretimini azaltır. Azalmış endotel kaynaklı nitrik oksit direkt vazokonstriksiyona neden olurken endotelin üretiminin de artmasına yol açar.

Kelly ve ark. (44) ile Dragun ve ark. (45) göre ATN oluşumundaki olumsuz hemodinamik değişiklikler meduller konjesyona sebep olur. Günümüzde yapılan çalışmalar, iskemik hasardan lökositlerdeki adezyon yapıcı molekülleri aktive eden inflamasyon meditörlerini ve bunların endotel üzerindeki reseptörlerinin artmasını sorumlu tutmaktadırlar. İskemi-reperfüzyon hasarında asıl rol oynayan faktörün nötrofillerin olduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur (44, 45). Lökositler üzerindeki bu adezyon moleküllerine ve bunların endotelyal ligandlarına karşı oluşturulan antikorların, iskemik renal hasarı azalttığını ortaya koymaktadır. Miyeloperoksidaz (MPO) enzimi hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek Cl⁻ oksidasyonunu katalize edip oldukça sitotoksik bir ajan olan hipoklorik asit (HOCl) üretimini gerçekleştirir (46). Bu reaksiyonu katalize eden MPO sadece nötrofillerde mevcuttur. Dokularda MPO aktivitesi nötrofil sayısı ile direkt orantılı olup nötrofil infiltrasyonunun güvenilir bir göstergesidir (47). Ayrıca nötrofillerde bulunan indirgenmiş nikoatinamid adenin dinükleotid fosfata (NADPH) bağımlı oksidaz sistemide süperoksit radikali oluşumunda önemli derecede etkili bir enzimdir (48).

4.1. İskemi, Reperfüzyon

İskemik hasar, bir dokuyu besleyen arteriyel sistemin herhangi bir nedenle tıkanması sonucu ortaya çıkan doku harabiyetidir (49). Bir dokuda arteriyel sistemin geçici süre ile tıkanması halinde, bu süre belli bir zaman dilimini aşarsa, geri dönüşmeyen doku hasarı ortaya çıkar. Bu kritik zaman dilimi dokudan dokuya değişiklik gösterir (50). Böbrekte yapılan deneysel çalışmalarda bu kritik zaman dilimi 30 dakika olarak bulunmuştur (51, 52). İskemi oluşmuş dokunun kan akımının tekrar sağlanmasına reperfüzyon denir. Beklenenin tersine, doku kan akımının tekrar sağlandığında ortaya çıkan reperfüzyon hasarı tek başına iskeminin oluşturduğu doku hasarından daha şiddetlidir (49). Son yıllara kadar iskemik dokuda saptanan hasarın yalnızca iskemi tarafından oluşturulduğu düşünülüyordu ancak, artık bu hasarda reperfüzyonun da önemli rolü olduğu bilinmektedir (53, 54).

Oksijen serbest radikal artışına karşı oluşan lokal savunma cevabı hakkında bilgilerimiz halen kısıtlıdır (55). Oksijen serbest radikallerinin birçok normal biyolojik işlem sırasında da üretilmesi, hayatın oksijen toksisitesi yönünden ne kadar hassas bir denge içinde olduğunu gösterir. Diğer birçok biyolojik sistemde olduğu gibi organizmanın inhibitörler, gidericiler ve benzer sistemlerden oluşan yeterli bir savunma sistemi vardır (56). Oksijen serbest radikalleri, normal biyolojik ortamlarda yer almalarına rağmen birçok patolojik olayda da rol oynarlar. Reperfüzyon iskemik dokunun geri dönüşümü için şart olsa da, bu ek bir hasara neden olabilir ve reperfüzyon hasarı gelişebilir (57-59).

Serbest radikaller; lipit peroksidasyonu, protein veya nükleik asit moleküllerinin degradasyonu gibi birçok hücrel hasar olayını başlatabilirler (60, 61). Protein aktivitesindeki değişiklikler, taşıyıcı protein ve iyon kanallarının aktivasyonu veya inaktivasyonu yoluyla Na, K, Mg ve Ca gibi iyonların membran geçirgenliklerinde ani ve şiddetli değişikliklere yol açarlar (56).

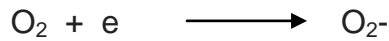
İskeminin başlamasıyla hipoksantin tarafından degrede edilen doku hücrel adenosin trifosfat (ATP) düzeyinde azalma ortaya çıkar (49). İskemi, dokunun normal hücrel fonksiyon ve iyon hemostazı için gerekli olan,

yeterli miktardaki ATP'nin oluşmamasına neden olur. Dokuda geri dönüşümsüz hasarın ortaya çıkmasına kadar geçmesi gereken iskemi süresine tolerans zamanı denir. Eğer iskemi süresi tolerans zamanını aşarsa, hücre ölümü ve doku nekrozu gelişir. Geri dönüşümsüz hasar oluşmadan önce iskemik doku reperfüze edilirse doku hasarı gerileyebilir. Reperfüzyon sırasında iskemik doku, oluşan oksijen serbest radikallerine bağlı ek zedelenmeye de maruz kalır. İskemik dokunun reperfüzyonu ile oluşan hasar, oksijen serbest radikallerinin vasıtası ile gelişir (62). İskemik dokuda oluşan serbest oksijen radikallerinin ana kaynağının ksantin oksidaz olduğu kabul edilmektedir (63). Ksantin oksidaz iskemik dokuda hücrenin düşük enerji durumundan dolayı hücre içi Ca konsantrasyonunun artışı tarafından aktive edilen bir proteaz olan ve yaygın şekilde bulunan ksantin dehidrogenaz enziminden oluşur. İskemik dokunun reoksijenasyonu ile ksantin oksidaz, moleküler oksijen ve ATP'nin düşük enerji yıkım ürünü olan hipoksantin reaksiyonu süperoksit radikali ve hidrojenperoksit oluşumu için katalize eder (63).

4.2. Serbest Radikaller

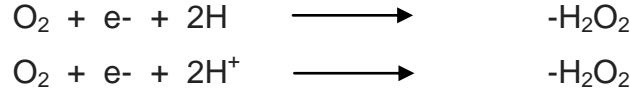
Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllerdir. Bu tip moleküller ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonuncusu meydana gelir (64).

a) Süperoksit radikali: Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) meydana gelir.

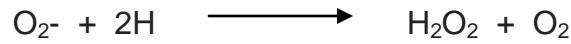


Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır (15).

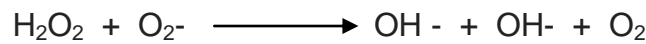
b) Hidrojen peroksit: Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen molekülü ile birleşerek hidrojen peroksiti (H₂O₂) meydana getirir (64,65,66).



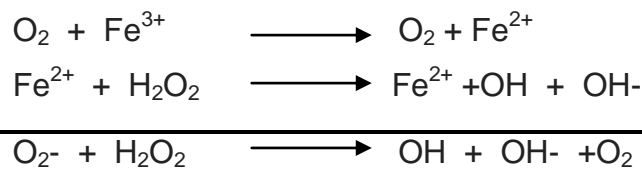
Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon spontan oluşabileceği gibi süperoksit dismutaz enzimi ile katalizlenebilir ve radikal olmayan ürünler meydana gelir (64-66)



Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (65,63, 54).

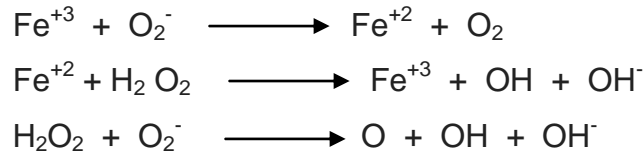


Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu denir. Bu reaksiyon demirle katalizlenir. Önce ferri demir süperoksit (Fe³⁺) tarafından ferro demire (Fe²⁺) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten OH ve OH⁻ üretilir (64, 65).

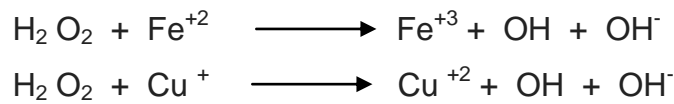


c) Hidrojen radikali: Bu radikal (OH), hidrojen peroksidin geçiş metallere indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu) meydana gelir (66). Son derece reaktif bir oksijen radikalidir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştığı yerde büyük hasara neden olur. Tioller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur (64, 65).

Doğal enzimler ve glutatyon yetersiz düzeyde ise hidrojen peroksit ve süperoksit ayrı ayrı ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe^{3+} veya Cu^{2+} ile reaksiyona girerek sonunda en güçlü radikal olan hidroksil molekülünün oluşacağı bir dizi reaksiyon oluştururlar (67,68).



Hidrojen peroksitin güçlü bir oksidan olan demiroksijen kompleksi (Ferril) oluşturmak için ferroz demir (Fe^{+2}) ile girdiği reaksiyona Fenton reaksiyonu denir. Oluşan Ferril, OH vermek üzere parçalanır. Hidrojen peroksit ferroz demirden daha hızlı olarak bakır (Cu^+) tuzları ile reaksiyona girmektedir (68, 69).



d) Singlet Oksijen: Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmamasına rağmen çok reaktif olması, üretimi sırasında bazı radikal tepkimeleri oluşturması nedeniyle serbest radikal olarak sayılır. Bu radikalin DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir (70, 71).

e) Nitrojen Oksidleri: Nitrik oksit, serbest radikal olan basit bir gazdır. Memelilerde bulunan en küçük otokoid (30 d) ve haberci moleküldür (70, 72). Çok küçük bir molekül olması ve lipofilik olma özelliği, hücre

membranlarından kolaylıkla geçmesine izin vermektedir (70, 72). NO, protein fonksiyonlarını değiştirir ve hücre hasarına ya da hücrenin korunmasına aracılık eder.

4.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

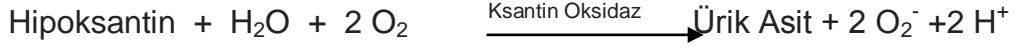
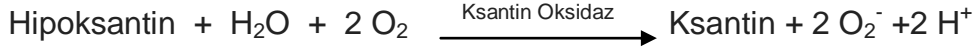
En büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden (ETS) olan elektron sızıntısıdır. Normal oksijen basıncında radikal üretimi mitokondrial oksijen tüketiminin %1-2 si kadarken yüksek O₂ basıncında bu oran artar. Serbest radikallerin kaynakları biyolojik ve hücre içi olarak ikiye ayrılır. Aktive olmuş fagositlerin, radyasyonun, bağımlılık yapan maddelerin (Alkol ve uyuşturucular), antineoplastik ajanların, çevresel ajanların (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, sigara, dumanı) ve stresin (katekolamin artışı ile) etkisi sonucunda oluşan serbest radikaller biyolojik olanlardır. Küçük maddelerin otooksidasyonu (Katekolaminler), enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dioksijenaz, hemoglobin), mitokondrial elektron transportu, endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (Sitokrom P-450), peroksizomlar(oksidazlar), plazma membranı (lipooksijenaz, prostoglandin sentetaz, fagositlerde nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lipid peroksidasyonu), oksidatif stres etkenleri (iskemi, travma) ile oluşanlar ise hücre içi kaynaklıdır (15, 16).

4.3.1. Ksantin Oksidaz Sistemi

İskemi (hipoksi) sırasında ATP üretimi durur, ancak kullanımı devam eder. ATP, yüksek enerjili fosfat bağları yıkılarak adenozin monofosfata kadar yıkılıp daha sonra hücre dışına difüzyona uğrayarak burada inozin ve hipoksantine yıkılır. Normalde dokuların oksijene olduğu durumda hipoksantin, ürik aside ksantin dehidrogenaz tarafından metabolize edilir. Bu reaksiyonda NAD elektron alıcısı olarak görev alır (38).

İskemi esnasında hücre ATP düzeyindeki azalma ile birlikte iyon konsantrasyonlarındaki değişikliklerden en önemlisi hücre içi Ca²⁺ iyonunun derişiminin artmasıdır. Hücre içi Ca²⁺ 'un yükselmesiyle Ca ile aktive olan proteazlar aktive olarak ksantin dehidrogenazı (D tip), ksantin oksidaz formuna (O tip) dönüştürürler. Oluşan ksantin oksidaz ortamda biriken hipoksantini ürik aside dönüştürürken NAD yerine reperfüzyonla dokulara

ulaşan O₂'yi kullanırlar. Sonuçta ürik asitle birlikte O₂⁻ radikalini oluştururlar (73).



4.3.2. Fosfolipaz Sistemi

İskemi reperfüzyon hasarında iskemik dokunun reperfüze olmasından kısa bir süre sonra intrasellüler serbest Ca²⁺ miktarının hızlıca artması ile plazma membranlarında bulunan Fosfolipaz A₂ aktive olur. Fosfolipaz A₂ membran fosfolipidlerinden yağ asitlerini parçalayan hidrolitik bir enzimdir. Bu nedenle araşidonik asit ürünlerinin iskemik dokuda açığa çıkmasına ve nötrofillerden bağımsız olarak endotel hasarlanmasına sebep olur (74, 69). Ayrıca reperfüzyon hasarında araşidonik asit ürünleri (Lökotrien B₄ ve tromboksan A₂) nötrofilleri etkileyerek oluşan hasarı arttırlar. Bu üç mekanizma ile olur.

1- Güçlü birer kemoatraktan rolü oynayarak nötrofil akümülyasyonunu sağlarlar ve endotele nötrofillerin adhezyonunu arttırlar. Lökotrien B₄ (LTB₄) ve tromboksan A₂ (TxA₂)'nin oldukça potent kemoatraktanlar olduğu bilinmektedir (63). Yapılan çalışmalarda LTB₄ ve TxA₂ inhibisyonunun deneysel miyokard enfarktüsü ve ekstremiteye turnike uygulanması sonrasında, nötrofil diapedezini önemli oranda engellediği gösterilmiştir.

2- Araşidonik asit ürünleri, nötrofilleri aktive ederek daha fazla oranda oksijen radikali ve proteolitik enzim üretmelerine neden olurlar. LTB₄'ün, nötrofillerden H₂O₂ ve elastaz salgılamasında ve nötrofillerin in vitro ve in vivo olarak endotelial geçirgenliğini arttırmasında potent bir stimulatör olduğu gösterilmiştir (75, 76). TxA₂ ise, iskemi reperfüzyon sonrasında nötrofilleri aktive ederek H₂O₂ üretmelerini stimüle eder.

3- Lökotrienler ve tromboksanlar, mikrovasküler yatağa doğrudan vazokonstrüktör etki ile reperfüzyon sonrasında bozuk kapiller akıma yol açarlar (69, 77).

4.3.3. Aktive Nötrofiller

İskemi sırasında ortaya çıkan birçok kemotaktik faktör dokularda anormal ve uygun olmayan nötrofil aktivasyonuna ve inflamatuvar enzimlerin salgılanmasına yol açar (73, 76, 78). İskemi- reperfüzyon akut inflamatuvar bir cevap oluşturur ve lipid mediatörlü kemotaktik peptitler ile kompleman sistemini aktive ederek nötrofil kemotaksisini uyarır. Arteriyel kan akımının %80 azaltılmasıyla oluşturulan iskemiden sonra kapiller çıkışında yer alan venüllerde lökosit birikiminin 4–10 kat arttığı, reperfüzyon ile bu oranın 35 katına çıktığı saptanmıştır. Ayrıca kan akış hızının azalması lökositlerin endotele adezyonunu kolaylaştıran önemli bir etkendir (79).

Nötrofiller iskemi sonrası doku hasarını gerek serbest oksijen radikalleriyle gerekse de sitotoksik enzimleri salgılayarak oluştururlar (80). Dolaşımdaki nötrofil aktivasyonunun ya da sayısının azaltılması ile iskemi-reperfüzyon hasarı ile oluşan doku hasarının azaltıldığı görülmüştür. Aynı şekilde lökositlerin endotele adezyonunun önlenmesinde hasarı azaltabilir (81). Kalp, barsak, iskelet kası, beyin, akciğer ve böbrek gibi pek çok dokuda iskemi-reperfüzyon hasarının oluşumunda aktive lökositler sorumludur.

Lökositlerin oksijen radikallerini üretmek için kullandıkları reaksiyona solunum patlaması (respiratory burst) denir ve burada NADPH oksidaz rol alır. Enzimin aktive olması ile sitoplazmik NADPH'den alınan iki elektron iki molekül oksijene verilerek iki molekül süperoksit açığa çıkarılır.

Nötrofillerde aynı zamanda fagosite edilen mikroorganizmaların yok edilmesinde kullanılan lizozomal myeloperoksidaz sistemi de bulunmaktadır. H_2O_2 , myeloperoksidaz enzimi ile Br, I ve Cl ile tepkimeye girerek HOCl, HOI, HOBr gibi güçlü asitleri oluşturur (45, 82).

Bunların dışında lökositler proteaz, katyonik proteaz, kollagenaz ve elastaz gibi enzimler salgılayarak endotelial hücre glikokaliksini ve bazal membranını harap ederek kapiller geçirgenliği artırır. Kapillerde biriken nötrofiller kapiller lümenin tıkanmasına neden olurlar.

5. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrenin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzimleri gibi tüm önemli bileşiklerine etki edebilirler fakat, lipidler en hassas olanlarıdır (64). Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve dokuya çok zararlıdır. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Plazma membranı ve organel lipid peroksidasyonu serbest radikal kaynaklarının tümü ile stimüle edilebilir. Üç yada daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malonildialdehid (MDA) meydana gelir, oluşan MDA, membran bileşenlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna neden olur, bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. MDA ölçümü lipid peroksidasyon seviyelerinin tespitinde sıklıkla kullanılır. MDA, lipid peroksidasyonunun spesifik bir indikatörü değildir ancak, lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir (64, 65).

Proteinlerde doymamış bağ içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksektir. Nitekim serum proteinlerinde, kataraktlı lens proteinlerinde ve enflamatuar eklem hastalığı olan kişilerin sinovial sıvılarındaki immunglobulin G (İgG)'lerinde serbest radikal hasarı saptanmıştır.

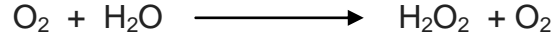
Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (64).

5.1. Antioksidan Savunma

Hücreler oksijen serbest radikallerini kontrol altına almak ve zararlarını önlemek için enzimatik ve enzimatik olmayan savunma yollarına sahiptir (82, 83).

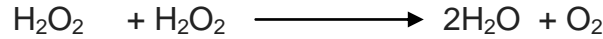
Enzimatik olanlar:

-Süperoksit dismutaz.

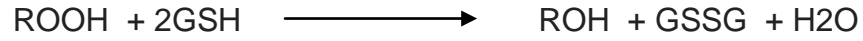


-Katalaz.

Katalaz %80 peroksizomlarda %20 ise sitoplazmada yer alan bir hem-enzimdir. Katalaz enzimi toksik etkileri nedeniyle radikal olmadığı halde reaktif bir molekül olan hidrojen peroksidin (H_2O_2) doğrudan suya indirgenmesini katalize eder.



-Glutasyon peroksidaz.



Bu enzimler içinde en önemli olanı redükte glutasyon (GSH) fazlalığında hidrojen peroksidi ortamdan uzaklaştıran glutasyon peroksidazdır.

Enzimatik olmayanlar: Bunlar direkt serbest radikal gidericilerdir(82).

-Vitamin E: lipid peroksidasyon zincirini kırar.

-Vitamin C: O_2 ve OH^- radikali direkt tutar ve vitamin E'yi rejenere eder.

-Vitamin A: Peroksitlere etki eder.

-Seruloplazmin: Demiri okside eder.

-Albumin: Cu^{++} bağlar.

6. Nitrik Oksit

Nitrik oksit çok sayıda hayati fonksiyonların kontrolünde görev alan bir molekül olup, hücrel fonksiyonların denetiminde otokrin ve parakrin etkilere sahiptir. Nitrik oksit renksiz bir gaz olup, serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür. Diğer radikal türlerinin aksine nitrojen ve oksijen atomları üzerinde delokalize bir şekilde bulunur. Nitrik oksit radikalinin bu özelliği sayesinde kendi reaktivitesini baskılar, stabilitesini artırır ve biyolojik

koşullarda sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere difüzyonunu kolaylaştırır. Nitrik oksit sentezi için kullanılan öncül biyomolekül arjinin amino asididir. “NOS enzimi 2 basamakta arjininden nitrik oksit sentezlerken bir molekülde sitrulin oluşur (72).

Nitrik oksit sentezini katalizleyen NOS enzimlerinin konstitütif (c NOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere iki temel izoformu bulunur. Konstitütif enzimin ayrıca iki formu vardır. Bunlardan endotelial NOS (eNOS)(NOSIII) olup, ağırlıklı olarak zarsal bir enzim olup, endotel kaynaklı gevşeme faktörünün sentezinden sorumludur. Konstitütif enzimin ikinci formu ise merkezi sinir sistemi ve nöronlarda haberci molekül olarak kullanılan nitrik oksitin üretiminden sorumlu olup, nöronal NOS (nNOS)(NOS I) olarak adlandırılır.

Konstitütif enzimlerin (eNOS ve nNOS) aktiviteleri mutlak olarak Ca^{2+} /Kalmodülin bağımlıdır (72, 84, 85). NOS enzimlerinin indüklenebilir olan izoformu (iNOS, NOS II) ise alt birim olarak kalmoduline ihtiyaç duyar (72, 84). Aktivitesi için hücrede kalsiyum derişiminin artması gerekli değildir.

6.1. Nitrik Oksitin Biyolojik Sistemlerdeki Etkileri

Nitrik oksit çok yönlü bir biyolojik haberci molekül olup, farklı konsantrasyonlarda farklı biyolojik etkilere sahip olabilen bir moleküldür. Nitrik oksitin sinir sisteminde nöronal fonksiyonların modülasyonundan, damar düz kaslarının gevşemesine, lökositlerin endotel hücrelerine yapışması ve inflamatuvar dokuya göç etmesinden, trombosit agregasyonunun inhibisyonuna, damar geçirgenliğinin kontrolünden, penil ereksiyona, immün sistemin fonksiyonlarından, böbrekler ve barsaklarda tuz ve su emilimine kadar birçok fonksiyonu mevcuttur (72, 84).

Nitrik oksitin hücreleri sitotoksik etkilere karşı koruyucu özelliğide tanımlanmıştır. Başta oksijen radikalleri olmak üzere diğer atom merkezli radikallerle tepkimeye girerek, kendisinin ve tepkimeye girdiği radikalın reaktivitesini sonlandırır (72).

Sitoprotektif etkisi apoptozisde ve diğer sitokinlerle oluşan doku hasarında, hipervalant metaloprotein bileşikleri ile reaksiyona girmesi ve hücre içine demir (Fe) salınımını kontrol etmesiyle de açıklanmaktadır (84).

Yine nitrik oksitin lipid peroksitleriyle reaksiyona girerek sitoprotektif etki gösterdiği ortaya konmuştur. Nitrik oksit aynı zamanda lökositlerin hücre yüzeyine tutunmaları ve yapışmalarını inhibe ederek de sitoprotektif etki gösterir .

Nitrik oksitin regülatör ve koruyucu etkilerinin yanı sıra sitotoksik etkileri de mevcuttur. Nitrik oksit çeşitli inflamatuvar olaylar ve hastalıklarda sentezi artan ve sonuçta doku hasarına katkıda bulunan etkenlerden biridir. Artrit, ateroskleroz, doku enfarksiyonları, dejeneratif nöronal hastalıklar ve diyabette nitrik oksit sentezi artar ve üretilen nitrik oksit doku hasarına doğrudan katkıda bulunur (72).

Nitrik oksitin sitotoksik etkisi, demir içeren mitokondrial ve sitozolik enzimlere bağlanarak, sitokromal enzimler ile DNA'da yapısal değişikliğe yol açarak, peroksinitritlerden OH radikalinin oluşumuna neden olarak ortaya çıkmaktadır. Nitrik oksit derişimi arttığında O_2^- ile reaksiyona girerek peroksinitrit ($ONOO^-$) bileşimini oluşturur (84).

Nitrik oksitin sitotoksik etkilerinin glikoliz, sitrik asit döngüsü ve özellikle de mitokondri solunumunun inhibisyonundan kaynaklandığı kabul edilmektedir. Nitrik oksit, oksijenle yarışmalı olarak sitokrom oksidaza bağlanıp inhibe eder. Elektron transport sisteminin demir-sülfür (Fe-S) içeren merkezleri (kompleks I ve kompleks III) ve akonitaz enziminin Fe-S merkezleri NO-bağımlı S- nitrozilasyonuna uğrar, demir salınımı gerçekleşir. Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenazın ADP-ribozilasyonu da glikolitik yolun inhibisyonuna neden olur. Görüldüğü gibi NO sentezinin artışı, enerji metabolizmasının her üç yolu üzerinde de inhibitör etkilere sahiptir. Peroksinitrit ve N_2O_3 enerji metabolizmasında görev alan proteinlerde yapısal değişimlere neden oldukları gibi, akonitaz enziminin proteolitik yıkımını da hızlandırır. Peroksinitrit protonlanarak nitrat anyonu ve hidrojen katyonu oluşturmak üzere yıkıma uğrar. Nitrat anyonu ise hidroksi radikali vermek üzere yeniden yıkılır. Peroksinitritin ve bunun yıkım ürünlerinin demir (Fe) gerektirmeden de lipid peroksidasyonunu başlatabildiğini öne süren çalışmalarda mevcuttur (84).

Fizyolojik derişiminin üzerinde NO sentezi her üç NOS izoformunda da görölür. Serebral iskemide kontrolsüz artan Ca^{2+} , nNOS'ı aktive ederek beyinde toksik etkilere neden olabilir. Çeşitli anaflaktik reaksiyonlarda aktive olan eNOS vazoaktif NO sentezini arttırabilir. Çok daha yaygın olarak artan NO sentezinin nedeni iNOS izoformudur. Çünkü bu izoform sentezlendikten sonra aktivitesi kontrol edilemez ve lokal olarak NO derişimini çok arttırabilir (10-100 μM 'a kadar). iNOS'dan kaynaklanan NO, damar geçirgenliğini arttırır ve septik şokta olduğu gibi şiddetli hipotansiyona neden olur. Diyabet, romatoid artrit, inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda doku yıkımına yol açar (72).

6.2. Platelet Agregasyonunun NO Tarafından İnhibisyonu

Nitrik oksit, platelet aktivasyonu ve agregasyonunun çeşitli basamaklarında etkili olarak birbirinden farklı mekanizmalarla agregasyonu inhibe eder. Bu etkilerini esas olarak hücre içinde siklik GMP (cGMP) derişimini ve cGMP–bağımlı protein kinazların aktivitelerini kontrol ederek gösterir. Guanilat siklaz inhibitörleri ve cGMP–bağımlı protein kinaz inhibitörleri nitrik oksitin antiplatelet etkilerini azaltırken; cGMP fosfodiesteraz inhibitörleri, arjinin ya da NO vericileri nitrik oksit bağımlı antiplatelet etkilerini güçlendirirler.

7. cGMP

Çeşitli hormonlar, otokoidler, ilaçlar ve toksinler fizyolojik etkilerinde mesajcı molekül olarak cGMP kullanırlar. GTP'den cGMP sentezini katalizleyen Guanilat Siklaz enzimi sitoplazmik (çözünür) yada zarsal (partikül fraksiyonda) enzim şeklindedir. Nitrik oksit sitoplazmik Guanilat Siklaz (sGC) enzimini aktive ederken peptid hormonları ise zarsal (particulate) Guanilat Siklaz (pGC) enzimini uyarırlar. sGC enzimi yapısında heme ve bakır içerir. Nitrik oksit heme kısmı ile etkileşerek enzim aktivitesini arttırır(86). Artan cGMP'de protein kinaz G enzimini aktive ederek intrasitoplazmik Ca^{+2} düzeyini azaltır (86-89). pGC enzimi ise tek bir polipeptid zincirinden oluşur ve natriüretik peptidlerin membran reseptörleri

ile etkileşimi sonucu aktive olur. Üç majör natriüretik peptid vardır: atrial natriüretik peptid (ANP), beyin natriüretik peptid (BNP) ve C-tipi natriüretik (CNP) peptid (86). cGMP'nin etkisine aracılık eden başlıca sistemler: a) cGMP ile kontrol edilen iyon kanalları, b) cGMP ile kontrol edilen fosfodiesterazlar ve c) cGMP bağımlı protein kinazlardır.

Retinal rodların ışığa cevabı, kokuların algılanması, steroidogenez, platelet agregasyonu, böbrek ve barsaklarda iyon transportu, kardiyak ve düz kasların kasılması cGMP ile kontrol edilen önemli fizyolojik olaylardandır (72).

8. Dokuda Oksijen Radikallerinin Oluşumu

Normal metabolizmadaki reaktif oksijen ana kaynaklarından biri mitokondrial respirasyondur (90). Mitokondrial respiratuar zincirin son basamağı moleküler oksijenin tek adımda tetravalent redüksiyonudur. Mitokondrial dış membranda bulunan NADPH oksidaz yardımı ile süperoksit ortama çıkar (82). Reaktif oksijenin mitokondrial üretimi ile iskemi ve reperfüzyonda artış gösterir (91, 92). Peroksizomal beta oksidasyon, yağ asidi oksidasyonunun önemli bir bölümünü oluşturur ve bu nedenle sabit bir hidrojen peroksit kaynağıdır (93). Siklooksijenaz ve lipooksijenaz yoluyla oluşan prostaglandin ve lökotrienlerin oluşumunda lipid peroksitler aracı olarak rol alırlar (82). Bu yollar serbest araşidonik asit, süperoksit, hidrojen peroksit ve lipid peroksitler tarafından stimüle edilirler ve bu yolların reaktif oksijen çeşitlerini oluşturdukları gösterilmiştir (94, 95). Buna ek olarak, iskemi serbest araşidonik asidin artışına neden olur ve reperfüzyon sırasında bu yolları oksijen radikal kaynağı gibi kullanır (95, 96).

Reperfüzyon sırasında açığa çıkan noradrenalin radikal oluşumuna katkıda bulunur (82). Katekolaminlerin otooksidasyonu süperoksit açığa çıkarır (97). Endotel kaynaklı nitrik oksit de bir radikaldir ve süperoksitle reaksiyona girer. Nitrik oksit ve süperoksit arasındaki reaksiyon, peroksinitrit oluşumuna neden olur ve bu da endotel zedelenmesini başlatabilen hidroksil benzeri radikale dönüşür (98). İn vivo olarak granülosit aktivasyonunun oksijen tüketiminde ani bir artışa neden olduğu gösterilmiştir. Oksijen

tüketiminin %90'ı, aktive NAD(P)H oksidaz tarafından süperoksit olarak dönüştürülür. Süperoksit ise hidrojen peroksit olarak dönüştürülür. Hidrojen peroksit ise, bakterilere toksik olduğundan bakterileri öldüren hipoklorous asit oluşumunda kullanılır (82).

9. Renal İskemi ve Reperfüzyonun Neden Olduğu Histopatolojik Değişiklikler

Reperfüze edilen dokular birçok deneysel modelde süperoksit veya hidroksil radikallerinin oluşumu allopurinol veya ksantin oksidazın diğer inhibitörleri ile korunabilmektedir (99, 100). Renal korteks kan akımı, postiskemik renal kortekste 24 saatte reperfüzyon ile kontrole göre %12 oranında azalmaktadır. Bu düşüş;

1-Tubuloglomerüler arterioller vazokonstriksiyon

2-Hücre sel şişme, tübül obstrüksiyon, interstisyel ödeme bağlı intrarenal basınç artışı

3-Lökosit tıkaçları ve kırmızı hücrelerin dış medulladan sızmasına bağlı vasküler obstrüksiyona bağlı olabilir (101).

Kan akımında düzensiz dağılım söz konusudur. Kan akışı bazı kapillerlerde azalma ile kalmaz, tamamen durur. Etkilenen proksimal tübüller reperfüzyon sırasında sıcak iskemiyi nedeniyle hasarlanırlar ki bu da renal fonksiyonun düzelmesinde yavaşlamaya neden olur. Reperfüzyon sırasında tübül lümen çapı artar, proksimal tübüllerden ortaya çıkan döküntüler tübülleri tıkayarak henle kulpu ve proksimal tübüllerde sıvı alımına direnç oluşturur, sellüler hasar nedeniyle tübül su reabsorpsiyonu bozulur, kapiller dilatasyon dış medulla toplayıcı tüplerine basıyla intratübül basıncı artırır. Bunların sonucunda kan akımı %12 azalırken glomerül filtrasyon hızı %90 azalır (101).

10. SWL ve Deneysel Hayvan Araştırmaları

Makroskopik açıdan klinik dozdaki şok dalgaları ile tedavi edilen köpek ve domuz böbreklerinde görülen akut değişiklikler, insandakilere çarpıcı bir şekilde benzemektedir (102). Bu lezyonun büyüklüğü tahmin edilebilir, yeri fokaldır ve sebep olunan yaralanma tipleri açısından (zellikle vasküler hasar) zgndr. Hematüri, kontüzyon benzeri lezyonlar, subkapsüler hematomlar, hemoraji ve böbrek büyümesi gibi değişiklikleri içermektedir. Hemoraji  genel bölgede perirenal, subkapsüler ve intraparakimal bölgede görülmüştür. Ancak genellikle F2'de ya da bunun yakınındaki bölgededir. Perirenal yağlı bölge, hemorajinin en sık görüldüğü yerdir. Subkapsüler hemorajinin kapsülün uzunluğu boyunca diffüz olarak yayıldığı ya da farklı hematomları oluşturduğu bilinmektedir. İntraparakimal hemoraji bölgeleri genellikle üçgen şekindedir, kortikomedüller birleşim noktasında en ciddi duruma gelmektedir ve papiller bölgeden kapsüle doğru uzanır. Renal parankim ya da subkapsüler bölgede bulunan hematomların çapı 0.5 cm'ye kadar değişmektedir ve sayıları böbrek başına 1 ila 10 adet arasında değişmektedir (102).

Histolojik analizler, hemoraji bölgelerinin genellikle F2 bölgesinin yakınında olduğunu göstermiştir. Hasar bölgeleri yakındaki ince cidarlı damarların ve küçük arterlerin ve glomerüler ve peritübüler kapillerlerin duvarlarında yırtılmaları ile ortaya çıkar. Bu durum hem tedavi edilen ve hem de tedavi edilmeyen böbreklerde ölçülen vazokonstriksiyon ile bağlantılıdır (103).

Venöz trombüsler genelde hemoraji bölgelerinde bulunan interlobüler ve arkuat damarlarda grlr. Bu damarlardaki aşır endotel hasarının belirtileri; endotel hücrelerin kaybı, polimorfonükleer hücrelerin hemen bağlanması ve bu damarların luminal yüzeyine plateletlerin aktive olmasıdır. Bu durum bir vasküliti gösterir. Masif hemoraji bölgelerinin yakınındaki nefronlar hasar belirtileri gösterirler. Bu değişiklikler hücrelerde vakolar değişiklikler, tübüler dilatasyon, kast oluşumu (hyaline benzer, kırmızı kan hücreleri) ve hafif tübüler nekrozdan ibarettir. Bu gözlemler mikrovasküler

yapılar ve nefrona şok dalgasının kolaylıkla zarar verebileceğini gösterir, ancak ilk yaralanma vasküler hasar olarak görülmektedir (104).

Şok sayısı arttıkça (1000-8000) daha fazla hematoma oluştuğu, lezyon boyutunun arttığını, ancak bu durumun şok sayısı ile doğrudan bağlantılı olmadığı gösterilmiştir. Yine, daha fazla şok adedi daha büyük hematomlarla bağlantılıdır, bunun sebebi tahminen daha yüksek şok adedinde daha büyük arterlerin yaralanmasıdır. Şok dalgalarının uygulanma hızı arttığında (1 şok/sn - 100 şok/sn) ve şok dalgaları eş dalgalar halinde uygulandığında daha fazla hemoraji ve tübüler hasarın söz konusu olduğu gösterilmiştir. Böbrek boyutları intraparakimial hemorajiyi arttıran bir risk faktörüdür (103).

11. Heat Shock Protein (HSP)

Modern stres araştırmaları Ritossa'nın yaptığı araştırmalar ile başlamıştır. Ritossa, rutin hücre gen ekspresyon mekanizmasının stres durumlarında tekrar programlanma ile hücre stres cevabı oluşturduğunu ilk tespit eden kişidir (105). *Drosophila melanogaster*'da ısıya bağlı spesifik değişiklikleri tanımlamıştır. Bu gözlemden 10 yıl sonra araştırmalar protein düzeyine çıkmıştır. Hücrede normalde geniş bir protein dağılımı görülmektedir. Stres durumlarında rutin sentezlenen protein miktarlarında azalma ile birlikte strese bağlı protein sentezinde artma görülmüştür. Stres durumlarında sentezi artan bu grup proteinler heat shock protein (HSP) olarak tanımlanmıştır ve moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılmışlardır. HSP 70 insan vücudunda iyi tanımlanmış tip olup 70- kDa'luk bir proteindir (106).

HSP'nin hücrenin korunmasındaki rolü: HSP yapımı ısı, ultraviyole ışık ve sitotoksik ajanlar tarafından uyarılır. HSP yapımını uyarıcı bu faktörler proteinlere toksik olan yapılardır. Denatüre proteinlerin düzeyinde artma görülür (107). Heat Shock Factor (HSF) transkripsiyon faktörünü oluşturur. HSF'nin HSP regülasyonunu yaptığı kabul görmüş en yaygın hipotezdir. Denatüre ve dağılmış proteinler HSP'ye bağlanmak için uygundur. HSF

aktivasyonu gerçekleşir. Bunun sonucu olarak HSP gen transkripsiyonunda artma görülür (108). HSP-70'in hücre tamir sürecindeki rolü tam olarak açığa çıkarılmalıdır. HSP-70 oluşuktan sonra yeni transle olmuş immatür proteinlere bağlanır. Bu proteinlerde oluşabilecek erken ve düzensiz bağlanmaları önler. Yeni polipeptit zincirinin aminoasidleri en son ürünü oluşturmak için gerekli bütün bilgileri sağlarlar. Fizikokimyasal güçlerle üç boyutlu proteinin katlanması oluşur. Daha önceleri bu olayların kendiliğinden oluştuğuna inanılırdı. HSP'nin tespiti ile bu kavram değişmiştir. İnsanda mitokondride benzer "koruyucu transport" gözlenmiştir. HSP 70 molekülü immatür polipeptit zincirlerine bağlanmaktadır ve bu yapıların yetersiz bağlanmasını ve katlanmasını önlemektedir. HSP'nin bu fonksiyonu "moleküler koruyucular"olarak bilinir (109).

Bugün bilinmektedir ki proteinlere toksik olan ve koruyan durum arasında süreklilik gösteren bir denge vardır. Protein denatürasyonu sonucu protein bütünlüğü kaybolmakta bunun sonucu olarak HSP gibi proteinlerin yapısını korumaya yönelik olan araçların üretimi artmaktadır (109).

Moleküler koruyucular proteinlerin kendi yapılarını değiştirmeden taşınmasını ve katlanmasını sağlarlar. HSP-70 moleküler koruyucuların prototipidir. İmmatür ve bozulmuş proteinlerin gizlenmiş hidrofobik zincirlerine bağlanırlar. Hasar görmüş proteinlerin bir araya gelmesini önlerler. Hasar görmüş proteinleri çözünür hale getirirler. HSP-70'e ek olarak diğer HSP'ler de protein degradasyonu ve hücre sinyal mekanizmasında yer alırlar. HSP'ler "homeostasis"i sağlayarak hücrenin devamlılığını sürdürebilmesi için pozitif etkide bulunurlar. Hücrelere olan bu katkılarından dolayı stres durumlarında tüm organizmanın korunmasına yönelik faydaları vardır (109).

11.1. Renal iskemi ve HSP: İskemi sonrası iyileşme sürecinde HSP'nin rolüne dair bir çok kanıt bulunmaktadır (110,111). Hücre düzeyinde olan renal iskemide hücre disfonksiyonundan hücre ölümüne kadar değişen belirgin hasarlar oluşur. Nekroz hücre ölümünün görüldüğü genellikle çabucak ortaya çıkan bir yıkım sürecidir. Apoptozis (programlanmış hücre ölümü) dikkatli bir şekilde düzenlenmiş aktif bir süreçtir. Klinik ve deneysel akut renal hasarda apoptozis hücre ölümünün ana nedenidir (112).

Tedavi yaklaşımları açısından canlı hasarlı hücelere müdahale en önemli hedeftir. Hücre hasarı, tamir ve ölüm yolu arasında bir denge vardır. Her bir renal hücre epiteli iyileşip hayatta kalır ya da apopitozise uğrayıp ölür. Stresin uyardığı apopitoziste hasar tespit edilir. Hücre tamir mekanizmasının yardımı ile hücrede oluşan hasarın daha fazla devam etmesine izin verilmez. Renal tübül hücrelerde enerji tükendiği zaman protein-protein arasındaki etkileşimle regüle edilen spesifik moleküler yollar aracılığıyla apopitozis gerçekleşir (113). HSP, proteinlerin toplanmasına, katlanmasına, taşınmasına etki eder. Apopitotik yolların yürütülmesini ya da inhibe olmasını etkileyen önemli bir adaydır. Yeni yapılan deneysel bir çalışmada HSP'nin apopitozise karşı hücre koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir (114). Enerjisi tükenmiş renal epitel hücrelerde HSP-70 aracılığı ile apopitozis azalır. HSP-70 mitokondride sitokrom c'nin strese bağlı salınımını baskılar. Apopitozise neden olan faktörlerin nükleer translokasyonu HSP tarafından baskılanır. Bu çalışmaların in vivo sisteme taşıyan çalışma yoktur. Son yıllarda renal iskemiye takiben hücre hasarı oluştuğunda hücre iskeletinin yeniden organize olmasına HSP'nin katkıları konusunda yapılmış in vitro ve in vivo çalışma sayısında artış bulunmaktadır.

Renal iskemi veya enerji tükenmesi sonucu renal tübül hücrelerinde aktin hücre iskeleti birikiminde artma olur (115). Mikrovilluslar parçalanır. Hücre- hücre ve hücre-substrat bağlantıları ayrılır. Bütün bunların sonucu olarak hücre polaritesi bozulur. Hücre polaritesi tübül hücrelerinin fonksiyon göstermesi için gayet önemlidir. Belirli yönde substrat taşınmasında hücre polaritesi önemlidir. Renal sodyum kaybı ve azalmış glomerüler filtrasyon oranı stres durumlarında hücre polaritesi bozulması ile açıklanabilir (115). HSP'nin hücre iskeletinin bütünlüğünü sağladığını ve hücre polaritesinin restorasyonunda yer aldığını gösteren çok sayıda deneysel kanıt vardır. Renal iskemi oluştuğunda ve hücredeki enerji azaldığı zaman hücre stres cevabı ile HSP uyarılır. Diğer proteinlerin yapımı azalır. Örneğin Na-K adenozin trifosfat (ATP) kanalı proteinlerinin yapımı azalır. HSP'nin hasarlı ve bozulmuş proteinlerin stabilizasyonunu aktive ettiği düşünülmektedir. HSP-70 açığa çıkınca hücre iskeletinin parçası olarak Na-K ATP'ase stabilize olur

(116). Organizmada oluşan iskemilerden sonra HSP miktarı artar. HSP miktarının arttığı hücreler daha ağır olan stres durumlarına dirençlidirler. Tekrarlayan hücre hasarlarına direncin artması hücre koruma olarak adlandırılır. Renal iskemi durumu oluşturulduğunda HSP-70'in uyarılması ile beraber hücre iskeletinin bozulması da önlenir. HSP antikorları ile stabilizasyon önlenirse hücre hasarının daha kötü olduğu tespit edilmiştir (117).

İmmatür böbrekte hipoksik ve iskemik hasara karşı korunmayla bağlantılı olarak HSP-70 düzeyleri yüksek bulunmuştan deneysel çalışmalarda immatür tübül hücrelerinde matür tübül hücrelerine göre HSF miktarınının fazla olduğu tespit edilmiştir. İmmatür hücrelerdeki yüksek HSF miktarına bağlı olarak, HSP- 70 yapımı artmaktadır. Bu durum immatür tübülüs hücrelerini hipoksiye karşı daha korunaklı hale getirir (118).

11.2. HSP ve SWL: Klinik ve deneysel çalışmalar SWL sonrası böbrekte morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler olduğunu göstermektedir. Bu tür değişikliklerin nedeni ile araştırmaya yönelik olarak vasküler destek ve total etkin renal plazma akımındaki değişiklikler incelenmiştir (119). Sonuç olarak SWL sonrası renal perfüzyonda daha sonra düzelen geçici azalmalar olduğu tespit edilmiştir. İskemi sonrası hasar serbest oksijen radikallerinin oluşmasına yol açar (119). Serbest oksijen radikallerinin oluşması patofizyolojik ve patolojik stresin varlığını gösterir. Bu yüzden bu tür hasarlar sitoplazmik proteinlerin denatüre olmasını artırabilir ve HSP cevabı tetiklenebilir (120). Daha önce yapılan deneysel çalışmada SWL 1000-1500-2000 şok dozunda ve 14 kV güç altında tavşan böbreğine uygulanmıştır. Bu dozda (1500-2000 şok) SWL uygulanan böbreklerde HSP pozitifliğinin, 1000 şok uygulanan grup ve kontrol grubuna göre 24. saatte daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Şok dalga sayısı arttıkça glomerül ve tübüllerin HSP-70 pozitifliğinin arttığı görülmüştür (121). Sonuç olarak doku hasarının şok dalga sayısı ile fazlaşması sonucu HSP pozitifliğinin arttığı düşünülmüştür. Diğer ilginç bir bulgu ise distal tübüllerde ve toplayıcı kanallarda nefronun diğer parçalarına göre daha yaygın pozitifliğin görülmesi olmuştur (121). SWL uygulandıktan 7 gün sonra incelenen dokularda HSP-70 pozitifliğinin orta

düzeyde ya da belirli bir düzeyde olduğu gözlenmiştir. Kontralateral böbrekte HSP pozitifliğinin çok az miktarda olduğu ya da hiç olmadığı görülmüştür (121).

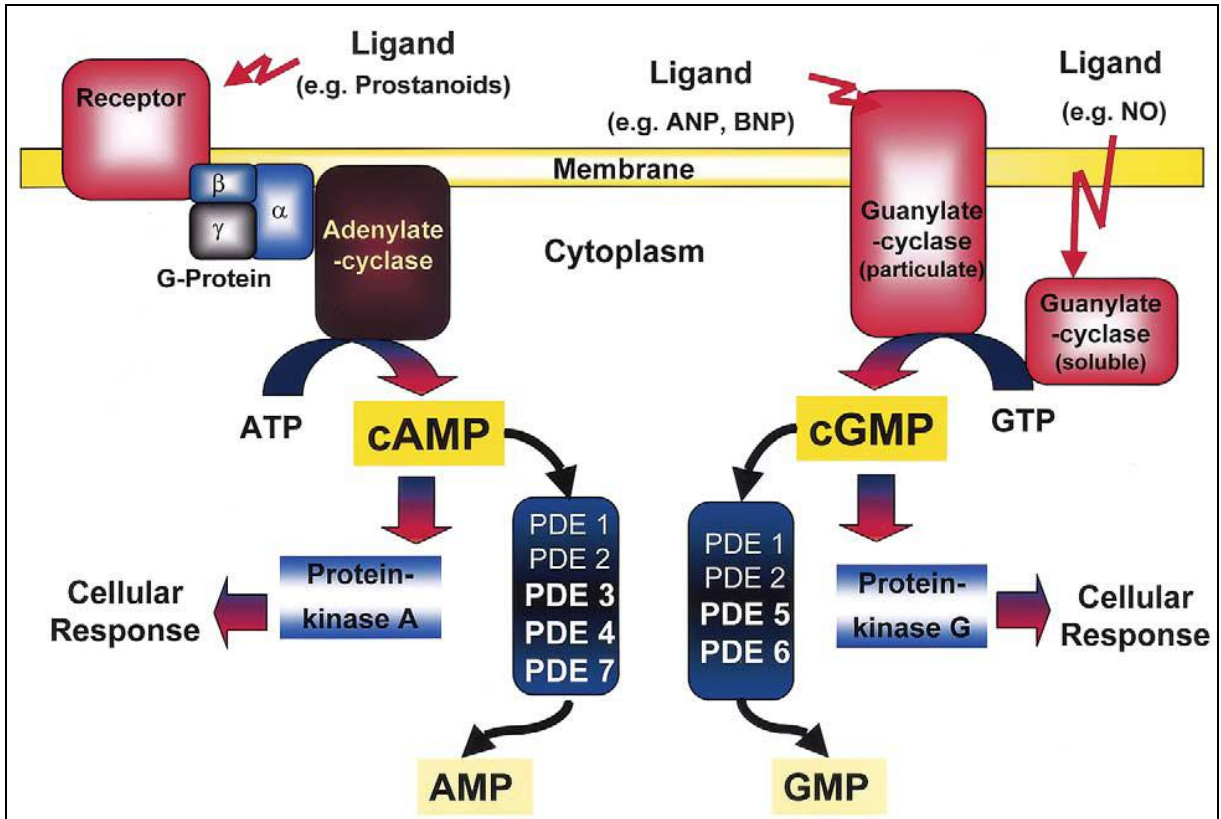
12. Tadalafil

PDE; 50 yıl önce, ikincil haberci siklik adenozin 3',5'-monofosfat (cAMP)'in aktivitesini bloke etmek için hayvan modellerinde keşfedilen bir enzimdir. PDE üst familyası, 21 tek gen üzerindeki PDE1'den PDE11'e kadar olan 11 familyayı içerir. Bunlar; öncelikle vasküler, visseral ve pulmoner düz kas olmak üzere çeşitli dokulara dağılmışlardır ve birçok organ sisteminin fizyolojik fonksiyonlarını düzenlerler. cGMP yıkımını önlemeleri sayesinde, PDE5 inhibitörleri, cGMP'nin biyolarlanımında artış yaratırlar. Her ikisi de, düz kasın stimülasyon ile NO aracılı relaksasyonunu kolaylaştırır ve potansiyelize eder. Kafein ve teofilin, PDE enzimini inhibe ettiği onlarca yıl önce bulunmuş ilk ilaçlardandır. Geçen 30 yıl süresince, çeşitli PDE ailelerinin inhibitörleri bir grup hastalığın tedavisi için geliştirilmiştir. Bunlardan, PDE3 inhibitörü olan milrinone ve amrinone 1980'lerde kalp yetmezliği için, PDE4 inhibitörü olan cilostazol klodikasyon için geliştirilmiştir; anti-platelet etkisi olan dipyridamole de PDE8, PDE9 ve PDE5'i inhibe eder.

Başlangıçta anjina pectoris tedavisi için araştırılan ilk oral PDE5 inhibitörü sildenafilin, çalışmada yer alanlarda ereksiyona yol açtığı rastlantı eseri bulunmuştur. Sonrasında sildenafil 1998'de erektil disfonksiyonun ilk oral tedavisi olarak piyasaya çıkarılmış ve 2003'te yine PDE5 inhibitörü olan iki ilaçla, vardenafil ve tadalafil, takip etmiştir (122).

Tadalafilin moleküler yapısı, yapıları birbirine benzer olan sildenafil ve vardenafilden farklıdır. Her üçü de heterosiklik nitrojen-içeren çift halkalı sisteme ve santral halkaya sahiptir. Bu santral halka cGMP analogudur ve ilaçların PDE5'in katalitik bölgesine yarışmalı bağlanmasını sağlar. Tadalafil bir ®-carboline-type PDE5 inhibitörü olarak farklılık gösterir, sildenafilin yapısındaki hidantoin halkasının modifiye bir formu olan piperazinedione halkasına sahiptir.

Vasküler sistemdeki bir grup fizyolojik süreç NO/cGMP sinyal yolları ile kontrol edilir. Endotelde lokal olarak üretilen NO, cGMP sentezi ile sonuçlanacak olan çözülebilir guanilil siklaz (sGC) stimülasyonu ile vasküler tonusu düzenler. Sonuç olarak meydana gelen intraselüler cGMP konsantrasyonlarındaki artış; kalsiyum iyon kanal modülasyonu yapma ve vasküler düz kas kontraktıl proteinlerinin kalsiyum duyarlılıklarını azaltma yoluyla vazodilatasyon sağlayacak olan cGMP bağımlı protein kinazları aktive eder. İntraselüler cGMP, siklik nükleotid fosfodiesterazlarının (PDE'ler) aktivitesi ile hızla GMP'ye inaktive edilir. Bu nedenle, düz kas hücresindeki cGMP konsantrasyonu temel olarak; bu ikincil haberci için eşsiz bir yıkım yolağı olan; sGC tarafından yapılan üretim ile PDE'ler tarafından yapılan yıkım arasındaki dengeye bağılıdır. Fosfodiesteraz tip 5 (PDE5) selektif olarak; cAMP'yi değil; cGMP'yi yıkar ve PDE5 aktivitesi vasküler tonus regülasyonu ile güçlü biçimde ortaya çıkar. Bundan dolayı PDE5 aktivitesinin farmakolojik modülasyonu, bu kontrolü elde edebilmek için etkin bir araç olur. Wallis ve ark. (122); Maurice ve ark. (122). Kulkarini ve ark. (122) revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile fosfodiesteraz tip 5 enziminin renal dokuda mevcudiyetini göstermişlerdir (Şekil-2) (122, 123).



Şekil-2: Nitrik oksit (NO), prostanoid ve natriüretik peptidlerin intrasellüler sinyal iletiminde, fosfodiesterazların (PDE) rolü (122).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu deneysel çalışma, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi tıbbi etik kurulunca 26.01.2010 tarihli 2010–01/03 karar numarası ile onaylanmış olup, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma ve Hayvan Laboratuvarında yapılmıştır. Toplam 40 adet erişkin erkek Sprague Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanların ortalama ağırlıkları 250–300 g idi. Çalışmaya alınan sıçanlar üç aylıkdı, tüm hayvanlar çalışma öncesi sistemik enfeksiyon ve enfestasyon açısından mikrobiyolojik ve biyokimyasal olarak ayrıntılı değerlendirildi. Sıçanlar, ortam sıcaklığı 20-25°C olan hayvan laboratuvarındaki her birinde 8 sıçan olan kafeslere yerleştirildi. Hayvanlar standart diyet ile beslendiler.

Çalışmaya alınan 40 sıçanın 8 i sham grubu (grup 1) geri kalan 32 tanesi ile 4 ayrı çalışma grupları oluşturdu.

Otuziki sıçan SWL uygulanıp 3. ve 7. gün nefrektomi yapılan (grup 2, 3), öncesinde tadalafil verilip SWL uygulanan ve 3. ve 7. günlerde nefrektomi yapılan gruplar (grup 4, 5) olarak 4 gruba ayrıldı (Tablo-1).

Tablo-1: Gruplar ve yapılan işlemler.

	n	Deneysel işlemler	SWL	Tadalafil
Grup 1	8	Laparotomi, perirenal hemoklip konulması, batin kapatılması, 24 saat sonra nefrektomi		
Grup 2	8	SWL den 3 gün sonra nefrektomi	14 kv güç altında 1500 şok	
Grup 3	8	SWL den 7 gün sonra nefrektomi	14 kv güç altında 1500 şok	
Grup 4	8	SWL öncesi tadalafil tedavisi, swl sonrası 3. gün nefrektomi	14 kv güç altında 1500 şok	1 mg/kg dozunda orogastrik lavaj ile
Grup 5	8	SWL öncesi tadalafil tedavisi, swl sonrası 3. gün nefrektomi	14 kv güç altında 1500 şok	1 mg/kg dozunda orogastrik lavaj ile

Tüm sıçanların her iki taraf perirenal yağ dokusuna 1'er adet hemoklip yerleştirildi. SWL yerleştirilen hemokliplerin merkezi odaklanarak uygulandı.

Anestezi ve çevre koşullarının etkileri ile oluşabilecek değişikliklerin, araştırmanın doğruluğunu ve güvenilirliğini etkilememesi amacı ile sham grubu oluşturuldu. Sham grubundaki sekiz sıçana laparotomi yapıldıktan sonra her iki taraf perirenal yağ dokusuna hemoklip yerleştirildi. İşlem sonrası katlar anatomisine uygun kapatıldı. Yirmidört saat sonra her iki böbreğe nefrektomi uygulanarak, toplam 16 böbrek dokusu, sham grubu olarak histopatolojik incelemeye alındı.

Anestezi ve Deneysel İşlemler

Çalışma grubundaki sıçanlara anestezi altında laparotomi uygulanarak her iki perirenal yağ dokusuna klip konuldu. Ardından anestezi altında SWL uygulandı.

Sıçanlara yapılan işlemler sırasında, anestezi sağlamak için toplam 1 mg/kg'dan ketamin HCl intramusküler (IM) yolla verildi. 10 dakika sonra daha derin anestezi sağlamak amacı ile 10mg/kg'dan ksilazin HCl IM yolla uygulandı. Sıçanlar, operasyon öncesi 6 saat aç bırakıldı. %5'lik kokospropilen-diamin-guanidin diasetat, fenoksipropanol, benzalkonyum klorür içeren solüsyon kullanılarak, operasyon için gerekli cerrahi aletler en az 30 dakika süre ile dezenfekte edildi. Dezenfeksiyon solüsyonundan çıkarılan cerrahi aletler, distile steril su ile yıkandı. Bu işlemler yapılırken cerraha steril olmayan ikinci bir kişi yardım etti. Yukarıda tarif edildiği şekilde uygulanan anestezi sonrası, sıçanların karın bölgelerindeki tüyleri traş edildi.

%10'luk Polivinil pirolidon iyot ile bölge temizliği yapıldıktan sonra, steril şartlar altında gerekli örtüm ve arıtım işlemleri yapıldı (Şekil-3).



Şekil-3: Laparotomi öncesi steril örtülmüş sıçan.

15 numara bistüri ile batin orta hat median insizyon yapılarak, cilt ve kas dokuları geçildi (Şekil-4).



Şekil-4: Laparotomi insizyonu.

Periton açılarak batına ulaşıldı. Steril serbest gazlı bez kullanılarak,barsaklar medialize edildi ve sol böbreğe ulaşıldı.Perirenal yağ dokusuna 1 adet klip konuldu.Aynı işlem sağ böbregede uygulandı (Şekil-5).



Şekil-5: Perirenal yağ dokusuna hemoklip konulması.

Daha sonra, kas dokusu ve cilt devamlı suture ile ayrı ayrı kapatıldı. %10'luk Polivinil piroolidon iyot ile cilt bakımı yapıldıktan sonra, yara yeri steril spanç ile kapatılarak hipofiks ile tespitlendi (Şekil-6).

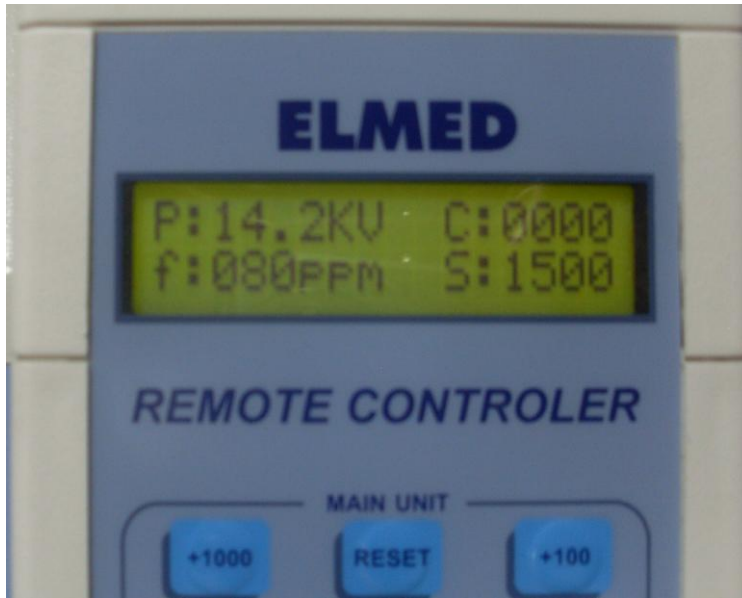


Şekil-6: Batın kapatıldıktan sonra pansuman yapılmış sıçan.

Postoperatif ağrıyı azaltmak amacı ile diclofenac sodium 3mg/kg'dan IM yolla verildi. Postoperatif 1. ve 2. günlerde, %10'luk polivinil piroolidon iyot ile sıçanların yara yeri pansumanları yapıldı. Sıçanların uygun sıcaklık ve beslenme şartlarında bakımları yapıldı. Çalışma grubu sıçanları SWL uygulanacak ve öncesinde tadafil verilerek SWL uygulanacaklar olmak

üzere 2 ana gruba ayrıldı. Tadalafil verilecek gruba laparotomi işlemi öncesinde 1ml olacak şekilde suda çözülmüş Tadalafil 1mg /kg dozunda oragastrik lavaj ile verildi

Laparotomi işleminden 24 saat sonra Uygun pozisyon verilerek Multimed Classic, 2006, Ankara, Türkiye SWL cihazında (Şekil-7) 1500 şok ve 14 kV güç ile anestezi altındaki sıçanların her iki böbreğine SWL yapıldı. İşlem sırasında, sıçanların acı çekmemesi için yeterli anestezi desteği sağlandı.



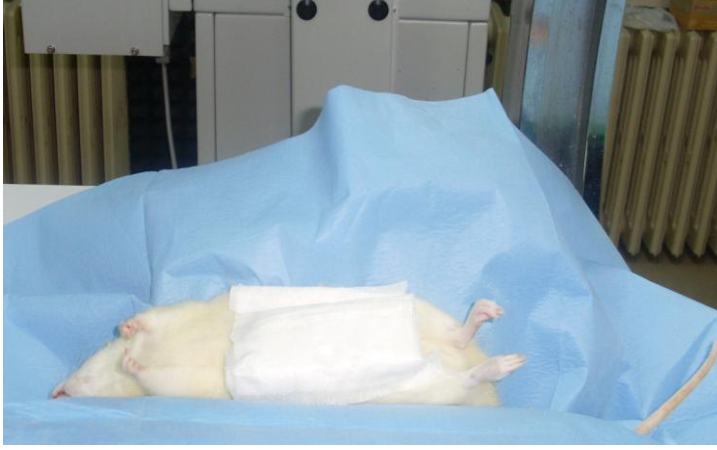
Şekil-7: SWL cihazı (1500 şok, 14 kV).

Üçüncü gün SWL uygulanan 8 sıçana (Grup 2) ve öncesinde tadalafil verdiğimiz 8 sıçana (grup 3) anestezi altında eski insizyon yerinden, laparotomi yapılarak, her iki böbreğe nefrektomi uygulandı.

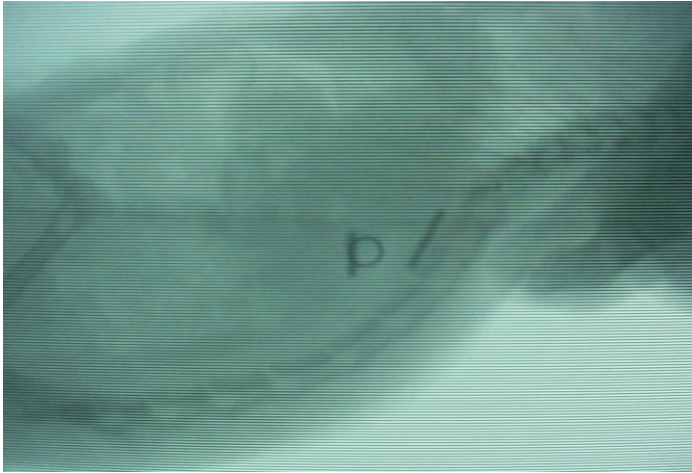
Bütün cerrahi işlemler, aynı kişi tarafından gerçekleştirildi. 7. gün SWL uygulanan 8 (grup 4) ve öncesinde tadalafil verilen 8 (Grup 5) sıçana anestezi altında laparotomi yapılarak, her iki böbreğe nefrektomi uygulandı. Böbrek dokuları alındıktan hemen sonra %10'luk formaldehit çözeltisi içeren kaplara konularak, histopatolojik inceleme için patoloji bölümüne gönderildi.

SWL Uygulaması

SWL cihazında sıçanlara uygun pozisyon verildi.(Şekil-8). Skopi cihazında, böbrek etrafı yağ dokusuna konulan hemoklibin merkezinin böbrek parankimini işaret ettiği düşünülerek odaklama yapıldı (Şekil-9).



Şekil-8: SWL cihazında sıçanlara verilen uygun pozisyon.



Şekil-9: Skopi cihazında böbrek etrafındaki hemoklibin odaklanması.

1500 şok ve 14 kV güç uygulanırken, belirli aralıklarda odağın değişip değişmediği kontrol edildi. Sıçanlar , anestezi altında oldukları için genelde odağın değişmediği gözlemlendi. Sonuç olarak, böbrek dokusunu hedef alan 1500 şok ve 14 kV güç ile SWL uygulanmış oldu. Her 1500 şok sonrası SWL elektrodu yenisiyle değiştirildi.

Histopatolojik İnceleme

Sıçanlara ait nefrektomi spesimenleri, makroskopik olarak değerlendirilip her bir böbrekte olan makroskopik değişiklikler not edildi. Böbrekler sagittal olarak açılıp korteks, medulla ve kalikslerin durumu değerlendirilip, boylu boyunca bir kesit alındı. Doku örnekleri bir gece tamponlu % 10'luk formaldehit ile tespit edildi. Rutin takibe alınan dokulardan hazırlanan kesitler, hematoksilen-eozin ile boyanarak incelendi

Kesitlerin mikroskopik incelenmesinde, proksimal tübüllerde görülen değişikliklere 0 dan 3 e kadar skor verildi.

0: Normal histoloji.

1: Kesitte görülen proksimal tübül hücrelerinin 1/3'ünden azında, tübül epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı ve hücrelerde dökülmenin görülmesi.

2: Değişikliklerin tübüllerin 1/3'ünden fazla 2/3'ünden azında görülmesi.

3: Değişikliklerin tübüllerin 2/3'ünden fazlasında görülmesi (71).

Her bir grup için toplam skor bulundu. Kesitlerde, ayrıca tübüllerde dilatasyon, konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis olup olmadığı kaydedildi. Gruplar arası toplam skorlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

İmmünohistokimyasal boyama: Poly-L-lisinli lamlara alınan kesitlere, hücre proliferasyonunu değerlendirmek için immünohistokimyasal boyama şu şekilde uygulandı. Kesitler, deparafinizasyon ve dehidratasyon aşamasından geçirildi. "Citrat buffer" (ph 6.0) içerisinde, mikrodalga fırında 90 watt güçte 2 kez 10'ar dakika kaynatıldı. Tris buffer ile yıkandı. Endojen peroksit aktivitesini gidermek için, %1'lik H₂O₂ ile 5 dakika inkübe edildi ve tris buffer ile yıkandı. Hücre proliferasyonunu değerlendirmek için HSP-70 antikoru (1:200 dilüsyon, Neomarkers, USA) ile 30 dakika inkübe edildi. Tris buffer ile yıkandı. Daha sonra biotinlenmiş "horseradish peroksidaz" (Labvision, USA) solüsyonunda 10 dakika inkübe edildi. Tris buffer ile yıkandı. Kromojen olarak 3-amino-9-ethylcarbazole solüsyonunda, boyanma

yoğunluğu kontrol edilerek 5-15 dakika bekletildi ve tekrar distile sudan geçirildi. Zıt boyama olarak Mayers hematoksilen (10 dakika) kullanıldı. Son olarak preparatlar distile suda yıkandı ve kurutularak montajlandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında incelendi.

İmmünohistokimyasal değerlendirme: Öncelikle her bir kesitte, HSP-70 antikoru ile pozitif boyanan alanlar (böbrekte pozitif boyanan hücreler ve yapılar) ve bu alanlarda boyanmanın özelliği (nükleer, sitoplazmik, membranöz) değerlendirildi. Bunun sonucunda, her bir glomerülde %5'in üzerinde kapiller ve mezengial sitoplazmik boyanma olması pozitif olarak kabul edildi. Her bir böbrek kesitinde, 20 glomerül sayılarak pozitif glomerül sayısı kaydedildi ve her bir grup için pozitif glomerül ortalaması bulundu. Boyanmanın yoğunluğu ve yaygınlığı temel alınarak, kortikal toplayıcı kanallardaki nükleer boyanma ve medüller toplayıcı kanallardaki nükleer ve sitoplazmik boyanma semi-kantitatif olarak; [-] 0 - %5'in altında; [+] 1- %5-%50 boyanma; [++] 2- %50'nin üzerinde olacak şekilde derecelendirildi.

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS v.12 (Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Parametreler ve arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı. p değerinin <0.05 olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

BULGULAR

Makroskopik Bulgular (Tablo- 2 ve Tablo- 3)

Tablo-2: Makroskopik peteşi bulgularının deney gruplarına göre dağılımı.

	Makroskopik Peteşi Yok	Makroskopik Peteşi Var	Total
Grup 1	16	0	16
Grup 2	0	16	16
Grup 3	10	6	16
Grup 4	2	14	16
Grup 5	14	2	16
Total	42	38	80

Makroskopik peteşi görünümünün varlığı gruplara göre değerlendirildiğinde grup 1 ile grup 2 ve grup 1 ile grup 4 arasında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Tablo 3'te grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmalarını görmektesiniz.

Tablo-3: Nefrektomi sonrasında böbreklerdeki makroskopik peteşi varlığının, grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri).

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	<0.001	0.007	<0.001	0.144
Grup 2		<0.001	0.144	<0.001
Grup 3			0.003	0.102
Grup 4				<0.001

Işık Mikroskopu Bulguları

Proksimal Tübülüs Bulguları (Tablo-4 ve 5)

Tablo-4: Proksimal tübülüs hücrelerindeki değişikliklerin gruplara dağılımı (Hiç değişiklik olmayan (0) ve 1/3 den az değişiklik olanlar (1) bir grup, 1/3den fazla (2) ve 2/3 den fazla (3) değişiklik görülenler ise bir grupta birleştirilerek istatistiksel değerlendirme yapılmıştır)

	IM Proksimal Tubul Hiç- Az	IM Proksimal Tubul Orta- Şiddetli	Total
Grup 1	16	0	16
Grup 2	2	16	16
Grup 3	4	6	16
Grup 4	14	14	16
Grup 5	14	2	16
Total	50	38	80

Gruplara göre ışık mikroskopisi altında proksimal tubulus hücrelerindeki değişikliklerin dağılımına bakıldığında, karşılaştırmada grup 1 ile 5, grup 1 ile 4, grup 2 ile 3, grup 4 ile 5 dışında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Tablo-5'te grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmaları görmektesiniz.

Tablo-5: Proksimal tübülüs hücrelerinde görülen değişikliklerin, grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri).

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	<0.001	<0.001	0.144	1.000
Grup 2		0.365	<0.001	<0.001
Grup 3			<0.001	<0.001
Grup 4				0.144

Peritubuler Alanda Fibrozis (Tablo- 6 ve 7)

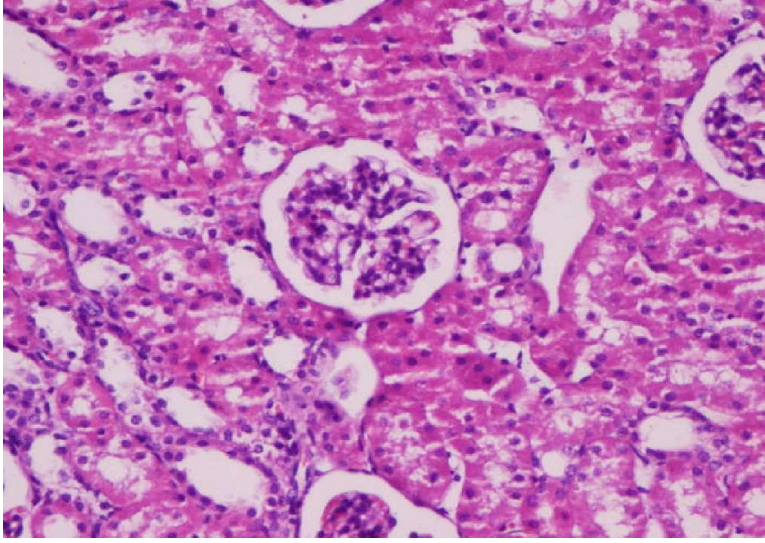
Tablo-6: Peritubuler alandaki değişikliklerin gruplara dağılımını (Hiç değişiklik olmayan (0) ve 1/3 den az değişiklik olanlar (1) bir grup, 1/3den fazla (2) ve 2/3 den fazla(3) değişiklik görülenler ise bir grupta birleştirilerek istatistiksel değerlendirme yapılmıştır.)

	IM Peritubuler Fibrozis Hiç- Az	IM Peritubuler Fibrozis Orta- Şiddetli	Total
Grup 1	16	0	16
Grup 2	2	14	16
Grup 3	4	12	16
Grup 4	14	2	16
Grup 5	16	0	16
Total	52	28	80

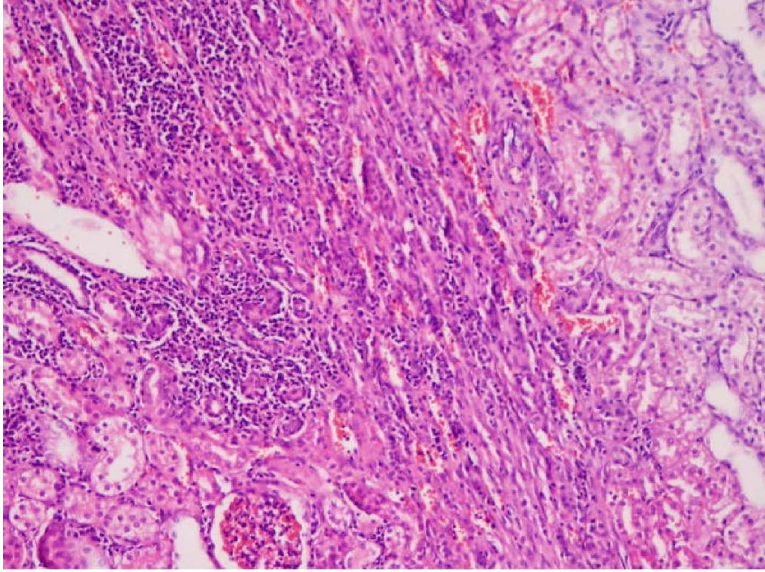
Gruplara göre ışık mikroskopisi altında peritubuler alanda fibrozis varlığının dağılımına bakıldığında, karşılaştırmada Grup 1 ile 5, grup 1 ile 4, grup 2 ile 3, grup 4 ile 5 dışında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır. Tablo-7’de grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmaları görmektesiniz (Şekil-10 ve 11).

Tablo-7: Peritubuler alandaki değişikliklerin, grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri)

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	<0.001	<0.001	0.144	1.000
Grup 2		0.365	<0.001	<0.001
Grup 3			<0.001	<0.001
Grup 4				0.144



Şekil-10: Kontrol grubuna(grup 1) ait böbrek histolojik kesiti. Glomerüller ve tubuller normal görünümde (H&E, x200).



Şekil-11: SWL uygulanmış ve 3. gün nefrektomi yapılmış böbrek dokusunda (grup 2) peritubuler fibrozis görünümü (H&E, x200).

Glomerüllerin Değerlendirilmesi(Tablo- 8 ve 9)

Tablo-8: Glomerüllerdeki değişikliklerin gruplara dağılımı (Hiç değişiklik olmayan (0) ve 1/3 den az değişiklik olanlar (1) bir grup,1/3den fazla (2) ve 2/3 den fazla(3) değişiklik görülenler ise bir grupta birleştirilerek istatistiksel değerlendirme yapılmıştır).

	IM Glomerül Hiç- Az	IM Glomerül Orta- Şiddetli	Total
Grup 1	14	2	16
Grup 2	12	4	16
Grup 3	14	2	16
Grup 4	10	6	16
Grup 5	14	2	16
Total	64	16	80

Gruplara göre ışık mikroskopisi altında glomerüldeki değişikliklerin dağılımına bakıldığında , karşılaştırmada gruplar arası istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır. Tablo-9'da grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmaları görmektesiniz

Tablo-9: Glomerüllerdeki değişikliklerin, grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri).

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	0.365	1.000	0.102	1.000
Grup 2		0.365	0.446	0.365
Grup 3			0.102	1.000
Grup 4				0.102

HSP-70 Bulguları

Kortikal Kolektör Tubülüslerde İmmünohistokimyasal HSP-70 Boyanma Bulguları (Tablo- 10 ve 11)

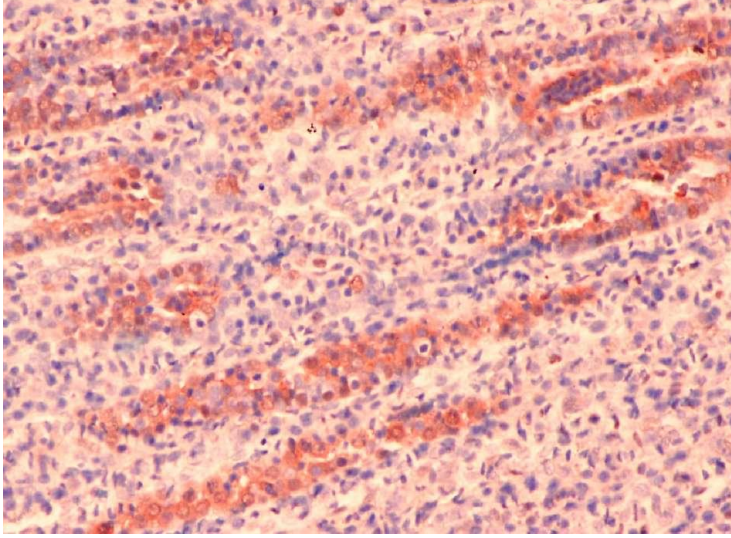
Tablo-10: Kortikal kolektör tübülüslerdeki immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının gruplara göre dağılımı (% 5 in altında boyanma(0) bir grup, %5-50 boyanma (1) ile %50 den fazla boyanma (2) bir grup olarak alınmıştır.

	HSP Kortikal Tubul Hiç- Az	HSP Kortikal Tubul Orta- Şiddetli	Total
Grup 1	10	6	16
Grup 2	0	16	16
Grup 3	0	16	16
Grup 4	10	6	16
Grup 5	12	4	16
Total	32	48	80

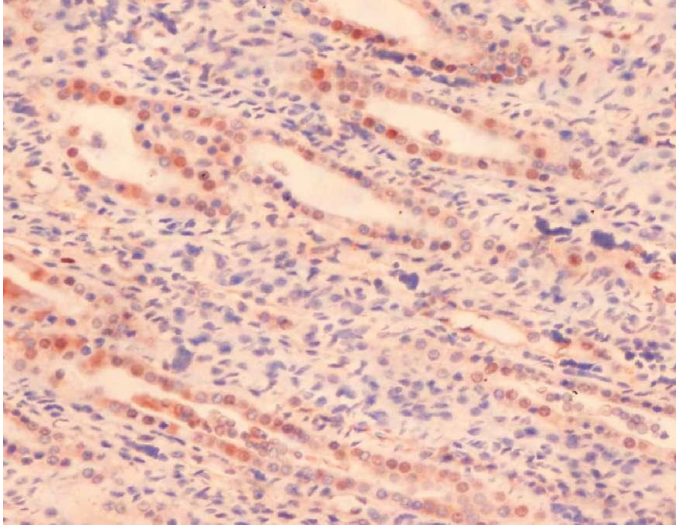
Gruplara göre kortikal kolektör tübülüslerdeki hsp 70 boyanma dağılımına bakıldığında , karşılaştırmada grup 1 ile 4, grup 1 ile 5, grup 2 ile 3, grup 4 ile 5 dışında istatistiksel anlamlı farklılık olduğu aptanmıştır. Tablo-11’de grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmaları görmektesiniz (Şekil - 12 ve 13).

Tablo-11: Kortikal kolektör tübülüslerdeki hsp 70 boyanması durumunun, grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri).

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	<0.001	<0.001	1.000	0.446
Grup 2		1.000	<0.001	<0.001
Grup 3			<0.001	<0.001
Grup 4				0.446



Şekil-12: SWL uygulanmış ve 3. gün nefrektomi yapılmış (grup 2) böbrek kortikal kollektör tubullerinde HSP-70 antikoru ile immunohistokimyasal olarak [++] 2 sitoplazmik ve nükleer boyanma (HSP-70, x200).



Şekil-13: SWL uygulanmış ve 7. gün nefrektomi yapılmış (grup 5) böbrek kortikal kollektör tubullerinde HSP-70 antikoru ile immunohistokimyasal olarak [++] 2 sitoplazmik ve nükleer boyanma (HSP-70, x200).

Proksimal Tubülüs Hücrelerinde İmmünohistokimyasal HSP-70

Boyanma Bulguları

Proksimal tübülüs hücrelerinde hiçbir grupta HSP-70 boyanması olmamıştır.

**Medüller Kolektör Tubülüslerde İmmünohistokimyasal HSP-70
Boyanma Bulguları(Tablo- 12 ve 13)**

Tablo-12: Medüller kolektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının gruplara göre dağılımı (%5'in altında boyanma (0=az) , %5-50 boyanma (1=orta) %50 den fazla boyanma (2=şiddetli) bir grup olarak alınmıştır.

	HSP Medüller kolektör tubul Az	HSP Medüller kolektör tubul Orta	HSP Medüller kolektör tubul Şiddetli	Total
Grup 1	12	4	0	16
Grup 2	0	2	14	16
Grup 3	0	4	12	16
Grup 4	8	8	0	16
Grup 5	12	4	0	16
Total	32	22	24	80

Gruplara göre medüller kolektör tübülüslerdeki hsp 70 boyanma dağılımına bakıldığında ,karşılaştırmada grup 1 ile 4, grup 1 ile 5, grup 2 ile 3, grup 4 ile 5 dışında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır. Tablo-13'te grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmaları görmektesiniz.

Tablo-13: Medüller kolektör tubuluslerdeki hsp 70 boyanması durumunun,grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	<0.001	<0.001	0.144	1.000
Grup 2		1.000	0.001	<0.001
Grup 3			0.001	<0.001
Grup 4				0.144

Glomerüllerde İmmunohistokimyasal HSP 70 Boyanma Bulguları(Tablo- 14 ve 15)

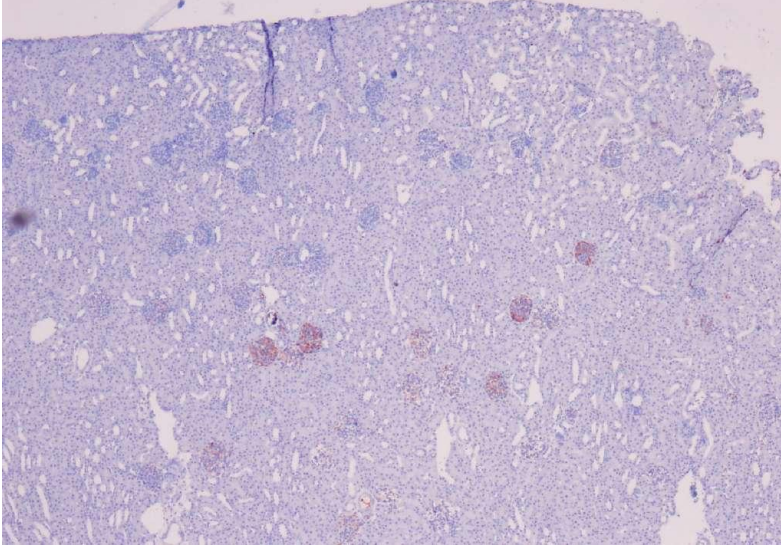
Tablo-14: Glomerüllerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının gruplara göre dağılımı (%5'in altında boyanma (0) bir grup, %5-50 boyanma (1) ile %50 den fazla boyanma (2) bir grup olarak alınmıştır.

	HSP Glomerül Hiç- Az	HSP Glomerül Orta- Şiddetli	Total
Grup 1	14	2	16
Grup 2	6	10	16
Grup 3	8	8	16
Grup 4	10	6	16
Grup 5	8	8	16
Total	46	34	80

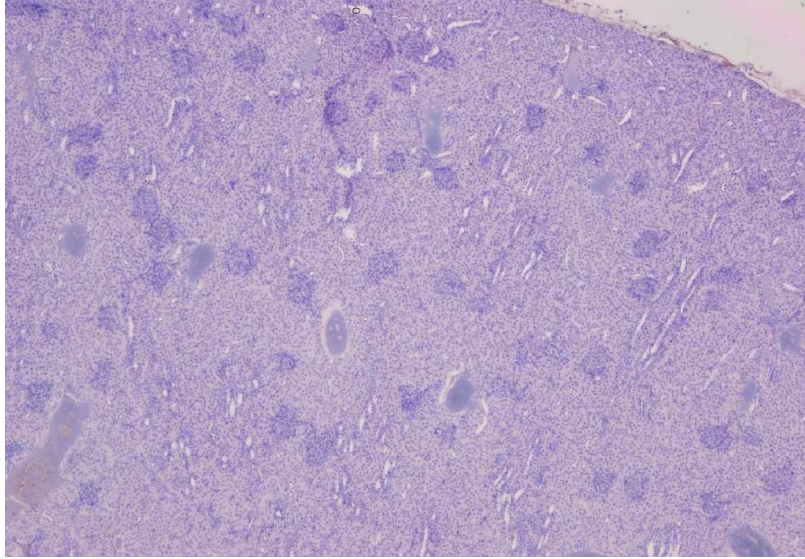
Gruplara göre glomerüllerdeki hsp 70 boyanma dağılımına bakıldığında ,karşılaştırmada grup 1 ile 2, grup 1 ile 3, grup 1 ile 5, istatistiksel anlamlı farklılık saptanmıştır. Tablo-15'te grupların birbirleriyle ikili olarak karşılaştırmaları görmektesiniz (Şekil-14 ve 15).

Tablo-15: Glomerüllerdeki hsp 70 boyanması durumunun, grupların ikili olarak birbirleriyle karşılaştırılması (p değerleri).

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Grup 1	0.003	0.022	0.102	0.022
Grup 2		0.476	0.157	0.476
Grup 3			0.476	1.000
Grup 4				0.476



Şekil-14: SWL uygulanan ve 3. gün nefrektomi yapılan (grup 2) böbrekte HSP-70 antikoruna ile kırmızı renkte pozitif boyanan glomerüller görülmektedir (HSP-70, x40).



Şekil-15: Tadalafil tedavisi alan, SWL uygulanan ve 7. gün nefrektomi yapılan (grup 5) böbrekte grubunda immunohistokimyasal olarak HSP-70 ile boyanmanın olmadığı böbrek kesiti (HSP-70, x40).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Üriner sistem taş hastalığı üriner enfeksiyonlar ile birlikte üroloji pratiğini en çok meşgul eden patolojiler olmaktadır. Tedavi yaklaşımlarında son otuz yıl öncesine kadar yoğun bir şekilde açık cerrahi uygulamaları yapılırken 1980'li yıllardan itibaren SWL'nin kullanıma girmesi ile taş hastalıklarının tedavisinde yeni bir çığır açılmıştır. SWL; yüksek başarı, düşük komplikasyon oranları, hastane yatışı gerektirmemesi, cerrahi komplikasyonlar olmaması, operasyon ve anestezi riski olan hastalar için güvenilir bir metod olması nedeniyle zaman içinde kullanım alanında yaygın yer edinmiştir. Son yıllarda SWL'nin böbrek ve çevre dokulara zararlanma oluşturup oluşturmadığı konusunda yoğun deneysel ve klinik çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen genel kanı, SWL'nin çok da masum olmadığı ve ultrastrüktürel düzeyde böbrek dokusunda hasarlanma oluşturduğu ve renal fizyoloji üzerine olumsuz etkilerinin olduğudur. Bununla birlikte SWL'e ait oluşan olumsuz faktörlerin uzun dönemde renal fonksiyonlar üzerindeki etkisi belirsizliğini korumaktadır (124, 125).

Üriner sistem taş hastalığının yüksek oranda nüks etmesi iş gücü ve maddi kayba yol açması, cerrahi yöntemlerin nüks hızını azaltmaması gibi sebeplerden dolayı daha az invaziv metodların araştırılması ve uygulanması üriner sistem taş hastalığı için önem kazanmıştır (126).

Günümüzde üriner sistem taş hastalığının tedavisi, gerek teknolojik gelişmeler sayesinde gerekse güncel cerrahi yaklaşımlar açısından altın çağını yaşamaktadır. Chaussy ve ark. (127) ilk olarak 21 hastada klinik sonuçlarını yayınladığı 1980 yılından itibaren SWL'nin tedavi seçeneğine eklenmesi bu gelişime hiç şüphesiz ivme kazandırmıştır.

SWL'nin yan etkileri cihazın özelliklerine, oluşan basınca, şok sayısına ve seans sayısına bağlı olarak artış gösterebilmektedir (10, 128-130). SWL'nin histolojik olarak saptanan nötrofil ve fibrin birikmesi, ayrıca odağın ortasında tam doku detrüksiyonu gibi etkileri yanında ultrastrüktürel olarak; glomerüler üriner boşlukta fibrin birikimi, ayaksı çıkıntılarda kayıp,

tübül hücrelerinde nekroz, sitoplazmik zarda kalınlaşma, mezenşiyal depositler, fagolizozomlar ve myelin benzeri yapıların oluşması ve mitokondrilerde hasarın göstergesi olan şişme, elektron-dens granül birikmesi tespit edilmiştir (130). Ayrıca lokal hematolar, potansiyel hipertansiyon riski ve böbrek fonksiyonu üzerine etkileri olmaktadır. Glomerüler filtrasyonda geçici bir azalma erişkin ve çocuklarda gösterilmiştir (124). Proksimal ve distal tübüler onarımın bir göstergesi olarak SWL sonrası, küçük moleküler proteinlerin (β_2 ve α_1 - mikroglobulin) ve enzimlerin artan salgılanmaları ve de Tamm-Horsfall proteini ekskresyonunda azalma tarif edilmiştir (124).

Karlsen (128) ve Beyni (12)'nin de bahsettiği diğer bir mekanizma, ödem ve albuminin kaçışıyla sonuçlanan vasküler geçirgenlikte artıştır. Mitokondri hasarıyla gösterilebilen hücre içi metabolizma disfonksiyonu, Beyni'nin de ifade ettiği proksimal tüp hücresinde protein emilim gücü ve distal tüp hücresinde glikoprotein sentez bozukluğu da diğer hasar süreçleridir. Ayrıca hematomsuz hematüriyi açıklayabilen tübüler sistem ve kapillerler arasındaki travmatik bağlantılardan da bahsedilmektedir (129). SWL sonrası meydana gelen, ancak uzun dönemdeki sonucu tam olarak bilinmeyen bulgulardan biri böbrekte meydana gelen skar formasyonudur. Bu lezyonun genellikle klinik öneme sahip bir fonksiyon bozukluğuna neden olmadığı söylene de, renal korteksten medullaya uzanan çizgisel hemorajinin lineer skara neden olması halinde klinik öneminin ne olacağı tam bilinmemektedir (128). Korteks ve komşu medüller bölgede gösterilebilen intertübüler skleroz ve hyalinozis, hemorajik ekstrevasiyonun fibrosktrisyel organizasyonuna bağlı olarak oluşabilmektedir. Bu fibrotik alanlar küçük olsa bile kalıcı lezyon özelliği taşımaktadır (130).

Ayrıca fokal trombus formasyonlarının fokal arteriyel intima fibrozisine yol açıp açmadıkları ve böylece uzun dönem renal fonksiyonu etkileyip etkilemediği de tam bilinmemektedir (118). Karlsen ve ark.'na (128) göre şok dalgası uygulanan böbreğin histopatolojik incelenmesinde olay yerinde diğer enflamatuvar olaylarda olduğu gibi nötrofil tespit edilmekte, dahası postiskemik renal hasarlanmada serbest oksijen radikallerinin (SOR)

potansiyel kaynağının nötrofiller olduğu ifade edilmiştir. SWL sonrasında elektron mikroskop ile gösterilebilen klasik bulgulara, serbest radikallerin de yol açabilecekleri gösterilmiştir. Normal metabolizma esnasında gelişen oksidasyon-redüksiyon olayları neticesinde oluşan SOR'leri biyolojik bir bozukluğa neden olmamasına karşılık bazı hücrel metabolik bozukluklar nedeniyle (iskemi, inflamasyon, radyasyon, hiperoksi vb.) çok daha büyük miktarlarda üretilmesi neticesinde membranlar, nükleik asitler, enzimler ve polisakkaritler üzerinde değişik derecelerde toksik etki yaparak çeşitli dokularda hasara yol açmaktadırlar (131, 132).

Suhr ve ark. (133) SWL ile oluşan perinükleer sisterna, hasarlanmış mitokondri ve intrasellüler vakuollerin serbest radikallere bağlı olarak oluştuğunu göstermişlerdir. SWL'nin böbrekte kortikal dolaşımı bozarak renin salınımına ve bunun doğal sonucu olarak hipertansiyona neden olabilecek kalıcı mikrovasküler değişimlere yol açabileceği gösterilmiştir.

Yokoyama ve ark.'nın (134) çalışmalarında 200 normotansif hastada SWL'den 1 yıl sonra %1.5 hastada yeni başlangıçlı hipertansiyon tespit edildiği gösterilmiştir. İki yıl sonra yapılan retrospektif yapılan takiplerde hastaların %8'inde hipertansiyonun devam ettiği saptanmıştır. Knapp ve ark. (135) ile Lingeman ve ark.'nın (136) çalışmasında ise 287 hastada SWL'den ortalama 40 ay sonra hastalarda %3.1 oranında yeni başlangıçlı hipertansiyon bildirilmiştir.

Şok dalgalarının biyolojik yapılar üzerinde oluşturduğu doku hasarı, bugüne kadar bilinen, fiziksel etkiler ve histolojik değişikliklerin ötesinde serbest radikal biyokimyası ile açıklanmaya çalışılmıştır. SWL'nin serbest radikal oluşturucu, antioksidanların ise bu maddeleri ortadan kaldırıcı etkisi klinik yansımaları ile birlikte ortaya konulmaya çalışılmış, bu hasarın önlenmesinde ya da oluşan hasarın geri döndürülmesinde bazı ilaçların etkisi gösterilmeye çalışılmıştır.

Yüksek enerjili şok dalgalarına bağlı böbrek hasarının değerlendirilmesi için sıçan modeli kullanılarak biyokimyasal ve histolojik parametreler üzerinden yapılan bir çalışmada, böbrek hasarının kalsiyum antagonisti verapamil kullanılarak azaltıldığı bildirilmiştir (137). Histolojik

bulgular, vasküler anatomiye paralel keskin sınırlı segmental tubüler hasardır. Verapamilin böbrek kan akımını arttırarak renal iskemiye azalttığı bilinmektedir. Bir diğer etki mekanizması da; verapamilin, yüksek enerjili şok dalgalarına bağlı hücresel hasarı meydana getiren SOR kaynaklı membran hasarına karşı tubülüs hücrelerini koruyucu etkisidir. Diğer bir kalsiyum kanal blokeri ajan olan nifedipinin de koruyucu etkisi klinik çalışmalarla ortaya konmuştur (138, 139). SWL uygulanan hastaların büyük kısmında böbrek hasarı orta derecede ve spontan düzeldiği için bu medikasyonun rutin kullanımı tartışmalıdır. İleri çalışmalar ile araştırılması gerekli bir konudur.

Bunun yanı sıra SWL'nin oluşturduğu renal hücre hasarı ve bu hasarı en aza indirmeye yönelik değişik antioksidan ajanlarla bir çok çalışmada yapılmıştır. Bu amaçla nifedipin ve bir antibiyotik olan fosfomisin yanı sıra SOR oluşumunu önleyici verapamil, allopurinol ve mannitol gibi maddeler de kullanılmıştır (12).

Fegan ve ark. (140), böbrekteki sıcak iskemik hasarı önlemede kullanılan bazı ilaçların, SWL'nin böbrekte oluşturduğu zararlı etkilerden koruyabilirliğini araştırmışlardır. Bu amaçla tavşanlara SWL öncesi verapamil, mannitol ve enalapril verilmiş ve elde edilen sonuçlarda renal hasarlanma da anlamlı olabilecek azalma gözlenmemiştir. Buna karşın allopurinol uygulaması ile subkapsüler fibrozis gelişiminin anlamlı şekilde azaldığını ortaya koymuşlardır.

Strohmaier ve ark. (141), SWL ile oluşan oksidatif strese, antioksidan bir ajan olan selenyumun koruyucu etkileri olduğunu rapor etmiştir. Aynı grubun diğer çalışmasında ise; bir kalsiyum kanal blokeri olan nifedipinin SWL ile oluşan tubüler hasar üzerine etkisini araştırmışlar ve nifedipinin verapamil gibi koruyucu etkisinin olduğunu, altta yatan mekanizmanın henüz net olmadığını ve araştırmaların devam etmesi gerektiğini bildirmişlerdir (139).

Şimdiye kadar ileri sürülmüş mekanizmalardan biri de, SWL sonrası böbrek kan akımının azalması ile SWL'ye bağlı oluşan vasküler hasar ve tromboz zemininde oluşan hipoksi ve iske mi yoluyla hasar oluşturduğu görüşüdür (140). Renkli akım doppler ultrasonografı ile yapılan çalışmalar ile,

SWL'den 2 saat sonra arkuat arterlerde belirgin derecede artmış vasküler rezistif indeksi belirlenmiştir (141).

İskeminin dokuya verdiği hasarın geri dönüşebilmesi için, reoksijenasyon gereklidir fakat reperfüzyonla iskemik dokudaki hasara ek bir hasar eşlik etmekte ve bu hasarın tümüne iskemi – reperfüzyon hasarı denilmektedir (54, 63). Yapılan çalışmalarda, böbreğin iskemik hasarında serbest radikallerin rol oynadığı ve bu hasarın farmakolojik ajanlarla geri çevirebileceği gösterilmiştir (13, 41). Serbest radikaller, yüksek oksijen kapasitelerinden dolayı şiddetli doku hasarına yol açabilirler. Hücre membranında lipid peroksidasyonu, protein ve nükleik asit modifikasyonu ve hücre kalsiyum hemostazında değişiklik yapar (64).

İskemik dokunun reperfüze edilmesi, doku canlılığı için zorunlu olsa da reperfüzyonun ek bir hasara yol açması kaçınılmazdır (48, 57). Serbest radikaller; lipid peroksidasyonu, protein veya nükleik asit moleküllerin çapraz bağlarının degradasyonuna yol açarak hücreye birçok zarar verirler (40).

İskemik durumlarda, dokuda hücre fonksiyonlarının yürütülmesi ve membran bütünlüğünün korunması için gerekli olan mitokondrial ATP üretiminde zamanla bir azalma ortaya çıkmaktadır (54). Tadalafilin enerji kaynaklarının birisi olan yağ asitlerinin kullanıma girmesini sağlayarak, mitokondrial ATP üretiminde bir artışa neden olup membran fonksiyonlarının korunmasıyla lipid peroksidasyonunu önlediğini düşünmekteyiz. Lipid peroksidasyonundan serbest radikallerin sorumlu olduğu düşünülürse Tadalafil bu etkiyi direkt serbest radikal giderici fonksiyon ile de sağlamış olabilir. Süperoksit dismutaz'ın renal hasarı önlemedeki yararlı etkileri bu ajanın serbest radikal giderme ve nötrofil migrasyonunu önleme yetenekleri ile açıklanmaktadır (37).

İskemik dokuda ATP üretimindeki azalmanın hücre membranında ATP bağımlı iyon taşıma sistemlerini etkileyeceği açıktır. Her ne kadar Na taşınmasının çoğu pasif difüzyonla elektrokimyasal gradient sağlıyor olsa da enerji gereksinimini gösteren diğer iyon, taşıma sistemlerindeki bozuklukların hücre elektrokimyasal gradientini değiştirip, Na hemostazını etkileyecektir. Tadalafil, hücre ATP seviyesini artırarak enerji bağımlı çalışan iyon

kanallarının fonksiyonlarını koruyup, hücre iyon hemostazında bozulmayı önleyerek ödem oluşumunu azalttığını düşünmekteyiz. Hücre iyon hemostazının düzenli yürümesi için membran bütünlüğü gerekmektedir. Serbest radikaller, proteinleri de olumsuz etkilendiği bilindiğinden (50), hücre membranında bulunan taşıyıcı protein kanallarının da iskemi-reperfüzyondan etkilenebileceği ve hücre iyon hemostazının bozulabileceği düşünülür. Bu durumda, Tadalafilin direkt serbest radikal giderici etkisinin bu hasarın ortadan kaldırılmasında rol aldığı düşünülebilir.

Literatürde birçok deneysel çalışmada hayvanlar üzerinde SWL nin etkilerini gösteren çalışmalar yapılmıştır (142-146). Bizim çalışmamızda da 40 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan kullanılmıştır.

Çalışmamızda SWL sonrası böbrekte oluşabilecek değişikliklerin histopatolojik olarak ve HSP-70 ekspresyonunu kullanılarak değerlendirilmesi ve fosfodiesteraz tip 5 inhibitörünün (Tadalafil) hasarı önlemedeki rolünü incelemeyi amaçladık.

Bizim çalışmamızda SWL 1500 şok 14 kV güçte uygulandı. SWL uygulanırken böbrekte oluşan hasarın şok dalga sayısı ile bağlantısı olduğu ilk kez köpeklerde tanımlanmıştır. Şok sayısı 500'den 3000'e çıktığında subkapsüler hematom sayısında artma ve intraparakimal kanamaların büyüklüğünde ve sayısında artma olduğu gösterilmiştir (104). Diğer araştırmacılar sıçan, tavşan, köpek ve domuzlarda benzer çalışmalar gerçekleştirmişlerdir (147, 148). Bir başka çalışmada şok sayısı 500'den 5000'e çıktığında fibrotik skarların sayı ve büyüklüğünde artma tespit edilmiştir (147). 500 şok uygulanan yedi sıçanın birinde skar oluşumu görülürken 5000 şok uygulanan dört sıçanın dördünde de skar oluşumu saptanmıştır (147). Bu bulguları destekleyen bir başka çalışma Dornier HM3 litotriptör kullanılarak 6-7 haftalık domuzlarda yapılmıştır. Bir gruba 2000 şok 24 kV güçte ikinci gruba ise 8000 şok 24 kV güçte SWL uygulanmış ve ışık mikroskopu bulguları incelenmiştir. Sekiz bin şok uygulanan grupta venlerde ve arterlerde papillar uçlara kadar uzanan hasar tespit edilmiştir. Bu hasarın renal volümün $\%13.8 \pm \%1.4$ 'üne karşılık geldiği gösterilmiştir (148). İkinin şok uygulanan grupta ise hasar böbrek volümünün $\%6.1 \pm \%1.7$ 'sinde

görülmüştür. Bin şok 24 kV güç ile uygulandığında, hasar böbrek volumünün %0.2±%0.1'inde saptanmıştır. Düşük doz şok dalgası verilenlerde renal hasarın anlamlı derecede az olduğu bulunmuştur (148). Bir başka çalışmada domuz böbreklerinde 1000 şok dalgası ile 2000 şok dalgası karşılaştırılmıştır. İki bin şok dalgası 24 kV güçle uygulanmış ve toplam böbrek volümünün %6'sında hasar tespit edilmiştir. Bin şok dalgası 24 kV güçle uygulandığında ise hasar büyüklüğünün %95 azaldığı izlenmiştir. Sonuç olarak 2000 şok uygulanan bir tedavide böbrekte asıl hasarın 1000 şoktan sonra olduğu görülmüştür (149). Biz de çalışmamızda 1500 şok dalgasını 14 kV güç altında uygulamayı tercih ettik. Çünkü seçilen şok dalga sayısı hem klinik uygulamalarda kullanılan şok dalga sayısına yakın hem de daha önceki deneysel çalışmalarda gösterilmiş olduğu gibi, böbrek için güvenli sınırlarda olan bir değerdir.

Bizim çalışmamızda SWL'den sonra 3. ve 7. günlerde doku örnekleri incelendi. SWL'ye sekonder oluşan travmatik lezyonlar insan böbreği, köpek, sıçan, tavşan ve domuzlarda araştırılmıştır (103, 150, 151). Bu çalışmaların çoğunda kan damarlarında gelişen hasar incelenmiştir. Primer hasarın ilk planda damarsal dokuda olduğu düşünülmüştür. Akut vasküler hasar olarak da intraparakimal hemoraji ve ödem tespit edilmiştir (150). Vasküler hasarla birlikte nefronlarda ve toplayıcı kanallarda da hasar olduğu gösterilmiştir (103). Birçok çalışmada SWL'nin zararlı etkileri araştırılırken SWL'nin direk etkisine bağlı zararlı etkiler yanında doku incelemeleri saatler ve günler sonra yapıldığı için hipoksiye sekonder zararlı etkiler de çalışılmıştır. Domuzlarda yapılan bir çalışmada 1000 şok 24 kV güç ile uygulanmıştır. Sadece SWL'nin direk olarak oluşturduğu hasarı tespit etmek için, doku örnekleri SWL uygulanır uygulanmaz alınmıştır (151). Yaptığımız çalışmada SWL'nin oluşturduğu histopatolojik etkilerin yanısıra, stres durumlarında böbrek dokusunda artan HSP-70 immünoreaktivitesinin incelenmesi ve tadalafilin hasarı önlemedeki rolü amaçlanmıştır. Literatürde SWL sonrası HSP-70 pozitifliğinin incelendiği bir çalışmada, 1000-1500-2000 şok 14 kV güçte değişik guruptaki tavşanlara SWL uygulanmış ve SWL'den 24 saat sonra ve 7 gün sonra böbrek dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Binbeşyüz-

ikibin şok uygulanan gruplarda 1000 şok uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre SWL'den 24 saat sonra anlamlı derecede HSP-70 pozitifliği tespit edilmiştir. SWL'den yedi gün sonra alınan böbrek dokularında ise 1500-2000 şok uygulanan gruplarda bile sınırlı düzeyde HSP-70 pozitifliği tespit edilmiştir (121). Bizim çalışmamızda da benzer olarak 1500 şok SWL, 14 kV güç ile uygulanmıştır. Stres durumlarında oluşan HSP-70 pozitifliğini gösterebilmek için de doku incelemesi SWL'den sonra 3. ve 7. gün yapılmıştır.

Sıçanlarda oluşturulan SWL modelinde SWL sonrasında böbreklerde peteşi ve ekimoz varlığı dikkati çekmiştir.(152). Sıçanlarda yaptığımız bu çalışmada da makroskopik peteşi görünümünün varlığına bakıldığında 3.günde bulguların daha belirgin olduğu (grup 1 ile grup 2 ve grup 1 ile grup 4), 7. günde ise bulguların tadafil verilen grupta önemli ölçüde kaybolduğu gözlenmektedir.Bu durum yapılan deneysel SWL çalışmasında sıçan böbreğinin skopi altında doğru odaklandığının bir göstergesidir.Aynı zamanda 7.günde bulguların özellikle tadafil verilen grupta azalması anlamlıdır.(grup 4 ile grup 5 karşılaştırmasında $p < 0.001$). SWL sonrası böbrekteki makroskopik değişiklikler açısından daha önceki çalışmalara paralel bir sonuç elde edilmiştir (152).

Kaude ve ark. (153) ise ayrıntılı değerlendirmeye olanak sağlayan manyetik rezonans görüntüleme kullanarak yaptıkları çalışmalarında; SWL sonrası olguların %63'ünde subkapsüler hemoraji, kortikomedullar demarkasyon hattı kaybı, perirenal sıvı koleksiyonu, mevcut renal kistlerde hemoraji gibi morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler tespit ettiklerini belirtmişlerdi.

Rubin ve ark. (154), bilgisayarlı tomografi ile SWL sonrası Gerota fasyasında kalınlaşma, perinefrik yumuşak dokuda septal yapılarda artış tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Grantham ve ark. (155), tedaviden 24 saat sonra çekilen intravenöz pyelografi filmlerinde %23 oranında böbrek boyutlarında büyüme olduğunu saptamışlardır.

SWL'nin proksimal tübülüs üzerine olan etkileri incelendiğinde, domuzlarda yapılan bir çalışmada 1000 şok 24 kV saat uygulanmış ve doku rnekleri SWL'den hemen sonra alınmıştır. Işık mikroskopu ve elektron mikroskopu ile incelendiğinde proksimal tübülüs bazal membranında kırılmalar ve bazal membrana tutunmuş nekrotik hücreler görülmüştür. Bazal membrana komşu bazı hücrelerde şişme tespit edilmiştir. Tblslerin lümeninde ise kırmızı kan hücreleri saptanmıştır. Bazı hücrelerde mitokondride şişme izlenmiştir. Ancak bu bulgular elektron mikroskopu ile elde edilmiştir (156).

Yaptığımız çalışmada ise kesitlerin mikroskopik olarak incelenmesinde; proksimal tübülüs epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı ve hücrelerde dökülme görüldü. Bu değişiklikler skorlandı ve gruplar arasında karşılaştırma yapıldı. Tadalafil verilen gruplar ile verilmeyen gruplar arasında, proksimal tübülüs hücrelerinde görülen değişiklikler açısından anlamlı farklılık saptanmıştır (grup 2 ile grup 4, grup 3 ile grup 5). Yani SWL ncesi tadalafil kullanımı proksimal tubulslerdeki hasarı azaltmaktadır. Tadalafil kullanılan veya kullanılmayan grupların kendi arasında 3.veya 7. gün olarak bakıldığında proksimal tubuls hasarı açısından anlamlı fark saptanmamıştır.(grup 2 ile 3 , grup 4 ile 5)

Son çalışmalarda ilerleyen renal hasarın, glomerüllerde ve tübülointerstisyel alanlardaki mononükleer hücre infiltrasyonu ile bağlantısı olduğu gösterilmiştir.(157) Makrofajlar glomerllere ciddi zarar veren bazı ürünler açığa çıkarabilir [Proteinleri yıkan enzimler, reaktif oksijen ürünleri, koagulasyon faktörleri...gibi] (158). SWL sonrası oluşan fibrozisi inceleyen çalışmalardan biri tavşanlarda yapılmış olup, birinci gruba 1000 şok, ikinci gruba 7 gün ara ile 2000 şok, üçüncü gruba ise bir seansta 2000 şok SWL uygulanmıştır (159). Bir ay sonra yapılan histopatolojik incelemede periglomerüler ve peritübüler alanda fibrozis tespit edilmiştir (160). Tavşanlarda yapılan başka bir çalışmada ise 3000 şok 18 kV güçte SWL uygulanmıştır. Yedinci gün yapılan incelemede subkapsüler hematom, kapsüler fibrozis, tübüler hemoraji ve tübülüslerde dilatasyon tespit edilmiştir.

Sekiz hafta sonra yapılan incelemede ise hemorajiye ait bulgular, interstisyel fibrozis, tübül kaybı ve glomerüllerde toplanma izlenmiştir (161).

Bizim çalışmamızda kontrol grubunda (grup 1) peritübüler alanda fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu görülmemiştir. SWL uygulanan gruplarda peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis ve konjesyon olduğu gözlenmiştir. Tadalafil verilen gruplar ile verilmeyen gruplar arasında, peritubuler alanda fibrozis açısından anlamlı farklılık saptanmıştır.(grup 2 ile 4, grup 3 ile 5) .Yani SWL öncesi tadalafil kullanımı peritubuler alandaki fibrozis oluşumunu azaltmaktadır. Tadalafil kullanılan veya kullanılmayan grupların kendi arasında 3.veya 7. gün olarak bakıldığında peritubuler alan değişiklikleri açısından anlamlı fark saptanmamıştır (grup 2 ile 3 , grup 4 ile 5).

Sonuç olarak SWL uygulanmasının fibrozis ve mononükleer hücre infiltrasyonu açısından bir farklılık oluşturduğu ve Tadalafilin oluşan fibrozisi önlemede rolü olduğu kanısındayız.

Yaptığımız çalışmada glomerüllerde ışık mikroskopi bulguları açısından gruplar arasında bir değişiklik saptanmamıştır. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada SWL'den üç ay sonra böbrek dokusu mikroskopik olarak incelendiğinde glomerüllerde toplanma ve avasküler alanlar tespit edilmiştir (162). Yedi haftalık tavşanlarda yapılan diğer bir çalışmada SWL, değişik gruplara, 500-3000 şok arası 26 kV güç ile uygulanmış ve SWL'den 9 hafta sonra böbrekler histopatolojik olarak incelendiğinde interstisyel fibrozis, tübüler atrofi, glomerüler hasar ve perivasküler fibrozis görülmüştür (163). Domuzlarda yapılan bir çalışmada 7 haftalık domuzlara, 1000 şok 24 kV güç ile uygulanmış ve SWL'den hemen sonra böbrek dokusu örnekleri ışık mikroskopi ve elektron mikroskopunda incelenmek üzere alınmıştır. Elektron mikroskopunda glomerülde pariyetal tabakanın hasara uğradığı ve pariyetal hücrelerin bazal membranının bozulduğu tespit edilmiştir. Kırmızı kan hücrelerinin Bowman aralığına girdiği, bazı podosit hücrelerinin nekrotik olduğu görülmüştür (151).

Bizim çalışmamızda SWL sonrası glomerüllerde değişiklik olmamasının nedeninin, yaptığımız çalışmada SWL'nin 1500 şok 14 kV güçle

uygulanması ve böbrek dokusunun SWL'den 3. ve 7 gün sonra alınıp ışık mikroskopunda incelenmiş olması olabilir. SWL'ye sekonder glomerüllerde değişikliklerin ışık mikroskopu ile görüldüğü çalışmalarda ise doku örnekleri 9 hafta ve üç ay sonra alınmıştır (162). Domuzlarda yapılan bir çalışmada SWL'den hemen sonra elektron mikroskopu ile yapılan incelemede glomerüllerde bazı değişiklikler tespit edilmiştir (151). Bizim çalışmamızda da belki ışık mikroskopu yerine elektron mikroskopu kullanılsaydı muhtemel glomerül değişikliklerini tespit etmek mümkün olabilirdi. Glomerüllerde ışık mikroskopu ile hasar görülmemesinin diğer bir nedeni de yaptığımız çalışmada 14 kV gibi düşük şiddette güç kullanılmış olması olabilir. Glomerüllerde oluşan hasarın şok sayısı, uygulanan güç ve SWL sonrası geçen süre ile ilişkisini açıklayacak ek çalışmalara gerek olduğunu düşünüyoruz.

Yaptığımız çalışmada gruplarda HSP-70 pozitifliği kortikal kollektör ve medüller kollektör tübülüslerde ve glomerüllerde değişik düzeylerde tespit edilmiştir. Proksimal tübülüs hücrelerinde ise HSP-70 boyanması hiçbir grupta tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda SWL uygulanan ve 3. ve 7. günde nefrektomi yapılan gruplar (grup ve grup 3) ile kontrol grubu kortikal kollektör tübülüslerde HSP 70 boyanması açısından karşılaştırıldığında, çalışma gruplarında HSP-70 boyanması anlamlı olarak daha fazlaydı. Bu durum SWL sonrası oluşan iskemi reperfüzyon hasarının bir göstergesi olarak kabul edildi. Aynı şekilde tadalafil tedavisi verilen gruplar kontrol grubuyla kortikal kollektör tübülüslerde HSP-70 boyanması açısından karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark görülmedi. Bu sonuç tadalafil tedavisinin SWL sonrası oluşan hasarı önlemede etkin olduğunu gösterdi. Üçüncü gün ve yedinci gün açısından tedavi verilen ve verilmeyen gruplara kendi içinde bakıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Daha uzun süreli deneylerin bu amaçla yapılması bu konuda ek bilgiler sağlayacağı kanısındayız.

Çalışmamızda SWL sonrası medüller kollektör tübülüslerde de HSP-70 boyanmasının arttığı görüldü. SWL sonrası 3. ve 7. gün de görülen HSP-70 boyanması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak fazla tespit edildi.

Tadalafil uygulanan gruplarla kontrol grubu HSP-70 boyanması açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Tadalafil gruplarıyla, sadece SWL uygulanan gruplar arasında HSP-70 boyanması açısından karşılaştırmada ise istatistiksel anlamlı fark görüldü. 3. ve 7. günler arasında HSP boyanması açısından istatistiksel fark izlenmedi.

Bizim çalışmamızda proksimal tübülüslerde HSP-70 boyanması görülmemiştir. Çocuklarda yapılan çalışmada bir yıllık obtrüksiyon sonucu proksimal tübülüslerde HSP-70 pozitifliği görülmüştür. Yine yapılan bir çalışmada, SWL uygulanan tavşanlarda distal tübülüslerde ve toplayıcı kanallarda nefronun diğer kısımlarına göre daha fazla HSP-70 pozitifliği tespit edilmiştir (121). Bizim çalışmamızda medüller ve kortikal kollektör tübülüslerde HSP-70 boyanması saptanırken, proksimal tübülüsde HSP-70 boyanması saptanmamıştır. Yaptığımız çalışmada üç ve yedi günlük süre proksimal tübülüsdeki HSP-70 boyanmasını sağlamak için yeterli bir süre olmayabilir.

Glomerüllerde HSP-70 pozitifliği incelendiğinde kontrol grubu hariç tüm gruplarda orta derecede HSP-70 boyanması görüldü. Gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubuyla, SWL yapılan (grup 2 ile grup 3) ve SWL öncesi tadalafil verilen 7. günde nefrektomi yapılan (grup 5) grup arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi. Gruplardaki boyanma dağılımına bakıldığında SWL sonrası 3. günde glomerüldeki hasarın oluştuğu ve bu hasarın 7. günde dahada arttığı söylenilebilir. Aynı şekilde tadalafil tedavisinin etkinliği glomerüldeki hasarı önlemede 3. günden sonra daha etkin olmuştur. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada şok sayısı arttıkça (2000) glomerül ve tübülüslerde HSP-70 pozitifliği görülen hücre sayısında artış saptanmıştır (121). HSP-70 pozitifliği yaygınlığının uygulanan şok sayısı ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda glomerüllerde HSP-70 immünoreaktivitesinin SWL sonrası artmasına rağmen, istatistiksel olarak fark çıkmamasının nedeninin uyguladığımız şok sayısının az olmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Ekstrakorporeal şok dalga litotripsinin diğer tedavi metodlarına göre daha az invazif olduğu gerçektir. Ancak ultrastrüktürel ve klinik yan etkileri de

göz ardı edilmemelidir. SWL sonrası böbrek kan akımının azalması ile SWL'ye bağlı oluşan iskemi reperfüzyon hasarında hedef hücrelerin renal tubüler hücreler olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Çalışmamızda SWL öncesi, bir PD5 inhibitörü olan Tadalafil uygulamasının iskemi reperfüzyon hasarını anlamlı bir şekilde azaltması, SWL 'ye bağlı iskemi reperfüzyon hasarında artan HSP 70 boyanması ve ışık mikroskopi bulgularıyla gösterilmiştir.

Üriner sistem taş hastalığı tedavisinde; cerrahi teknik ve teknolojik ilerleme ile birlikte koruyucu tedavi, özellikle taş oluşumu ve oluşabilecek renal tubüler hasarı en aza indirmek için şarttır. Bu amaçla tadalafil klinik çalışmalarla desteklenmek suretiyle gelecekte kullanılacak koruyucu tedavi seçeneği olabilir.

KAYNAKLAR

1. Menon M, Resnick MI. Urinary lithiasis: Etiology, diagnosis and medical management. In: Walsh P, Retik A, Vaughan D, Wein A (eds). Campbell's urology. 8th edition. Philadelphia: W.B.Saunders Com; 2002. 3229-305.
2. Uribari MS, Carroll HJ. The first kidney stone. Ann Intern Med 1989; 111: 1006-9.
3. Atahan Ö, Alkibay T, Bozkırlı İ. Ekstrakorporeal şok dalga litotripsisi. Üroloji Bülteni 1993;4:67-9.
4. Biri H, Güven T, Yel M, Karaoğlan Ü, Bozkırlı İ. Ekstrakorporeal şok dalga litotripsinin tavşan böbrek ve komşu organları üzerindeki akut morfolojik ve histopatolojik etkileri. Üroloji Bülteni 1996;7:146-9.
5. Diren M (editör). Ürolityaz Eswl, ultrasonografi. 1. Baskı. İstanbul: Yüce Yayıncılık; 1999. 3-6.
6. Gillanwater JY. Extracorporeal shock wave lithotripsy for the treatment of urinary calculi. In: Gillanwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JW (eds) Adult and Pediatric Urology. 2nd edition. St Louis: Mosby Year Book; 1991. 695-710.
7. Kerr ME, Bender CM, Monti EJ. An introduction to oxygen free radicals. Heart Lung 1996;25:200-11.
8. Gunasekaran S, Donovan JM, Chvapil M, Drach GW. Effect of Extracorporeal shock wave lithotripsy on the structure and function of rabbit kidney. J Urol 1989;141: 1250-4.
9. Jaeger P, Redha F, Marquart K, Uhischmid G, Hauri D. Morphological and functional changes in canine kidneys following extracorporeal shock wave treatment. Urol Int 1995;54: 48-58.
10. Koga H, Matsuoka K, Noda S, Yamashita T. Cumulative renal damage in dogs by repeated treatment with extracorporeal shock waves. Int J Urol 1996;3: 134-40.
11. Ohmori K, Matsuda T, Horii Y, Yoshida O. Effects of shock wave on the male reproductive system. Urol Int 1993;51:152-7.
12. Beyni L, Weizheng Z, Puyun L. Protective effect of nifedipine and allopurinol on high energy shock wave induced acute changes of renal function. J Urol 1995;153:596-8.
13. Johansson M, Sörensen V, Jonsson O, Petersson S, Volkman R. Examination of intrarenal blood by doppler ultrasound before and after extracorporeal shock wave lithotripsy for urolithiasis. Scand J Neph 1997;31:27-30.
14. Uozumi J, Ueda T, Naito S, Ogata N. Clinical significance of urinary enzymes and beta 2-microglobulin following ESWL. Int Urol Neph 1994;26:605-9.
15. Oruç O, İnci K, Aki FT, Zeybek D. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte. Acta Histochem 2009;10: 10-6.

16. Ergün O, Ulman C, Kılıçalp A.S. Carnitine As A Agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Urol Res* 2001;29:186-9.
17. Williams Peter L. The Anatomical basis of medicine and surgery. In: Williams L, Warwick R, Dyson M, Bannister L (eds). *Gray's Anatomy*. 37th edition. London: Churchill Livingstone; 1989. 1389-416.
18. Kabalin JN. Surgical Anatomy of the retroperitoneum, Kidneys, and ureters. In: Walsh RC, Retik AB, Vaughan AB, et al (eds). *Campbell's Urology*. 8th edition. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000. 1-70.
19. Guyton A. *Textbook of medical physiology*. 7th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Comp; 1986. 569-90.
20. Chow GK, Stroom SB. Extracorporeal lithotripsy. *Urol Clin North Am* 2000;27: 315-31.
21. Wilbert DM. A comparative review of extracorporeal shock wave generation. *BJU Int* 2002;90:507-11.
22. Danpure CJ. Genetic disorders and urolithiasis. *Urol Clin North Am* 2000;27: 287-99.
23. Eisenmenger W. The mechanisms of stone fragmentation in ESWL. *Ultrasound Med Biol* 2001;27:683-93.
24. Spirmak JP, Resnick M. Extracorporeal shock wave lithotripsy. In: Resnick MI, Pak CY (eds). *Urolithiasis: A medical and surgical references*. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1990. 321-61.
25. Rassweiler JJ, Köhrmann KU, Seeman O, Peter RT, Alken M. Clinical comparison of ESWL. In: Cue FL, Favus MJ, Pak CYC, Panks JH, Premirge GM (eds). *Kidney stones, medical and surgical management*, Philadelphia: W.B. Saunders; 1996. 571-603.
26. Klingler HC, Kramer G, Lodde M, et al. Stone treatment and coagulopathy. *Euro Uro* 2003;43:75-9.
27. Riehle RA, Fair WD, Voughan D. Extracorporeal shock wave lithotripsy for upper urinary tract calculi. *JAMA* 1986;255: 2043-7.
28. Yılmaz E, Batislam E, Tuğlu et al. C- reactive protein in early of detection of bacterriemia and after extracorporeal shock wave lithotripsy: *Euro Uro* 2003; 43: 270-4.
29. McCullough DL. Complications of ESWL, *Prob Urol* 1987;1:604-7.
30. Silber N, Kremer I, Gatton DD, Servadio C. Severe sepsis following extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Urol* 1991;145:1045-8.
31. Federmann M, Kley HK. Millitary tuberculosis after extracorporeal shock wave lithotripsy. *New Engl J Med* 1990; 323:1212-7.
32. Oscar EH, Flavio F, Rocha T, Mitre AI, Arap S. Splenic rupture and abscess after extracorporeal shock wave lithotripsy. *Urology* 1998;52:322-3.
33. Öner A, Aras O, Çitçi A. Böbrek taşlarında ESWL tedavisinin yeri Solok V, Erözenci NA (editörler). *Ürolojik ikilemler*. İstanbul: Doyuran Matbaası; 1997. 43-55.
34. Akıncı M, Esen T, Özsoy C, Tellaloğlu S. Kliniğimizde üriner sistem taş hastalığında gözlenen demografik ve klinik değişiklikler. *Kemer: 9. Türk Üroloji Kongresi*; 1989.

35. Myers BD, Moran SM. Hemodynamically mediated acute renal failure. *N Engl J Med* 1986; 314: 97-105.
36. Garcia FJ, Rodriguez P, Garcia MB et al. Protective effect of new nitrosothiols on the early inflammatory response to kidney ischemia/reperfusion and transplantation in rats. *J Interferon Cytokine Res* 2009 Aug; 29(8):441-50
37. Edelstein CL, Ling H, Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney Int* 1997;51: 1341-51.
38. Nalini S, Mathan MM, Balasubramanian KA. Oxygen free radical induced damage intestinal ischemia reperfusion in normal and xanthine oxidase deficient rats. *Mol Cell Biochem* 1993; 124:59-66.
39. Wolff SP, Garner A, Dean RT. Free radicals, lipids and protein degradation. *Trends in Biochemical Sciences* 1986; 11: 27-31.
40. Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 1977; 86: 271-8.
41. Witzgall R, Brown D, Schwarz C. Localization of proliferating cell nuclear antigen, vimentin, c-Fos and clusterin in the postischemic kidney. Evidence for a heterogeneous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and dedifferentiated cells. *J Clin Invest* 1994; 93: 2175-88.
42. Molitoris BA. Ischemia-induced loss of epithelial polarity: Potential role of the actin cytoskeleton. *Am J Physiol* 1991;260:769-78.
43. Lieberthal W. Biology of ischemic and toxic renal tubular cell injury: Role of nitric oxide and the inflammatory response. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998;7: 289-95.
44. Weight SC, Furnes PN, Nicholson ML. Biphasic role for nitric oxide in experimental warm ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1999; 86:1039-46.
45. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med* 1980;93:480-83.
46. Haas A, Goebel W. Microbial strategies to prevent oxygen dependent killing by phagocytes. *Free Radic Res Commun* 1992;16:137-57
47. Kubes P, Hunter J, Grander N. Effects of cyclosporine A and FK506 on ischemia/reperfusion-induced neutrophil infiltration in the cat. *Dig Dis Sci* 1991;36: 1469-72.
48. Çetinkale O, Şengül R, Bilgiç L, Bolayırlı M, Burçak G. Involvement of neutrophils in ischemic injury: Biochemical and histopathological investigation of the effect of FK506 on dorsal skin flaps in rats. *Ann Plast Surg* 1997;39:505-15.
49. Barry MC, Grace PA. Ischemia reperfusion injury. *Basic Surgical Science* 1997; 56: 68-72.
50. Ophir A, Berenshtein E, Kitrossky N, Averbukh E. Protection of the transiently ischemic cat retina by zinc-desferrioxamine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1212-22.
51. Islam CF, Mathie RT, Dinneen MD, et al. Ischemia-reperfusion injury in the rat kidney the effect of preconditioning. *Br J Urol* 1997;6:842-7.

52. Vande G, Hermans C, Thone F, Borgers M. Mitochondrial hydrogen peroxide generation by NADH oxidase activity following regional myocardial ischemia in the dog. *J Mol Cell Cardiol* 1989;21: 383-92.
53. Bolli R, Jeroudi MO, Palet BS. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by anti-oksüdative therapy begun at the time of reperfusion: Evidence that myocardial 'stunning' is a manifestation of reperfusion injury. *Circ Res* 1989; 65: 607-22.
54. Mc Cord JM. Oxygen derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *New Engl J Med* 1985; 312:159-63.
55. Bron AM, Maupoil V, Garcher C, et al. Modification of vitamin E during ischemia-reperfusion in rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:1084-7.
56. Szabo ME, Droy-Lefaix MT, Doly M, Braquet P. Modification of ischemia/reperfusion-induced ion shifts by free radical scavengers in the rat retina. *Ophthalmic Res* 1993; 25: 1-9.
57. Hayreh SS, Podhajsky P. Ocular neovascularization with retinal vascular occlusion. *Arch Ophthalmol* 1982; 100: 1585-9.
58. Hearse DJ. Reperfusion-induced injury: A possible role of oxidant stress and its manipulation. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991; 5: 225-36.
59. Tosaki A, Blasig IE, Pali T, Ebert B. Heart protection and radical trapping by DMPO during reperfusion in isolated working rat hearts. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 363-72.
60. Doly M, Braquet P, Bonhomme B, Meyniel G. Effect of lipid peroxidation on the isolated rat retina. *Ophthalmic Res* 1984; 16: 292-6.
61. Shug A, Paulson D, Subramanian R, Regitz V. Protective effects of propionyl-L-carnitine during ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Drugs Ther* 1991; 5: 77-84.
62. Faberowsky N, Stefannsson E, Davidson RC. Local Hypothermia protects the retina from ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1989; 30: 2309-12.
63. Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981; 81: 22-9.
64. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. İ.Akkuş Serbest radikaller . 1. baskı. Konya: Mimoza Yayınları; 1995. 45-8.
65. Cadanas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem* 1989; 58:79-81.
66. Slatter T. Free radicals and tissue injury: Fact and the Fiction. *Br J Cancer* 1987; 55: 5-10.
67. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen derived free radicals *Arch Surg* 1991;126:104-5.
68. Mc Cord JM. Human disease, free radicals and the oxidant-antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351-7.
69. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source Biochemistry and role in human disease. *The Am J of Med* 1991;91: 14-22.

70. Garcia FJ, Eleno N. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia-reperfusion. *Transplantation* 1998;66: 982-90.
71. James TW. Pharmacologic approaches to reperfusion injury. *Adv Pharmacol* 1997; 9: 291-313.
72. Kılınç K, Kılınç A (editörler). Nitrik oksit "biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri". Ankara: Palme Yayıncılık; 2003. 1-120.
73. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin NA* 1992;72: 65-9.
74. Weinberg JM. The Cell Biology of ischemic renal injury. *Kidney Int* 1991; 39: 476-500.
75. Welbourn B, Goldman G, Paterson I, Valeri R, Shepro D. Pathophysiology of ischemia reperfusion injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78: 651-5.
76. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. *Circulation Res* 1990;66: 1436-40.
77. Koji H. Activated protein c reduces the ischemia/reperfusion: Induced spinal cord injury in rats by inhibiting neutrophil activation. *Ann Surg* 2000;232:272-80.
78. Lee C, Kerrigan CL. Neutrophil localization following reperfusion of ischemic skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 1992;89: 910-6.
79. Sewing KF. Pharmacokinetics, dosing principles and blood level monitoring of FK506. *Transplant Proc* 1994;26:3267-9.
80. Susman MS, Bulkey GB. Oxygen-derived free radicals in reperfusion injury. *Methods Enzymol* 1990;186:711-5.
81. Hayashi T, Nagasue N, Kohno H. Beneficial effects of cyclosporine pretreatment in preventing ischemic damage to the liver in dogs. *Transplantation* 1988;46: 923-6
82. Lieberthal W. Biology of ischemic and toxic renal tubular cell injury: Role of nitric oxide and the inflammatory response. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998;7: 289-95.
83. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 1993; 91: 315-85.
84. Wink DA, Mitchell JB. Chemical Biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanism of nitric oxide, *Free Radic Biol Med* 1998;25:434-56.
85. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120: 227-37.
86. Tefler JF, Itoh H, Thomson AJ, Norman JE, Poston L, Magness RR. Activity and expression of soluble and particulate guanylate cyclases in myometrium from nonpregnant and pregnant women: down-regulation of soluble guanylate cyclase at term. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86: 5934-43.
87. Moreland RB, Goldstein I, Tarish A. Sildenafil a novel inhibitor of phosphodiesterase type 5 in human corpus cavernosum smooth muscle cells. *Life Sci* 1998;62: 309-18.

88. Lee MR. Cyclic GMP causes Ca²⁺ desensitization in vascular smooth muscle by activating the myosin light chain phosphatase. *J Biol Chem* 1997;272:5063-8.
89. Christ GJ. The penis as a vascular organ. The importance of corporal smoothmuscle tone in the control of erection. *Urol Clin North Am* 1995;22: 727-45.
90. Boveris A. Mitochondrial production of superoxide radical and hydrogen peroxide. *Adv Exp Med Biol* 1977; 78: 67-82.
91. Otani H, Tanaka H, Inoue T. In vitro study on controbution of oxidative metabolism of isolated rabbit heart mitochondria to myocardial reperfusion injury. *Circ Res* 1984;55: 168-75.
92. Vande Plassche G, Hermans C, Thone F, Borgers M. Mithochondrial hydrogen peroxide generation by NADH oxidase activity following regional myocardial ischemia in the dog. *J Mol Cell Cardiol* 1989; 21: 383-92.
93. Hull FE, Radloff JF, Sweeley CC. Fatty acid oxydation by ischemic myocardium. *Rec Adv Stud Card Struct Metab* 1975; 8: 153-65.
94. Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML, Ellis EF. PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH. *Circ Res* 1986; 59: 612-9.
95. Lands WEM. Interaction of lipid hydroperoxides with eicosanoid biosynthesis. *J Free Rad Biol Wed* 1985; 1: 97-101.
96. Karmazyn M, Moffat MP. Toxic properties of arachidonic acid on normal ischemic and reperfused hearts. Indirect evidence for free radical involvement. *Prostag Leukotr Med* 1985;17: 251-4.
97. Singal PK, Kapur N, Dhillon KS, Beamish RE, Dhalla NS. Role of free radicals in catecholamine-induced cardiomyopathy. *Can J Phisiol Pharmacol* 1982; 60: 1390-7.
98. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production peroxyntirite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 1620-4.
99. Maxwell S. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 1995;49; 3: 345-57.
100. Rosati R, Stortoni F, Fillingeri V. Allopurinol and superoxide dismutase administration in prevention of rat kidney ischemic injury. *Transplant Proced* 1988;20: 5: 928-30.
101. Yin M, Kurvers H.A, Tangelder GJ. Intravital microscope studies of the ischemically injured rat kidney during the early phase of reperfusion. *Transp Proced* 1995;27: 2847-8.
102. Newman R, Hackett R, Senioer D. Pathologic effects of ESWL on canine renal tissue. *Urology* 1987; 29:194-200.
103. Willis LR, Evan AP, Connors BA. Relationship between kidney size, renal injury, and renal impairment induced by shock wave lithotripsy. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:1753-62.
104. Delius M, Enders G, Xuan Z. Biologic effects of shock waves: Kidney damage by shock waves in dogs: Dose dependence. *Ultrasound Med Biol* 1988; 14:117-22.

105. Ritossa FM. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Experimenta* 1962; 18:571-3.
106. Aufricht C. Heat-shock protein 70: molecular supertool? *Pediatr Nephrol* 2005; 20:707-13.
107. Hightower LE. Heat shock stress proteins, chaperons and proteotoxicity. *Cell* 1991; 66:191-7.
108. Mifflin LC, Cohen RE. HSC 70 moderates the heat shock (stress) response in *Xenopus laevis* oocytes and binds to denaturated protein inducers. *J Biol Chem* 1994; 269:15718-23.
109. Pelham HRB. HSP-70 accelerates the recovery of nuclear morphology after heat shock. *EMBO J* 1984; 3:3095-100.
110. Van Why SK Siegel NJ. Heat shock proteins renal injury and recovery. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 7:407-12.
111. Smoyer WE, Ransom R, Harris RC, Welsh MJ, Lutsch G, Benndorf R. Ischemic acute renal failure induces differential expression of small heat shock proteins. *J Am Soc Nephrol* 1998; 11:211-21.
112. Bonegio R, Lieberthal W. Role of apoptozis in the pathogenesis of acute renal renal failure. *Curr Opin Nephrol Hipertens* 2002;11:301-8.
113. Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281:1309-12.
114. Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286:433-42.
115. Molitoris BA, Dahl R Geerdes A. Cytoskeletal disruption and apical redistribution of proksimal túbüle Na-K ATP'ase during ischemia. *Am J Physiol* 1992; 263: 488-95.
116. Aufricht C Lu E, Thulin G, Kashgarian M, Siegal NJ, Van Why SK. ATP releases HSP-72 from protein aggregates after renal ischemia. *Am J Physiol* 1998; 274:268-74.
117. Riordon M Garg V, Thulin G, Kashgarian M, Siegal J. Differential inhibition of HSP 72 and HSP 25 produces profound impairment of cellular integrity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1557-66.
118. Gaudio KM, Thulin G, Mann A, Kashgarian M, Siegel NJ. Role of heat stress response in the tolerance of the immature renal tubules to anoxia. *Am J Physiol* 1998; 274:1029-36.
119. Sarıca K, Koşar A, Yaman O, Beduk Y, Durak I, Gogus O, Kavukcu M. Evaluation of ischemia after ESW: Detection of free oxygen radical scavenger enzymes in renal parenchyma subjected to high-energy shock waves. *Urol Int* 1996; 57: 22-7.
120. Akcetin Z, Pregla R, Busch A, Kessler G, Hynemann H, Holtz J, Bromme H. Lipid peroxidation and the expressionel regulation of the heat-shock response during ischemia-reperfusion of rat kidney. *Urol Int* 2000; 65: 32-8.
121. Sarıca K, Sari I. Evaluation of Heat Shock Protein 70 expression in renal parenchyma subjected to shockwave lithotripsy. *J Endourol* 2003; 9:805-8.

122. Cowart RM, Carson CC. Tadalafil in the treatment of erectile dysfunction. Division of Urologic Surgery. Ther Clin Risk Manag 2008; 4:1315-30.
123. Cleber ET, Fernanda BM, Webb CR. Differential effects of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil, and tadalafil in rat aorta. J Pharmacol 2006; 316: 654-61.
124. Corbally MT, Ryan J, Fitzpatrick J, Fitzgerald RJ. Renal function following extracorporeal lithotripsy in children. J Ped Surg 1991;26: 539-40.
125. Jaeger P, Redha F, Uhlschmid G, Hauri D. Morphological changes in canine kidneys Following extra corporeal shock wave treatment. Urol Res 1988: 16:161-6.
126. Karlsen SJ, Berg JK. Acute changes in renal function following extracorporeal shock wave lithotripsy in patient with a solitary functioning kidney. J Urol 1991; 145:353-6.
127. Chaussy C, Schmeidt E, Jocham D, Brendel W, Forssmann B, Walther V. First clinical experience with excorporeally induced destruction of kidney Stones by shock waves. J Urol 1982;127:417-20.
128. Karlsen SJ, Smevik B, Hoving T. Acute morphological changes in canina kidneys after exposure to extracorporeal shock waves. A light and electron microscopic study. Urol Res 1991;19:105-15.
129. Kohrmann KU, Back W, Benseman J, et al. The isolated perfused kidney of the pig: new model to evaluate shock wave-induced lesions. J Endourol 1994; 8:105-10.
130. Rigatti Colombo R, Centemero A, Francesca F, Di Girolamo V, Montorsi F, Trabucchi E. Histological and ultrastructural evaluation of extracorporeal shock wave Mthotripsy-induced avute renal lesions: preliminary report. Eur Urol 1989;16: 207-11.
131. Bulkley GB. Free radicals and other reactive oxygen metabolites: clinical relevance and the therapeutic efficacy of antioxidant therapy. Surgery 1993; 113:479-83.
132. Yu BP. Celluar defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev 1994; 74: 139-62.
133. Shur D, Brummer F, Irmer U, Schlachter M, Hulser DF. Reduced cavitation- induced celluler damage by the antioxidative effect of vitamin E. Ultrasonics 1994;32:301-7.
134. Yokoyama M, Shoji F, Yanagizawa R, et al. Blood pressure changes following extracorporeal shock wave lithotripsy for urolithiasis. J Urol 1992;147:553-8.
135. Knapp PM, Kulb TB, Lingeman JE, Newman DM, Mertz JHO. Extracorporeal shock wave lithotripsy induced perirenal hematomas. J Urol 1988;139:700-3.
136. Lingeman JE, Woods JR, Toth PD. Blood pressure changes following extracorporeal shock wave lithotripsy and other forms of treatment for nephrolithiasis. J Urol 1990;263:789-94.
137. Strohmaier WL, Abelius A, Billes I. Verapamil limits shock wave-induced renal tubular damage in vivo. J Endourol 1994: 8:269-72.

138. Strohmaier WL, Bichler KH, Koch J, Balk N. Protective effect of verapamil on shock wave-induced renal tubular dysfunction. *J Urol* 1993;150:27.
139. Strohmaier W, Koch J, Balk KN, Wilbert DM. Limitation of shock wave induced renal tubular dysfunction by nifedipin. *Eur Uro* 1994;25:99-104.
140. Fegan JE, Husman DA, Alexander BS, Feagin B, Preminger GM. Preservation of renal architecture after extracorporeal shock wave lithotripsy. *J Endourol* 1991;5:273-6.
141. Strohmaier WL, Lahme S, Wesdenbach PM, Bichler KH. Reduction of high- energy shock wave-induced renal tubular injury by selenium. *Urol Res* 1999;27: 382-5.
142. Ulm AH, Miller F. An operation to produce experimental reversible hydronephrosis in dogs. *J Urol* 1962; 88:337-9.
143. Masui S, Hiratsuka Y, Ariyoshi A, Sakamoto K. Chronic incomplete obstruction of the ureter; a new experimental model 1986; 41:426-9.
144. Steinhart G, Salinas-Madrigal L, Farber R, Lynch R, Vogler G. Experimental ureteral obstruction in the fetal opossum, Renal functional assesment. *J Urol* 1990; 144: 564-6.
145. Wen JG, Jorgensen TM, Djurhuus JC. Obstructive nephropathy : an update of the experimental research. *Urol Res* 1999; 27:29-39.
146. Friedman J, Hoyer JR, Mc Cormik B, Lewy JE. Congenital unilateral hydronephrosis in the rat. *Kidney Int* 1979; 15:567-71.
147. Neuroberg J, Daus HJ, Recker F. Effects of lithotripsy in rat kidney: Evaluation with MR imaging, history and electron microscopy. *J Comput Assist Tomogr* 1989; 13:82-9.
148. Willis LR, Evan AP, Connors BA, et al. Effect of "high dose" lithotripsy on bilateral renal hemodynamics. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:350-1.
149. Connors BA, Evan AP, Blomgren PM, Willis L, Rajash K. Reducing shock number dramatically decreases lesion size in a juvenile kidney model. *J Endourol* 2006; 20:607-11.
150. Karalezli G, Gogus O, Beduk Y, Kokuuslu C, Sarica K, Kutsal O. Histopathologic effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on rabbit kidney. *Urol Res* 1993;21:67-70.
151. Shao Y, Connors BA, Evan AP, Willis LR, Lifsthitz DA, Lingeman JE. Morphological changes induced in the pig kidney by extracorporeal shock wave lithotripsy: nephron injury. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2003; 275:979-89.
152. Ohasahi R, Shimizu A, Masuda Y, et al. Peritubular capillary regression during the progression of experimental obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1795-805.
153. Kaude JV, Willimas CM, Millner MR, Scott NK, Finlayson B. Renal morphology and function immediate after extracorporeal shock wave lithotripsy. *Am J Roentg* 1985:145:305-13.
154. Rubin JI, Arger HP, Pollack HM, et al. Kidney changes after extracorporeal shock wave lithotripsy: CT evalation. *Radiol* 1987: 162:21-44.

155. Grantham JR, Millner RM, Kaude JV, Finlayson B, Hunter PT. Renal stone disease treated with extracorporeal shock wave lithotripsy: shortterm observations in 100 patients. *Radiol* 1986;158:203-6.
156. Strohmaier WL, Abelius A, Billes I. Verapamil limits shock wave-induced renal tubular damage in vivo. *J Endourol* 1994; 8:269-72.
157. Schreiner GF, Harris KP, Purkerson ML, Klahr S. Immunological aspects of acute ureteral obstruction: immune cell infiltrate in the kidney. *Kidney Int* 1988; 34:487-93.
158. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987; 79:319-26.
159. Harris KP, Klahr S, Schreiner G. Obstructive nephropathy. From mechanical disturbance to immune activation? *Exp Nephrol* 1993; 1:198-204.
160. James S, Morris, Douglas A, Husmann, W. Wilson T, Preminger GM. Temporal effects of shockwave lithotripsy. *J Urol* 1991; 145:881-3.
161. Gunasekaran S, Donovan JM, Chvapil M, Drach GW. Effects of ESWL on the structure and function of rabbit kidney. *J Urol* 1989; 141:1250-4.
162. Fajardo LL, Hillman BJ, Weber C, Donovan JM, Drach GW. Microvascular changes in rabbit kidneys after extracorporeal shock wave treatment. *Invest Radiol* 1990; 6:664-9.
163. Valles P, Jerro F, Carrizo L, Manucha W, Oliva J. Heat shock proteins HSP-27 and HSP-70 in unilateral obstructed kidneys. *Pediatr Nephrol* 2003; 18:527-35.
164. Gazer RA. Obstruction of proximal tubules initiates cytoresistance against hypoxic damage. *Kidney Int* 1994; 47:628-37.
165. Lin KC, Krieg RJ Jr, Saborio P, Chan JC. Increased heat shock protein-70 in unilateral ureteral obstruction in rats. *Mol Genet Metab* 1998; 65:303-10.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince klinik bilgi, beceri ve deneyimlerini aktararak mesleki gelişimime büyük katkılar sağlayan değerli hocalarım Prof.Dr. Bülent OKTAY, Prof. Dr. İsmet YAVAŐÇAOĐLU, Prof. Dr. Hakan KILIÇARSLAN, Doç.Dr. Hakan VURUŐKAN , Doç.Dr.H. Serkan DOĞAN ve Yrd. Doç.Dr. Yakup KORDAN' a, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Patoloji ABD' dan Uz.Dr.Berna AYTAÇ' a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve üroloji çalışanlarına teşekkür ederim.

Doktorluk mesleğimde hep yanımda olduklarını hissettiğim ve beni anlayıő ve sabırla destekleyen aileme ve eőime teşekkür ederim.

Dr.Mahmut Esat Danışoğlu

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Rize, Çamlıhemşinde doğdum. İlköğrenimimi Çamlıhemşin Merkez İlkokulu'nda, orta öğrenimimi Çamlıhemşin Lisesi'nde ve lise öğrenimimi Bursa Atatürk Lisesi'nde tamamladım. 1993-1999 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde yüksek öğrenimimi tamamladıktan sonra 2000 ile 2005 yılları arasında Çamlıhemşin merkez Sağlık Ocağında pratisyen doktor olarak çalıştım. 2002-2003 yıllarında Ardahan, Çıldırda askerliğimi yaptım. 2005 yılında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.