

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA MANNİTOL VE UDENAFİL'İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. YUSUF ÖZLÜLERDEN

DANIŞMAN

YARD. DOÇ. DR. ALİ ERSİN ZÜMRÜTBAŞ

DENİZLİ 2014

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**RENAL İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI OLUŞTURULAN
RATLARDA MANNİTOL VE UDENAFİL'İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. YUSUF ÖZLÜLERDEN

DANIŞMAN

YARD. DOÇ. DR. ALİ ERSİN ZÜMRÜTBAŞ

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 15.04.2014 tarih ve 2014TPF009 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ 2014

Yard. Doç. Dr. Ali Ersin ZÜMRÜTBAŞ danışmanlığında **Dr. Yusuf ÖZLÜLERDEN** tarafından yapılan “Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarı Oluşturulan Ratlarda Mannitol ve Udenafil’in Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez çalışması 14/05/2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Pamukkale Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN
Prof. Dr. Tahir TURAN

ÜYE
Prof. Dr. Ömer Levent TUNCAY

ÜYE
Yard. Doç. Dr. Ali Ersin ZÜMRÜTBAŞ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.
gün.../ay..../yıl.

Prof. Dr. Hasan HERKEN
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Tez yapımımın her aşamasında bana desteğini esirgemeyen başta tez danışman hocam Yard. Doç. Dr. Ali Ersin ZÜMRÜTBAŞ'a olmak üzere eğitimim boyunca bana sabır ve sevgiyle yaklaşımlarını hiç eksik etmeyen Üroloji Anabilim Dalı başkanı hocam Prof. Dr. Tahir TURAN'a, sevgili hocalarım Prof. Dr. Ömer Levent TUNCAY'a, Prof. Dr. Zafer AYBEK'e, Prof. Dr. Mehmet Zafer SINIK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez başlangıcından itibaren bana tam destek veren Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Hülya AYBEK'e, Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nilay ŞEN TÜRK'e, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Vural KÜÇÜKATAY'a teşekkür ederim. Deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen veteriner hekim Barbaros ŞAHİN'e, Biyokimya Anabilim Dalı Araş. Gör. Nergiz ZORBOZAN'a, biyokimya laboratuvarında çalışan Aysel ÇETİN ve Raziye ÜNLÜBAŞ'a teşekkürü bir borç bilirim. Deney aşamasında laboratuvar imkanlarını esirgemeyen ve malzeme desteği sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Muharrem BALKAYA ve Yard. Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL'a teşekkür ederim.

Son olarak beni büyütüp bugünlere getiren sevgili aileme ve hayattaki en büyük dayanağım olan biricik eşim Anestezi ve Reanimasyon uzmanı ve ADÜ Algoloji Anabilim Dalı Araş. Gör. Pınar ÖZLÜLERDEN'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
RESİMLER DİZİNİ	X
ÖZET	XI
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY).....	XII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
ANATOMİ	4
Böbreklerin Genel Özellikleri ve Makroskopik Anatomisi.....	4
Böbreğin Komşulukları	4
Gerota Fasyası	6
BÖBREĞİN VASKÜLER ANATOMİSİ	6
Renal Arter ve Venler	6
Renal Lenfatik Sistem	7
BÖBREĞİN HİSTOLOJİSİ	8
Renal Korteks	8
Renal Medulla	9
Renal Sinus	9
Nefron	10
<i>Renal Korpuskül (Malpighi Cisimciği)</i>	10
<i>Proksimal Tübül</i>	11
<i>Henle kulpu</i>	11
<i>Distal Tübül</i>	11
<i>Toplayıcı Tübül</i>	12
Toplayıcı Kanallar	13
<i>Kortikal Toplayıcı Kanallar</i>	13
<i>Papillar Kanal</i>	13

BÖBREĞİN FİZYOLOJİSİ	13
BÖBREKTE İSKEMİ REPERFÜZYON	16
İskemi ve Reperfüzyon Hasarı	16
İskemi ve Reperfüzyonda Fizyopatoloji	17
Serbest Radikaller	18
<i>Süperoksit radikali</i>	19
<i>Hidrojen peroksit</i>	19
<i>Hidroksil radikali</i>	20
<i>Singlet Oksijen</i>	21
<i>Nitrojen Oksitler</i>	21
Antioksidan Savunma Sistemi	22
<i>Endojen Antioksidanlar</i>	22
<i>Eksojen Antioksidanlar</i>	22
Malondialdehit	23
İskemi Reperfüzyonda İnflamasyon ve İnflamatuvar Yanıt	23
Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (Lipokalin 2)	25
Nitrik Oksit	26
FOSFODİESTERAZLAR	27
Udenafil	28
MANNİTOL	29
İSKEMİ REPERFÜZYONDA DNA HASARI	30
Komet Önekleme Yöntemi	31
GEREÇ VE YÖNTEM	44
BULGULAR	39
TARTIŞMA	58
SONUÇ	76
KAYNAKLAR	77

KISALTMALAR DİZİNİ

I/R	İskemi-reperfüzyon
ABY	Akut böbrek yetmezliği
ATN	Akut tübüler nekroz
SDBY	Son dönem böbrek yetmezliği
NOS	Nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
SOR	Serbest oksijen radikalleri
PDE5	Fosfodiesteraz 5
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
RNS	Reaktif nitrojen türleri
KDH	Ksantin dehidrojenaz
KO	Ksantin oksidaz
MDA	Malonildialdehit
SOD	Süperoksit dismutaz
O ₂ ⁻	Süperoksit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
OH	Hidroksil
Fe ³⁺	Ferri demir
Fe ²⁺	Ferro demir
GSHPx	Glutatyon peroksidaz
GST	Glutatyon S-Transferaz
NGAL	Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat

PDE	Fosfodiesteraz
BUN	Kan üre azotu
SPSS	Statistical package for the social science
TAK	Total antioksidan kapasite
TOS	Total oksidan durum
NAG	N-asetil- β -D-glokozaminodaz
KIM	Kidney injury molekülü
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
OSİ	Oksidatif stres indeksi
Kr	Kreatinin
KBY	Kronik böbrek yetmezliği

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No:
Şekil 1. I/R hasarında fizyopatolojik mekanizmalar	18
Şekil 2. Udenafil'in moleküler yapısı	29
Şekil 3. Grupların 0. ve 1. gün Kr düzeyleri	45
Şekil 4. Grupların Kr klirensi düzeyleri	46
Şekil 5. Grupların serum BUN düzeyleri	47
Şekil 6. Grupların serum MDA düzeyleri	48
Şekil 7. Grupların doku MDA düzeyleri	49
Şekil 8. Grupların doku NGAL düzeyleri	50
Şekil 9. Grupların serum NGAL düzeyleri	50
Şekil 10. Grupların idrar NGAL düzeyleri	51
Şekil 11. Grupların doku NO düzeyleri	52
Şekil 12. Grupların 0. ve 1. gün idrar NO düzeyleri	53
Şekil 13. Grupların 0. ve 1. gün serum NO düzeyleri	54
Şekil 14. Grupların patolojik hasar düzeyleri	55
Şekil 15. Grupların komet örneklemede baş yoğunluğu düzeyleri	56
Şekil 16. Grupların komet örneklemede kuyruk yoğunluğu düzeyleri	56
Şekil 17. Grupların komet örneklemede kuyruk uzunluğu düzeyleri	57

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No:

Resim 1. Komet örnekleme görüntüsü

32

ÖZET

Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarı Oluşturulan Ratlarda Mannitol ve Udenafil'in Etkilerinin Araştırılması

Renal iskemi-reperfüzyon hasarı (I/R) yoğun bakım ünitelerinde, böbrek nakli, kardiyovasküler ve ürolojik cerrahilerde sık karşılaşılan bir durumdur. Akut böbrek yetmezliği (ABY) özellikle hastanede yatan hastalarda sık karşılaşılan bir durumdur. Son 50 yılda sağlık alınındaki gelişmelere rağmen ABY'ye bağlı mortalite ve morbidite oranlarında azalma görülmemiştir. ABY'nin en sık nedeni akut tübüler nekrozdur ve altta yatan etyoloji renal iskemi ve/veya renal hipoperfüzyondur. Biz de çalışmamızda böbrek I/R hasarında fosfodiesteraz 5 inhibitörü udenafil ile osmotik diüretik mannitolün etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda 64 adet dişi Wistar albino cinsi rat kullanıldı. Tüm gruplara sağ nefrektomi yapıldı. Kontrol grubuna I/R hasarı yapılmadı. I/R grubunda sol renal pedikül vasküler klemp ile 45 dk kleplendi ve ardından 60 dk ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. Mannitol grubunda klemp konulmasından 15 dk önce 1 ml %20 mannitol yavaş infüzyonla intravenöz olarak verildi. Udenafil grubunda klemp konulmasından 1 saat önce 10mg/kg udenafil oral yolla verildi. Deneklerin doku, serum ve idrar örneklerinde kreatinin (Kr), kan üre azotu (BUN), kreatinin klirensi (Kr klirensi), malondialdehit (MDA), nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), nitrik oksit (NO), histopatolojik inceleme ve DNA hasar düzeyi (komet örnekleme yöntemi ile) karşılaştırıldı. Biyokimyasal parametreler (Kr, BUN, Kr klirensi ve NGAL düzeyleri) ve histopatolojik bulgulara göre udenafilin mannitole göre hasar düzeyini azaltmada daha iyi olduğu saptandı. NO düzeyi ve Komet örneklemede gruplar arasında anlamlı düzeyde fark izlenmedi. Sonuç olarak udenafilin I/R hasarında böbrek koruyucu etkinliğinin mannitole göre daha belirgin olduğunu, sadece deneysel çalışmalarda değil klinik uygulamalarda da kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: renal iskemi-reperfüzyon, akut böbrek yetmezliği, udenafil, mannitol, NGAL

SUMMARY

Investigation of Effect of Mannitol and Udenafil on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rat

Renal ischemia-reperfusion injury (I/R) is commonly seen in intensive care units, renal transplantation, cardiovascular and urologic surgeries. Acute renal failure (ARF), is also a common condition especially in hospitalized patients. During the last 50 years, despite developments in the field of health mortality and morbidity rates were not decreased as expected. The most common cause of ARF is acute tubular necrosis and underlying etiology is renal ischemia and/or renal hypoperfusion. The aim of our study was to investigate the effects of udenafil which is a phosphodiesterase type 5 inhibitor and mannitol which is an osmotic diuretic. A total of 64 female Wistar Albino rats were used in our study. Right nephrectomy was performed in all groups. In the control group; I/R injury was not performed. In the I/R group; left renal pedicle was clamped for 45 minutes with vascular clamp and then underwent 60 min and 24 hours of reperfusion. In the mannitol group; 1 ml %20 mannitol was given as a slow intravenous infusion before 15 minutes of clamping. In the udenafil group; 10 mg/kg udenafil was given orally before 1 hour of clamping. Creatinine (Cr), blood urea nitrogen (BUN), Cr clearance, malondialdehyde (MDA), neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), nitric oxide (NO), histological examination and DNA damage (comet assay method) levels were compared in tissue, serum and urine samples. Udenafil had a better protective effect than mannitol according to biochemical parameters (Cr, BUN, Cr clearance and NGAL levels) and histopathological findings. There was no significant difference between the groups according to NO levels and comet assay findings. In conclusion, udenafil has a better renoprotective effect than mannitol and we suggest that udenafil can be used in further clinical trials to prove those effects in humans.

Key Words: renal ischemia-reperfusion, acute renal failure, udenafil, mannitol, NGAL

1. GİRİŞ

Böbreğin iskemi-reperfüzyon (I/R) hasarı; böbrek transplantasyonu, parsiyel nefrektomi, kardiyopulmoner bypass cerrahisi, sepsis, şok ve benzeri durumlarda görülmektedir (1-3). Böbreklerin hayati fonksiyonlar üzerine etkileri düşünüldüğünde bu hasarın önlenmesi veya oluşacak hasarın en aza indirilmesi mortalite ve morbititeyi azaltmaktadır. Sağlık alanında yaşanan birçok gelişmeye rağmen günümüzde I/R hasarında böbreği korumak için klinik kullanımda olan tedavi rejimleri hala yetersiz kalmaktadır.

Akut böbrek yetmezliğinin (ABY) etyolojisinde asıl neden akut tübüler nekrozdur (ATN). Renal iskemi ve renal hipoperfüzyonda ATN'un en sık sebebidir. İskemi nedeninin ortadan kaldırılması ve iskemi süresinin kısaltılması dokuda oluşan hasarı azaltmaktadır. ABY hastanede yatan hastaların % 5'inde görülebilmekte ve bu hastaların yaklaşık % 10'unda böbrek transplantasyonu gerekmektedir (4). Yoğun bakımda ABY gelişen hastalarda son 50 yılda mortalite ve morbitite oranlarında belirgin bir azalma olmazken hayatta kalanların % 2-10'unda son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişmekte ve uzun dönem diyaliz yapılmaktadır (5-8). Ayrıca ABY gelişen hastaların gelişmeyenlere göre hastanede yatış süresi 2 gün daha fazla olmakta ve mortalite oranları 4.1 kat artmaktadır (9).

Böbrek tümörleri %50 oranında raslantısal olarak bulunmaktadır (10, 11). Özellikle 4 cm altında evre T1a tümörlerde ve teknik olarak uygun olan 4-7 cm arasındaki evre T1b tümörlerde altın standart tedavi parsiyel nefrektomidir. Parsiyel nefrektomi sırasında renal arter kitle eksizyonu boyunca klemplenir ve böbrek dokusunda bu süre zarfında iskemi meydana gelir. Kitlenin çıkarılması sonrası kan akımı tekrar sağlanmasıyla beraber reperfüzyon başlar ve I/R hasarı meydana gelir. Amaç böbreğin iskemi süresini kısaltarak oluşan hasarı azaltmak olsada reperfüzyon sonrası oluşan hasarı azaltmakta bir o kadar önemlidir.

Günümüzde SDBY gelişen hastalarda tedavi seçeneği olarak periton diyalizi, hemodiyaliz veya renal transplantasyon uygulanmaktadır. Renal transplantasyon, yaşam kalitesine yaptığı katkıların yanında hasta sağkalımını da uzattığı için

SDBY'nin günümüzde en iyi tedavi seçeneğidir. Transplant hastalarının morbidite ve mortalite oranları diyaliz hastalarına göre daha düşüktür. Ayrıca maliyet açısından da belirgin avantaja sahiptir. Her ne kadar renal transplantasyon daha iyi bir tedavi seçeneği olarak gözüксе de, transplantasyon sırasında ortaya çıkan böbrekteki I/R hasarına bağlı, böbrekte primer fonksiyon bozukluğu, gecikmiş graft bozukluğu, artmış akut rejeksiyon ve geç allograft fonksiyon bozukluğu ortaya çıkabilmektedir (12, 13).

Renal iskemi, sellüler enerjinin azalması, intrasellüler sodyum (Na^+), kalsiyum (Ca^{++}) ve reaktif oksijen radikallerinin birikmesi, proteaz, nitrik oksit sentaz (NOS), fosfolipaz ve endonükleaz gibi multiple enzim sistemlerinin aktivasyonuna neden olan bir süreçtir (8). Bu süreç iskemi süresi ve şiddetine bağlı olarak hücre hasarına ve ölümüne yol açabilir. İskemik organlar reperfüze olduğunda hücre ölümü önlenemez ancak reperfüzyonun da dokuda aktive olan polimorf nüveli lökosit ve trombosit infiltrasyonu aracılığıyla akut inflamatuvar cevaba ve dolayısıyla kendi başına lokal hasara neden olabileceği de bilinen bir gerçektir (14). Sitokin, nitrik oksit (NO), endotelial hücre adezyon molekülü, platelet aktive edici faktör ve serbest oksijen radikalleri (SOR) doku hasarında rol oynayan aracı parametrelerdir (15).

Vücuttaki hücresel antioksidan enzimler, antioksidan maddeler ve serbest radikaller arasında bir denge bulunmaktadır. SOR'un potansiyel zararlarına karşılık, hücre koruyucu enzimleri ile karşı koyulur ve antioksidan maddeler ile bu hasar sınırlandırılmaya çalışılır. Böbrekte I/R sırasında oluşan serbest oksijen radikalleri endojen antioksidan kaynaklarının hızla tükenmesine yol açmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri, eksojen antioksidan maddeler tarafından da azaltılır veya tamamen ortadan kaldırılır.

Fosfodiesteraz 5 (PDE5) inhibitörlerinin böbrek I/R hasarlanmasında yararlı etkileri gösterilmiştir. PDE5 inhibitörleri siklik guanozin monofosfat (cGMP) yıkılımını azaltmakta ve NO salınımı ve seviyesini arttırmaktadır. Bu sayede endotelial fonksiyon üzerine olumlu etki göstermektedir. Bu ilaçların etki mekanizmaları, PDE5 enziminin aktif inhibisyonu ve bunun sonucunda da cGMP

artışı ve düz kas relaksasyonu olarak sıralanabilir. PDE5 inhibitörlerinin miyokart iskemisi yapılan hayvan modellerinde iskemik reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (16, 17). Sildenafil ve tadalafil kullanılarak yapılan deneysel çalışmalarda böbrek I/R hasarını önlemede olumlu sonuçlar alınmıştır. Yeni jenerasyon PDE5 inhibitörü olan udenafil ile çok fazla çalışma bulunmamasına rağmen mevcut çalışmalarda böbrek koruyucu etkisi görülmektedir.

Mannitol, böbrek I/R hasarında hiperosmolar özellikleri sayesinde iskemi sonrası dokuda ödemi azaltır, lökositlerin mikrovasküler yatakta oluşturdukları tıkaçları temizler, renal kan akımını artırır, renin salımını azaltır ve serbest radikal toplayıcı özellikleri sayesinde serbest radikallere bağlı oluşan hasarı önlemektedir (18). Bu etkileri nedeniyle yıllardır böbrek transplantasyonu, parsiyel nefrektomi ve kardiyovasküler cerrahi vakalarında kullanılmaktadır (19).

Çalışmamızda, Mannitol ve Udenafil'in renal iskemi reperfüzyon hasarının azaltılmasında etkinliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Literatürde böbrek I/R hasarı çalışmalarında mannitol ve udenafil'in karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca böbrek /IR hasarında komet örnekleme yöntemi ilk kez bizim çalışmamızda kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ANATOMİ

2.1.1. Böbreklerin Genel Özellikleri ve Makroskopik Anatomisi

Böbrekler, retroperitonda sağda ve solda olmak birer tane olmak üzere iki adet kırmızı-kahverengi renkli solid organlardır. Erişkin erkekte normal böbrek ağırlığı yaklaşık 150 gr, kadında ise yaklaşık 135 gr kadardır. Böbreklerin uzunluğu 10-12 cm, eni 5-7 cm ve kalınlığı yaklaşık 3 cm'dir. Tüm kardiyak output'un %20'si böbreklere gelmektedir.

Sol böbrek tipik olarak T12-L3 vertebralar arasında yer alır. Sağ böbrek ise genellikle L1 ile L3 vertebralar arasındadır. Karaciğerin varlığı nedeni ile sağ böbrek sola göre 1-2 cm daha aşağıdadır. Bununla beraber böbrekler oldukça mobil organlar olup diafragma hareketleri ile vertikal düzlemde yer değiştirirler.

Böbrek parankimi korteks ve medulladan oluşur. Daha açık renkli olan korteks koyu renkli medulladan çıplak göz ile bile ayırt edilebilir. Medulla devamlılık gösteren bir yapıdan ziyade renal piramid adı verilen çok sayıda konik segmentlerden oluşur. Piramidlerin tepe noktasına renal papilla adı verilir ve renal papillalar renal sinüse doğru uzanarak toplayıcı sistemde ayrı ayrı bir küçük kaliks oluştururlar. Renal korteks, renal piramidlerin etrafını kuşatmanın yanı sıra renal piramidler arasından renal hilusa doğru da uzanır. Renal korteksin piramidlerin arasından yaptığı bu uzantı aracılığı ile böbrek vasküler yapıları renal parankime giriş ve çıkış yaparlar.

2.1.2. Böbreğin Komşulukları

Böbrekler psoas major kasının ön tarafına yerleşmektedirler. Lateralde quadratus lumborum kası ve transversus abdominis kası aponevrozu yer alır. Böbrekler, psoas major kası üzerinde ve longitudinal aksına paralel ve oblik olarak yer alması nedeniyle superior pol, inferior pole göre daha medial ve posterior yerleşimlidir. Hilar bölgenin anteriora doğru rotasyonu nedeniyle her iki böbreğin de

lateral kenarları posterior yerleşimlidir. Bu rotasyon sonucu böbreğin frontal eksenini ile vücudun frontal eksenini yaklaşık 30°'lik açı yapar. Diafragma, her iki böbreğin üst pol veya yaklaşık 1/3'lük kesimini kaplar.

Diafragma, plevral uzantıya doğru uzanır, bu nedenle, böbreğin üst kesimlerine doğrudan yapılacak herhangi bir cerrahi müdahalede plevral yaralanma riski vardır. 12. kosta her iki tarafta böbreği yaklaşık olarak diafragmanın alt sınırı hizasında çaprazlar. Sol böbrek biraz daha yüksek yerleşimli olduğundan üst sınırı 11. kosta hizasındadır.

Ön kesimde her iki böbreğin komşulukları oldukça farklılık gösterir. Sağ böbrek karaciğerin arkasında uzanır ve üst polde ki küçük bir kısım hariç peritoneal uzantı ile karaciğerden ayrılır. Bu peritoneal uzantı ile her iki organın birbirinden ayrılması her zaman olmasa da çoğu zaman renal bir kitlenin karaciğere invazyonunu engellemesi açısından önem arzeder. Böbrek cerrahisi sırasında, sağ böbrek üst polünü saran perirenal fasya ile karaciğer arasında uzanan peritoneal katlantı olan hepatorenal ligament veya hepatokolik ligamente aşırı traksiyon uygulanması sonucunda karaciğerde parankimal yırtıklar oluşabilir. Sağ böbrek hiler yapı ve medial kısımda duodenum ile komşudur. Kolonun hepatik fleksurası sağ böbrek alt pol ile komşudur. Her iki böbreğin süperiomedial bölgesinde ise adrenal bezler vardır.

Sol böbrek orta-üst kısımları pankreas kuyruğu ve splenik damarlar ile komşudur. Pankreas kuyruğunun yukarısında böbrek periton ile kaplıdır ve posterior gastrik duvar ile komşudur. Pankreas kuyruğunun altında sol böbrek periton ile kaplıdır ve jejunum ile komşudur. Sol böbrek alt pol, kolonun splenik fleksurası tarafından çaprazlanır ve genellikle ekstraperitonealdir. Dalak, bir peritoneal uzantı ile böbrekten ayrılır ve üst lateralde yer alır. Bu bölgede, sol böbrek ile dalak kapsülü arasında yer alan ve cerrahi sırasında aşırı gerilmeye bağlı olarak dalak yaralanmasına neden olabilecek splenorenal ligament vardır.

2.1.3. Gerota Fasyası

Gerota fasyası, böbrek etrafında önemli bir anatomik bariyer oluşturarak böbrek kaynaklı patolojik oluşumları sınırlar. Gerota fasyasının ön ve arka yaprakları böbreğin ön ve arka yüzüne doğru uzanarak böbreğin lateral, medial ve süperiorunda kaynaşırlar. İnferiorda ise, gerota fasyası açık bir alan olarak kalarak üreter ve gonadal damarları içerir. Solid lezyonların yanı sıra perinefrik sıvı koleksiyonları, ürinom, abse veya hematom gibi sıvı birikimlerinin de sınırlandırılmasında rol oynar. Bununla beraber, böbrek inferiorunda gerota fasyasının bir açıklık halinde olması nedeni ile aşırı sıvı koleksiyonu inferior açıklıktan pelvise uzanır.

2.2. BÖBREĞİN VASKÜLER ANATOMİSİ

2.2.1. Renal Arter ve Venler

Renal pedikül klasik olarak bir arter ve daha geniş olan bir venden meydana gelir ve renal hilustan medial olarak böbreğe girer. Önde renal ven ve arkasında renal arter yer alır. Her iki vasküler yapı renal pelvisin önünde yer alır. Renal arter ve ven tipik olarak aort ve inferior vena kava'nın dalları olup L2 vertebra seviyesinden köken alırlar.

Renal arter ve dalları endarterdirler, kollateral veya anastomoz yapmadıkları için bu vasküler yapıların herhangi bir nedenle hasara uğramaları durumunda dağılım alanlarında ki renal parankimde iskemi veya infark oluşacaktır. Sağ renal arter genelde sol renal artere göre biraz daha yukarı seviyede aort'tan ayrılır ve inferior vena kava'nın arkasından geçip böbreğe ulaşması nedeni ile daha uzundur. Aksesuar sağ renal arter olasılığı %30'dur. Adrenal bez, renal pelvis ve üretere uzanan küçük dallar verirler. Ana renal arter, anterior ve posterior dalını verdikten sonra anterior dal apikal, üst, orta ve alt segmental arterlere ayrılır. Segmental arterler renal hilus boyunca ilerler ve her bir piramid için bir lobar artere bölünürler. Lobar arterler tekrar bölünerek renal parankime interlober arter olarak girerler ve kortekse doğru uzanırlar. Kortikomedüller bölgede piramid tabanına paralel olarak uzanmak için dönerler ve arkuat arter adını alırlar. Arkuat arterler birçok interlobüler artere

bölünürler ve kortekse dik olarak uzanırlar. İnterlobüler arterlerin bir kısmı fibröz kapsülü delerek burada adrenal, frenik ve gonadal damarların yaptığı pleksusa katılırlar. Ana renal arterden ayrılan posterior dal renal pelvisin arkasına doğru ilerleyerek böbrek posteriorunun büyük bir kısmını besler.

Postglomerüler kapillerler interlobüler venlere ve ardından sırasıyla arkuat, interlober, lobar ve segmental venlere dökülürler. Sıklıkla 3 geniş venöz kök genelde renal hilus içinde ancak bazen dışında birleşerek ana renal veni oluştururlar. Renal arterlerin aksine renal venler özellikle arkuat ven düzeyinde iken anastamoz yaparlar.

Sağ renal ven genellikle daha kısa (2-4 cm) ve genellikle herhangi bir venöz dal almaksızın inferior vena kavaya doğrudan açılır. Sol renal ven yaklaşık 3 kat daha uzun (6-10 cm) olup aort'u önden çaprazlayarak geçer ve inferior vena kavaya ulaşmadan önce adrenal ven, Lomber ven ve gonadal veni alır. Böbreğin venleri arasındaki sıkı anastamozlar sayesinde, venöz yaralanma sonrası böbrekte parankimal konjesyon ve ödem gözlenmez. Korteksin küçük venleri interlobüler venlere drene olur ve bir ark oluşturur. Bu arklar böbreğin longitudinal ekseninde uzanırlar. Üç adet ana anastamoz arkı vardır ve bunlar genellikle değişik seviyelerdedir. Anastamozlar sıklıkla satalit venler arasında, arkuat venler arasında ve interlober venler arasında bulunur.

2.2.2. Renal Lenfatik Sistem

Böbreğin lenfatik drenajı oldukça zengindir. Renal kolonlar boyunca kan damarlarını izleyerek renal parankimden ayrılır ve renal sinüste birçok geniş lenfatik kök oluştururlar. Renal kapsül ve perinefrik dokulardan gelen lenfatikler bu köklere karışır. Ek olarak, renal pelvis ve üst üreterlerden gelen lenfatikler de bu köklerle birleşebilirler. Renal hilusta genellikle 2 veya daha fazla sayıda lenf nodu vardır ve bunlar böbrek tümörlerinde metastaza ilk uğrayan bölgedirler.

Sol böbrekten gelen lenfatik kökler sol lateral paraaortik lenf nodlarına dökülürler. Nadiren, bazı lenfatikler retrokrural nodlara ve/veya torasik kanala

dökülebilirler. İleri dönem hastalık durumu hariç, sol böbrekten interaortokaval nodlara dökülen lenf drenajı olmaz.

Sağ böbrekten gelen lenfatikler ilk olarak interaortokaval ve sağ parakaval lenf nodlarına dökülürler. Bununla beraber, sol tarafta olduğu gibi sağ tarafta da bazı lenfatikler retrokrural nodlara ve/veya torasik kanala dökülebilirler. Yaygın olmamakla beraber sağ böbrekten köken alan lenfatik drenajın sol lateral paraaortik lenf nodlarına döküldüğü gözlenebilir.

2.3. BÖBREĞİN HISTOLOJİSİ

Böbrek ince, fakat kollajen fibrillerinden zengin olduğu için sağlam fibröz bir kapsül ile örtülmüştür. Kapsülde az sayıda elastik fibrilde bulunur. Her bir böbreğin konkav iç bükey medial bir kenarı vardır, burası hilum adını alır. Hilum sinirlerin, kan ve lenf damarlarının girip çıktığı yerdir. Renal pelvis iki ya da üç ana kalikse bölünmüştür. Her major kaliksten minor kaliksler dallanır. Her bir minor kaliks renal papilla adı verilen koni biçimli böbrek parankimini çevrelemektedir.

Böbreği kenarlarından geçen vertikal bir kesitle ikiye ayırdığımızda, renk, fonksiyon ve orijin olarak farklı iki bölümden oluştuğunu gözleriz. Daha açık renkli olan dış kısmına korteks renalis daha koyu renkli ve çizgili görünümlü iç kısmına medulla renalis denilir. Orta kısmında bulunan ve hilum renale'ye açılan boşluk ise sinus renalis adını alır. Renal korteks, kökenini nefrojen dokudan alır ve idrar süzen yapılar ihtiva eder. Medulla renalis ise kökenini üreter tomurcuğundan alır ve toplayıcı kanallardan oluşur.

2.3.1. Renal Korteks

Papillalar hariç olmak üzere, pyramis renalis'lerin her tarafını saran böbrek dokusudur. Renal korteks'in iki bölümü vardır. Altı milimetre kalınlığındaki birinci bölümü, böbreği kabuk gibi sarmaktadır. Bu bölüm, capsula fibrosa ile pyramis renalis'lerin taban kısımları arasında bulunur. İkinci bölüm ise böbrek piramitleri

arasında bulunur. Sinus renalis'e kadar uzanan bu ikinci bölüm, kesitlerde pyramis renalis'ler arasında bir sütun şeklinde görülürler. Bunlara columna renalis denilir.

Renal korteks'in kabuk şeklindeki bölümü incelendiğinde, medullaya ait olan pars radiata ve renal korteks'e ait olan pars convoluta olmak üzere, farklı iki bölümden oluştuğu görülür.

2.3.2. Renal Medulla

Renal medulla'yı, malpighi piramitleri (pyramis renalis) denilen 8-10 adet (bazen 18-20) koni şeklindeki yapılar oluşturur. Bu piramitlerin basis pyramidis denilen taban kısımları böbreğin dış yüzüne, papilla renalis denilen tepe kısımları ise sinus renalis'e yönelmiştir. Pyramis renalis'ler birbirlerine değmeyecek şekilde sinus renalis etrafında dizilmişlerdir. Bunların aralarında columna renalis (Bertini sütunları) denilen kortikal cevher uzantıları bulunur. Üç boyutlu olarak düşünüldüklerinde, bir pyramis renalis'in sadece papilla renalis kısmı hariç olmak üzere, diğer yüzleri tamamen kortikal cevherle sarılıdır. Bir pyramis renalis ve etrafını saran kortikal cevher bölümüne bir böbrek lobu (lobi renalis) denilir. Buna göre bir böbrekte piramit sayısı kadar böbrek lobu bulunur. Yeni doğanlarda böbreğin dış yüzünde bu lobların sınırlarını belirleyen sığ oluklar görülür. Daha sonra bu oluklar kaybolarak böbreğin dış yüzü, düz bir görünüm alır. Kesitlerde koyu kırmızı renkte olan pyramis renalis'lerin taban kısımlarından kortikal cevhere parmak gibi uzantılar girer. Medullar cevhere ait olan bu uzantılara pars radiata (stria medullaris= Ferrein uzantıları) denilir.

2.3.3. Renal Sinus

Böbrek, her iki kenarından geçecek şekilde ön-arka yarısına ayrıldığında, hilum renale'nin böbrek içinde bir boşlukla devam ettiği görülür. Böbrek şeklinde olan bu boşluğa, sinus renalis denilir. Renal sinus'te pelvis renalis'in üst bölümü, kaliks renalis, böbrek damarları (arteria segmentalis'ler) ve bunlar arasındaki boşlukta da yağ dokusu bulunur.

2.3.4. Nefron

Böbreğin idrar oluşturabilme yeteneğine sahip temel fonksiyonel ünitesidir. Her böbrek yaklaşık 1.250.000 nefron içerir. Nefron; Renal korpuskül, proksimal kıvrımlı tübül, henle kulpu, distal kıvrımlı tübül, toplayıcı tübül kısımlarından meydana gelir. Embriyolojik kökeni nefrondan farklı olan toplayıcı tübüller ve kanallar, nefronlarda üretilen idrarı toplayarak böbrek pelvisine iletirler.

2.3.4.1. Renal Korpuskül (*Malpighi Cisimciği*)

Renal korpuskül kortekste yer alır ve glomerül ve bowman kapsülü denilen iki bölümden oluşur Renal korpuskülün, glomerülü oluşturan afferent ve efferent arteriyollerin bulunduğu kısma damar kutbu, onun tam karşısında bulunan ve süzülen sıvıyı ileten tübüllerin başlangıç kısmına ise idrar kutbu denir.

Böbrek lopçukları arasında uzanan interlobular arter, korteks içinde sağlı sollu kollar verir. Kolların her biri afferent arteriyol olarak bu oluşumun başlangıcını yapar. Afferent arteriyol özel bir arteriyol kılcal dönüşür. Arteriol kılcal birkaç kez kendi üzerine kıvrılarak ve anastomozlar da yaparak bir yumak (glomerül) şekillendirir. Sonra kılcal yumak tekrar arteriyole dönüşür; bu, efferent arteriyoldür ve çapı afferent arteriyolden daha küçüktür. Kılcalın duvar yapısı, ince bir bazal membran üzerine oturan çok dar sitoplazmalı endotel hücrelerinden ibarettir. Endotel hücrelerinin, özellikle çekirdeğin yan taraflarında kalan çok ince sitoplazmalı kısımları mevcuttur. Böylece kılcalın lümenindeki sıvı, yüksek hidrostatik basıncın etkisiyle kolaylıkla dışarı çıkar.

Bowman kapsülü iki yapraktan oluşur. Her iki yaprak da epitelyum hücrelerinden ibarettir. Visseral yaprak kılcal damarları sarar. Bu yaprağı oluşturan hücrelerin, kılcallar üzerine oturan uzunca sitoplazma uzantıları vardır. Ayaksı biçimindeki uzantılardan ötürü bu hücrelere podositler denir. Podositlerin sitoplazmalarında pek çok mikrotübül bulunur. Bowman kapsülünün pariyetal yaprağını ise yassı epitel hücreleri oluştururlar. İki yaprak arasında bir boşluk (bowman aralığı) vardır. Kılcal damarlardan süzülen sıvı (ultrafiltrat) podositlerin

arasındaki açıklıklardan ya da mikrotübüller yoluyla bowman aralığına geçer. Ancak, bu geçiş sırasında bazal membran engeli de aşılr.

2.3.4.2. Proksimal Tübül

Bowman kapsülündeki pariyetal yaprağın devamı şeklindedir. Çok kıvrımlı biçimde başlar ve korteksten medullaya doğru düz parça halinde devam eder. Bowman aralığına geçen ultrafiltratın reabsorbsiyonunu büyük ölçüde sağlayan bölümdür. Bunun duvarını oluşturan ve asit boyalarla koyu boyanan kübik ya da basık prizmatik hücrelerin apikal yüzleri, ışık mikroskopi ile fırçamsı bir kenar görünümündedir. Tübül lumenini daraltan, elektron mikroskopik görünümüyle mikrovilluslar olarak adlandırılan bu oluşumlar sayesinde emilim yüzeyi çok genişler.

2.3.4.3. Henle kulpu

İnen ince, çıkan ince ve çıkan kalın olmak üzere üç parçadan oluşur. İnen ince henle kısmı; proksimal tübülün düz parçasından sonraki bölümdür. Medullada bulunur. Çapı en dar olan tübüldür. Bu tübülün duvarını oluşturan hücreler yassıdır. Yassı olan bu hücrelerin çekirdekleri, lümene doğru şişkinlik yapar. Kesitlerde kılcal damarlar ile karıştırılabilir. Ancak, kılcalların çekirdekleri heterokromatiktir ve sitoplazmaları daha azdır. Çıkan ince henle kısmı; inen henle gibi yassı epitele sahip olup medullada bulunur. Ancak çıkan ince henle, inen henleden daha geniş çaplıdır. Çıkan kalın henle kısmı; duvarı tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Kortekse girdiğinde histolojik yapısını koruyarak distal tübül ile devam eder. Bu hücrelerin sitoplazmaları asit boyalarla koyu tonda boyanır.

2.3.4.4. Distal Tübül

Çıkan henlenin devamı şeklindeki düz parça ile ondan sonraki kıvrımlı parçadan ibarettir. Kortekste bulunurlar. Proksimal tübülden daha kısadır. Buna bağlı olarak histolojik preparatlarda proksimal tübüle göre daha seyrek görülür. Tübüldeki hücrelerin sınırları belirgin değildir, sitoplazmaları da asit boyalarla soluk boyanır.

Düzenli, belirgin bir fırçamsı kenar yoktur. Bu nedenle lümenleri, proksimal tübülden daha geniştir. Lümene bakan hücre yüzeyi kısa, düzensiz, seyrek mikrovilluslar taşır. Apikal yüzde madde alışverişi ile ilgili farklılıklar, bu bölümün proksimal tübülden daha az reabsorbsiyon yaptığını gösterir. Ancak, yine madde alışverişini sağlayan yapılar olarak, hücrenin derinlerine kadar uzanan çok belirgin bazal labirent tablosu görülür. Bazal labirentlerle çevrili olan sitoplazmada bol miktarda mitokondri bulunur. Buradaki mitokondriler karmaşık bir membran yapısı gösterirler ve çok sayıda matriks granülleri içerirler. Bu sitolojik özellikler de, damar sistemi yönünde aktif bir sıvı transportunun varlığını ortaya koyar. Afferent ve efferent arteriyol arasında prizmatik ve tübül lümenine doğru uzanan bir disk şeklinde çıkan kalın henle kulpunun sonunda, distal tübülün başlangıcında bulunan tübül hücrelerine makula densa denir. Bu hücreler damar kutbunda, afferent arteriyolden geçen kan miktarının düzenlenmesinde rolü bulunan oluşumlardandır.

Malpighi cisimciğinin hemen bitişiğinde, afferent arteriyolun tunika mediasında düz kas hücreleri bulunmaktadır. Bu hücelere Jukstaglomeruler (JG) hücreleri denir. JG hücrelerin yer aldığı afferent arteriyol kısmı, makula densa ile birlikte JG apareyi oluşturur. JG hücrelerin üçüncü saç ayağını da fonksiyonu henüz tam anlaşılmayan açık renk boyanan hücreler oluşturur. Bu hücelere ekstraglomeruler mezengial hücreler, lacis hücreleri ya da polkissen (kutup yastığı) şeklinde değişik isimler verilir. Bu hücelere goormaghtigh hücreleri de denir ve geçmişte eritropoetin hormonu salgıladıkları öne sürülmüştür.

2.3.4.5. Toplayıcı Tübül

Distal tübülden sonraki kısa bağlantı kollarıdır. Duvarlarını, sınırları çok belirgin, sitoplazmaları iyi boya almayan kübik hücreler oluşturur. Korteks-medulla sınırında uzanan bu tübüller birleşerek medullaya geçerler ve böbreğin toplayıcı kanalcıklarını şekillendirirler.

2.3.5. Toplayıcı Kanallar

Böbrek parankiminin bu bölümünde kortikal toplayıcı kanal ve papillar kanal oluşumları bulunmaktadır.

2.3.5.1. Kortikal Toplayıcı Kanallar

Toplayıcı tübüllerden sonraki kanalcıklardır. Medullanın kortekse komşu olan kısmından, medullar radiuslardan başlarlar. Duvarlarını oluşturan epitel hücrelerinin sınırları çok belirgindir. Bu hücreler organelden fakir ve soluk sitoplazmalıdır. Başlangıçta bazik prizmatik olan hücreler, renal pelvise doğru yüksek prizmatik bir şekil alırlar.

2.3.5.2. Papillar Kanal

Toplayıcı kanalların birleşmesi ile şekillenir. Duvarında genellikle tek katlı çok yüksek prizmatik, değişken epitel söz konusudur. İçinde son idrarı taşıyan bu kanal, renal pelvise açılır.

2.4. BÖBREĞİN FİZYOLOJİSİ

Kalp debisinin yaklaşık % 20'si böbreklerden geçer. Glomerüler filtrasyon; sıvıyı yarı geçirgen kapiller duvardan dışa doğru yönlendiren net basıncın bir sonucudur. Normal glomerüler filtrasyon hızı (GFR) 120 ml/dk/1,73 m² olup günde 180 lt ultrafiltrat oluşur. Bunun büyük bir kısmı (% 98 - 99) filtrasyondan sonra yeniden emilir. Klinikte glomerüler filtrasyon değeri hesaplanırken klirens formülleri kullanılır. Glomerüler filtrasyon değerinin ölçülmesinde en sık kullanılan yöntem kreatinin klirensidir (Kr klirensi). Glomerüler filtrasyon değerinin hesaplanmasında inülin, Tc99m ile işaretlenmiş DTPA, üre gibi maddeler de kullanılabilir. Kreatinin en önemli özelliği endojen olarak vucutta bulunması ve klinik kullanımının kolay olmasıdır. Kreatinin klirensi ile bulunan değer gerçek glomerüler filtrasyon değerinden % 15 daha fazladır; bunun nedeni kreatininin tübüler sekresyonudur.

Böbrekte kanın işlenmesini sağlayan en küçük yapısal ve anatomik birim nefrondur. Böbrekler, doğumdan sonra sayısı sabit kalan bir milyon kadar nefrondan oluşur. Bu sayı böbrek hasarına neden olan hastalıklar yada normal yaşlanma ile giderek azalır. Her nefron kandan büyük miktarda sıvının filtre olduğu glomerül ve filtre edilmiş sıvının idrara dönüştüğü proksimal tübül, distal tübül, henle kulpu, toplayıcı kanallardan oluşan renal tübülsler olmak üzere iki kısma ayrılır.

Epitel bir yapı olan bowman kapsülü ile çevrili glomerül, afferent ve efferent arterioller arasında asılı kapiller bir ağdır. Glomerülün orta kısmında mezengiyal matriksi çevreleyen mezengiyal hücreler bulunur. Mesengial hücrelerde antidiüretik hormon ve anjiotensin II gibi vazokonstriktör hormonlar için reseptörler vardır. Mesengial hücreler yapısında bulunan aktin ve miyosin sayesinde kasılıp gevşeyerek hormonal etkiye cevap olarak glomerüler süzme oranını değiştirir. Mesengial hücrelerin bir diğer görevi kollajen ve glikoproteinden oluşan hücre dışı matriksi üretmek ve yeniden şekillendirmektir. Mesengial hücrelerin bunların dışında fagositik özellikleri de vardır.

Glomerülün diğer elemanları endotel, glomerüler bazal membran ve epitel hücreleridir. Endotel hücreleri kapiller lümeni çevreleyen gözenekli bir yapı oluştururlar. Glomerül endotel hücreleri negatif yüklü olmaları nedeniyle filtrasyon bariyerinin yük seçici özelliklerinden sorumludurlar ve glomerül fizyopatolojisinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Glomerül bazal membranı tip IV, tip V kollajen lifleri içeren glikoproteinden oluşan hidrate jel tabakasıdır. Plazma proteinlerinin süzülmesinde birincil bariyer olarak görev yapar ve kalınlığı 315-373 nm arasında değişir. Böylece belli bir molekül büyüklüğündeki negatif yüklü parçacıklar pozitif yüklü olanlara göre daha zor süzülürler. Viseral epitel hücreleri yada podositler glomerüllerdeki en büyük hücrelerdir. Glomerüler bazal membran üzerine ayaklı çıkıntılar uzatır ve negatif yükleriyle süzme bariyerine katkıda bulunurlar. Glomerül kapsülü süzülen ultrafiltratı renal tübüle yönlendirir.

Proksimal tübülün ilk kısmını korteks içinde konumlanan proksimal kıvrımlı tübül oluşturur. İkinci segment olan proksimal düz tübül medüllaya girer ve sıvıyı henle kulpuna geçirir. Proksimal tübülün temel işlevi ultrafiltratın izoozmotik

emilimidir. Glomerüler filtratta en fazla bulunan bileşik sodyumdur ve proksimal tübülde oluşan taşınma işlemlerinin çoğu sodyumla ilişkilidir. Sodyum, Na-K-ATPaz pompası ile taşınır. Kalsiyum, glukoz ve aminoasitlerin emilimi, sodyum emilimi ile birlikte olur. Potasyum ve fosfatın büyük çoğunluğu bu kısımda geri emilir. Filtre edilen bikarbonatın önemli bir kısmı hidrojen iyonlarının katıldığı ters taşınma mekanizmasıyla emilir. Renal asit atımında önemli bir basamak olan amonyum sentezi de bu kısımda gerçekleşir.

Henle kulpunun her segmenti sodyum klorür ve suya karşı farklı geçirgenliğe sahiptir. İzoozmotik ultrafiltrat volümünün yaklaşık % 15'i, sodyum klorürün ise yaklaşık % 25'i buradan emilir. Bu farklı emilim ile proksimal tübülde giren izotonik sıvı distal tübüle seyrelmiş olarak geçer. Kalsiyum emiliminin büyük bir kısmında henle kulpunda gerçekleşir. Kalın çıkan kolun korteks kısmı paratiroid hormon kontrolü altındadır. Henle kulpunun kalın çıkan kolu magnezyumun geri emilimi için de ana bölgedir.

Henle kulpu medulla içinde bir U kıvrımı yaparak yeniden kortekse yönelir ve distal tübülü oluşturur. Distal tübül sonuçta yeniden medulla içerisine girer ve toplayıcı kanala dönüşür. Ultrafiltrat renal papilla uçlarındaki Bellini kanallarından renal pelvise dökülür. Distal tübülün başlangıç kısmı her nefronda afferent arteriolün son kısmıyla ve efferent arteriolün başlangıç kısmıyla temas halindedir. Distal tübülün bu kısmına maküla densa adı verilir. Maküla densa ve damarsal yapılar birlikte jukstaglomerüler aparat adı verilen özel bir yapı oluşturur. Bu yapı renin üretir ve glomerül ile tübül fonksiyonlarında önemli rolü vardır. Distal kıvrımlı tübül sodyum klorürün aktif emilimini sağlayan ve suya geçirgen olmayan korteks içi bir yapıdır. Kortikal toplayıcı kanal mineralokortikoidlere duyarlı bir mekanizma ile sodyumun geri emilimini sağlar. Volüm eksikliği durumlarında ve aşırı aldosteron üretiminde idrar sodyumdan arındırılabilir. Potasyum sekresyonu distal tübülün son kısmında başlar ve toplayıcı kanal boyunca devam eder. Filtre olan potasyumun tamamına yakını proksimal tübülünden emildiği için, idrarla çıkan potasyum distal kısımlardan salınır. Distal tübülde hidrojen sekresyonu bu segmentlerde bulunan bikarbonatın emilmesini sağlar. Salınan hidrojen fosfat ile tamponlanır yada amonyum iyonları şeklinde atılır. Toplayıcı kanallar antidiüretik hormonun başlıca

etkilediği yerlerdir. Bunlar antidiüretik hormon yokluğunda suya karşı çok az geçirgendir ve antidiüretik hormon olmadan distal tübülden çıkan hipotonik sıvı hiçbir değişime uğramadan idrara verilebilir.

Böbrekler idrar oluşumunun yanı sıra; asit-baz ve elektrolit dengesinin sağlanması, sıvı regülasyonu, toksik atıkların atılması, kan basıncının düzenlenmesi, hormon metabolizması üzerine hayati bir homeostatik görev üstlenirler. Üre, laktat, kreatinin gibi atık maddeler, bazı ilaçlar glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon yoluyla vücuttan uzaklaştırılırlar. Hipofiz hormonları, insülin ve glukagon gibi peptid hormonların eliminasyonu glomerüler filtrasyonu takiben böbrekte gerçekleşir. Renin üretimi jukstaglomerüler hücrelerde, eritropoetin üretimi ise böbreğin korteks hücrelerinde yapılır ve D vitamini aktivasyonu böbrekte gerçekleşir. Böbrek uzun süren açlıkta, glukoneogenez yoluyla plazma glukozunun regülasyonunda da rol oynar.

2.5. BÖBREKTE İSKEMİ ve REPERFÜZYON

Arteriyel kan akımında azalma veya akımın tamamen kesilmesi sebebiyle dokuların yeterli kan temin edememesi haline iskemi, daha önce iskemik olan doku veya organın yeniden kanlanmasına da reperfüzyon denilmektedir. İskemi ile dokuda oluşan hasar eğer geri döndürülebilir seviyede ise yeniden kan akımının sağlanması gereklidir. Buna karşın reperfüzyonla beraber mekanizmaları tam olarak belirlenemesede paradoksal olarak dokuda ek hasar meydana gelmektedir (20). Reperfüzyon hasarına en fazla duyarlı hücresel yapılar zar lipitleri, proteinler, nükleik asitler ve deoksiribonükleik asit molekülleridir (21).

2.5.1. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı

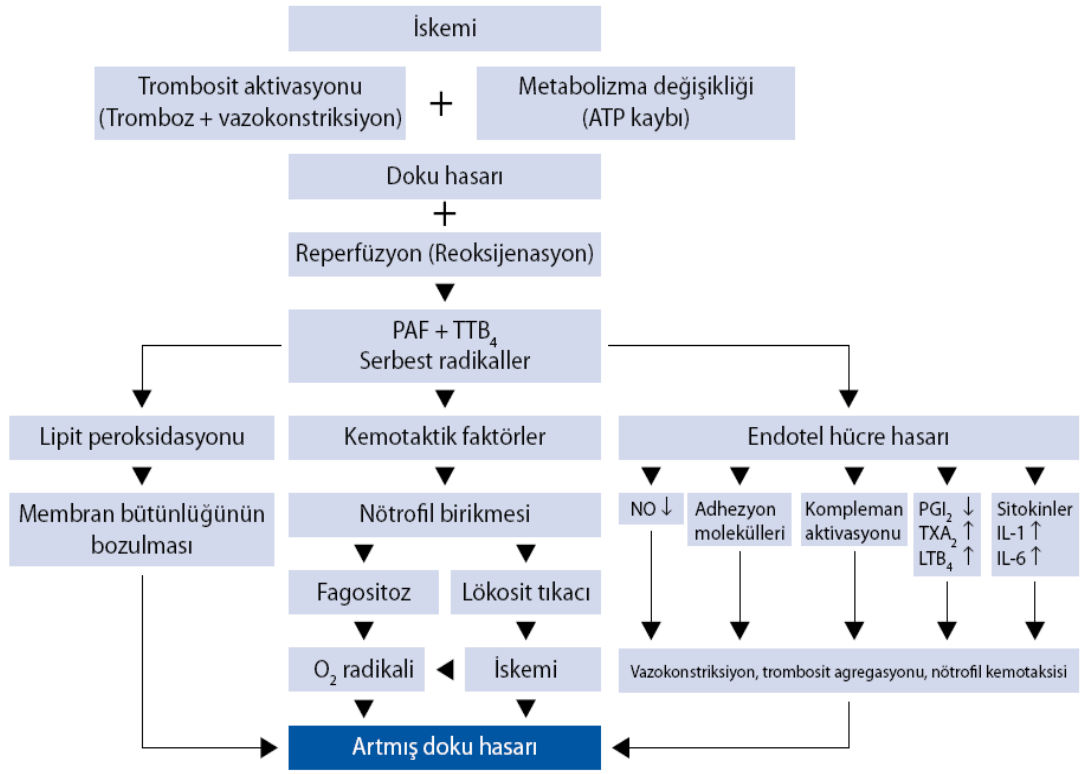
I/R hasarı, iskemik olan dokuda kan akımının sağlanması ile oluşan doku hasarıdır. I/R hasarının mekanizması multifaktöriyeldir. Temel başlatıcı patofizyolojik etken doku iskemisi olmakla birlikte, reperfüzyonla beraber dokuda inflamatuvar değişiklikler meydana gelmektedir (22). Reperfüzyonla beraber dokuda oluşan SOR, reaktif nitrojen türleri (RNS), pürin metabolitleri, nötrofil göçü,

vazoaktif aminler ve litik enzimler çeşitli mekanizmalarla apoptotik hücre ölümüyle beraber oluşan böbrek hasarından sorumludur (23-25).

2.5.2. İskemi ve Reperfüzyonda Fizyopatoloji

İskemik dönemde hücrede metabolik ve yapısal değişiklikler meydana gelir. Dokuya gelen kan akımının kesilmesi ile hücresel oksidatif fosforilasyon azalır ve adenozin 5'-trifosfat ve fosfokreatin gibi yüksek enerjili fosfat sentezi azalır (26). Hücrede enerji depolarının boşalması ile hücre zarında bulunan Na⁺,K⁺-ATP az pompası inhibe olur. Sonuçta hücre içinde Na⁺ ve Ca⁺⁺ iyon konsantrasyonları artar (27). Hücre içinde Ca⁺⁺ iyon konsantrasyonunun artışı hücre için sitotoksiktir (28). Nitekim yine bu dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin lökosit adhezyon moleküllerinin yapımında artış, buna karşılık antioksidan enzimlerin oluşumunda azalma olur. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılmaktadır. İskemi döneminde ATP üretimi durduğu halde kullanımı devam ettiği için ATP'den AMP ve adenozin oluşur. Adenozin, hızla hücre dışına difüze olur ve inozin ve hipoksantine parçalanır. Dolayısıyla, iskemi sonucu yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin (ATP) yıkımı, dokuda ksantin ve hipoksantin gibi pürin metabolitlerinin birikimine ve ksantin dehidrojenazın (KDH) ksantin oksidaza (KO) dönüşümüne yol açar. Normal şartlarda hipoksantin ürik asite metabolize olur ve bu reaksiyonda elektron alıcı NAD⁺ (nikotinamid adenin dinükleotidin okside formu) dir. Ancak hipoksi ya da iskemi nedeniyle KDH → KO'a dönüştüğünden hipoksantin ürik asite dönüşümü KO tarafından gerçekleşir ve bu reaksiyonda ise elektron alıcı olarak moleküler oksijen kullanılır (29).

İ/R hasarının fizyopatolojisi ile ilgili çeşitli faktörler ileri sürülmüştür. Bunlar birbiriyle ilişkileri karmaşık, hücresel ve humoral olaylar serisidir (30, 31).



Şekil 1. I/R hasarında fizyopatolojik mekanizmalar

2.5.3. 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 (32).

Serbest radikaller, hücrenin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzimleri gibi tüm önemli bileşiklerine etki edebilirler fakat lipidler en hassas olanlarıdır (32). Serbest radikaller lipid bariyerinin bütünlüğünü bozar, membran geçirgenliğini artırır ve beraberinde mitokondri, lizozom ve plazma membranının yapı ve fonksiyonlarını değiştirir (33). 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 malonildialdehit (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. Lipid peroksidasyonu dokudaki I/R hasarı ile ilişkilidir ve MDA lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir (34).

Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (32).

2.5.3.1. Süperoksit radikali

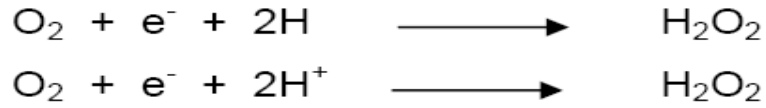
Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) meydana gelir.



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

2.5.3.2. Hidrojen peroksit

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü iki hidrojen molekülü ile birleşerek H_2O_2 meydana getirir. H_2O_2 tek başına eşlenmemiş elektron içermediği için tek başına radikal değildir (35).



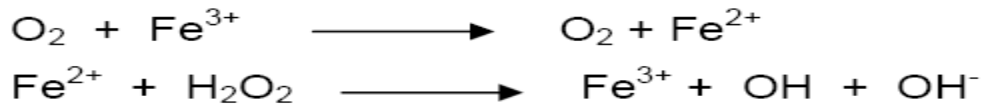
Ancak biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Bu reaksiyon spontan oluşabileceği gibi süperoksit dismutaz enzimi ile katalizlenebilir ve radikal olmayan ürünler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



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 (OH) radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (32, 36, 37).



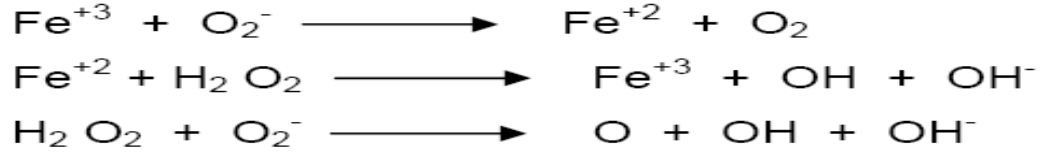
Bu reaksiyon demirle katalizlenir. Önce ferri demir süperoksit (Fe³⁺) tarafından ferro demire (Fe²⁺) indirgenir. Sonra bu ferro demir kullanılarak Fenton reaksiyonu ile hidrojen peroksitten OH ve OH⁻ üretilir.



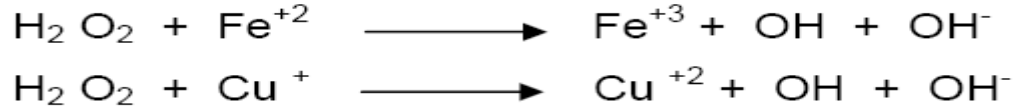
2.5.3.3. Hidroksil radikali

Hidroksil radikali hidrojen peroksidin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesiyle meydana gelir. Son derece reaktif bir oksijen radikalidir. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştugu yerde büyük hasara neden olur. Tioller ve yağ asitleri

gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına neden olur. Doğal enzimler ve glutatyon yetersiz düzeyde ise hidrojen peroksit ve süperoksit ayrı ayrı ortamda serbestleşmiş halde bulunan Fe³⁺ veya Cu⁺⁺ ile reaksiyona girerek sonunda en güçlü radikal olan hidroksil molekülünün oluşacağı bir dizi reaksiyon oluştururlar (38, 39).



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 (39, 40).



2.5.3.4. 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 radikalın DNA hasarı oluşturduğu ve mutajenik etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir.

2.5.3.5. Nitrojen Oksitler

Nitrik oksit, serbest radikal olan basit bir gazdır. Memelilerde bulunan en küçük otokoid ve haberci moleküldür. Çok küçük bir molekül olması ve lipofilik olma özelliği, hücre membranlarından kolaylıkla geçmesine izin vermektedir. NO, protein fonksiyonlarını değiştirir ve hücre hasarına ya da hücrenin korunmasına aracılık eder.

2.5.4. Antioksidan Savunma Sistemi

Organizmanın oksidan/antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmek için çok önemlidir. SOR'ların oluşumunu ve meydana getirdikleri hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere organizmayı koruyan antioksidan savunma sistemi dört yolla etki göstermektedir:

1. *Süpürücü etki*: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma, yok etme. Antioksidan enzimler, küçük moleküller bu yolla etki gösterirler.

2. *İnaktif şekle dönüştürücü etki*: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3. *Zincir kırıcı etki*: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkidir. Hemoglobın, seruloplazmin ve mineraller bu etkiyi gösterirler.

4. *Onarıcı etki*: Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması şeklinde etki gösterirler.

2.5.4.1. Endojen Antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar.

1. Enzim olan endojen antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSHPx), Glutasyon S-Transferaz (GST), Katalaz, Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, Hidroperoksidaz.

2. Enzim olmayan endojen antioksidanlar

Melatonin, Seruloplazmin, Transferin, Miyoglobın, Hemoglobın, Ferritin, Bilirubin, Glutasyon, Sistein, Metiyonin, Ürat, Laktoferrin, Albümin.

2.5.4.2. Eksojen Antioksidanlar

1. Vitamin eksojen antioksidanlar

α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, Askorbik asit (vitamin C), Folik asit (folat).

2. İlaç olarak kullanılan eksojen antioksidanlar

Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol, pterin aldehit, tungsten)

NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)

Rekombinant süperoksit dismutaz

Trolox-C (vitamin E analogu)

Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSHPx aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)

Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (**mannitol**, albümin)

Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)

Nötrofil adezyon inhibitörleri

Sitokinler (TNF ve IL-1)

Barbitüratlar

Demir şelatörleri.

2.5.5. Malondialdehit

Malondialdehit formülü $CH_2(CHO)_2$ olan bir organik bileşiktir. Bu reaktif bileşik doğal olarak oluşur ve oksidatif stresin bir belirteçidir. MDA genelde enol formunda bulunur. Reaktif oksijen türleri, poliansatüre lipidleri indirgeyerek MDA'yı oluşturur (41). Bu bileşik reaktif bir aldehiddir ve hücrelerde toksik strese neden olan birçok reaktif elektrofil türlerinden bir tanesidir. Gelişmiş lipit peroksidasyonunun son ürünü olarak adlandırılan bir kovalent protein eklentileri oluşturur (42). Bu aldehid oluşumu, bir organizmadaki oksidatif stres seviyesinin ölçülmesinde biyomarker olarak kullanılır (43, 44).

2.5.6. İskemi Reperfüzyonda İnflamasyon ve İnflamatuvar Yanıt

İskemi sonrası reperfüzyonla birlikte dokuda inflamatuvar cevap oluşur. Dokuda oluşan hasarda sadece SOR değil inflamasyonun kendisinde yer almaktadır (45). Bu inflamasyona makrofajlar, endotel hücreleri, nötrofiller, lenfositler, trombositler, kompleman sistemi, koagülasyon kaskadı, SOR, NO ve pro-anti inflamatuvar sitokinler katılmakta ve mikrovasküler perfüzyonun bozulmasına sebep olmaktadır (46-50).

Böbreğin iskemi reperfüzyon hasarı gibi inflamatuvar hastalıklarında lökosit adezyonu temel adımı oluşturmaktadır. İnflamasyonun başlangıç fazında adezyon lökositlerin aktivasyonunu, transsellüler inflamatuvar mediatörlerin oluşturulmasını ve fonksiyonel yapısal hasarı kolaylaştırır (51).

Dolaşan lökositler 4 aşama ile inflamatuvar bölgeye göçerler. Bu aşamalar, direkt hareket (kemotaksis), endotel üzerinde yuvarlanma (marjinasyon), lökosit aktivasyonu ve endotel üzerine tutunma, endotel ve bazal membranı geçerek ekstravasküler alana geçiş olarak sıralanabilir. Lökositlerin endotel üzerinde yuvarlanması ve tutunmaları 4 grup hücre adezyon molekülü sayesinde olur. Bunlar selektinler ve ligantları ile birçoğu immunglobulin yapısına benzeyen integrinler ve ligantlarıdır (52). Başlangıçta lökositlerin adezyonu selektin ve ligantları ile gerçekleşir. Bu birleşme lökositlerin adezyonu için yeterli değildir. Bu bağlanma ile lökositler endotel üzerinde yuvarlanmaya başlar. Bu aşamada hücre aracılı ve soluble aktive edici uyarılar endotelden ve ekstravasküler kompartmandan ortaya çıkarlar (53). Aktive hale geçen lökositler integrinleri ile ligantlarına bağlanarak tutunurlar ve inflamasyonlu bölgeye göçerler.

Hasarlı hücreler veya bozulmuş doku matriksi inflamatuvar cevabı başlatabileceği gibi iskemi-reperfüzyon ile aktive olmuş endotel hücreleri, makrofajlar tarafından da inflamasyon başlatılabilir. Sitokin ve kemokinler gibi mediatörler makrofaj, lenfosit, nötrofil ve endotel hücrelerinde oluşabileceği gibi tersine, sitokin ve kemokinler bu hücreleri aktive de edebilir (49).

Özellikle erken reperfüzyon fazında hücre hasarı direkt olarak iskemik fazda oluşan hücre içi değişimlerin sonucu olduğu gösterilmiştir. Anoksik hücre hasarında hücre içi Ca^{++} artması, mitokondri hasarı gibi olaylar patogenetik bir düzen içinde gerçekleşmektedir. Fakat özellikle önemli miktarda ATP gerektiren diğer işlemlerin sadece reperfüzyon fazında gerçekleştiği görülmektedir (54).

2.5.7. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (Lipokalin 2)

Temel olarak böbrek proksimal tübül epitelindeki aktive olmuş nötrofillerden sentezlenir. Küçük çaplı (25 kDa) ve yıkıma dirençli bir proteindir. Kanda ve idrarda minör hasardan sonra bile enzim bağlı immunosorbent kiti (ELIZA), radyoimmün test (RIA) ve Western Blot yöntemleri ile kolayca tespit edilebilir.

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) lipokalin süper ailesinin bir üyesidir. Lipokalinler fiçı şeklinde tersiyer yapıya sahiplerdir; ortak yapı olarak 8 zincirli, hidrojen bağlı antiparalel b-fiçı yapısı ve bir internal ligant bağlanma yüzeyi içerirler. Küçük hidrofobik moleküllere bağlanabilme ve çözülebilir makromoleküllerle kompleksler oluşturabilme ortak molekül özellikleridir.

Serum kreatinin değerindeki yükselme ABY için şu anda en yaygın kullanılan belirteçtir. Serum kreatinin düzeyindeki değişiklikler her zaman renal tübüler hasarla ilişkili olmayabilir. Yaş, cinsiyet, beslenme, kas kütlesi, kas metabolizması, ilaç tedavileri, hidrasyon gibi faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (55-57). Serum kreatinin değerleri renal hasar sonrası 48-72 saat arasında yükselmektedir. Bu yüzden ABY'nin tanısı genellikle geç konulmaktadır.

Akut böbrek yetmezliğini erken tanımak hayati önem taşımaktadır. NGAL böbrek hasarını, serum kreatinin seviyesinin yükselmesinden 24-48 saat önce ortaya çıkarabilmekte, erken tedavi fırsatının yakalanmasını sağlayarak hücresel hasarın geri döndürülmesinde ve kalıcı böbrek yetmezliğinin önlenmesinde önemli rol oynayabilmektedir (58). Bu nedenle ABY erken dönemde gösterecek özgüllüğü ve duyarlılığı yüksek bir biyobelirteç arayışları devam etmektedir. NGAL ABY'de en erken ölçülebilen biyobelirteçtir. I/R hasarı sonrası proksimal tübüllerde eken ve dramatik olarak yükseldiği gösterilmiştir. Böbrek hasarı sonrası idrar ve kanda benzer bir şekilde yükseldiği ve kolerasyon gösterdiği bilinmektedir.

2.5.8. Nitrik Oksit

Nitrik oksit çok sayıda hayati fonksiyonların kontrolünde görev alan bir molekül olup, hücresel fonksiyonların denetiminde otokrin ve parakrin etkilere sahiptir. NO renksiz bir gaz olup, serbest radikal özelliğine sahip basit bir moleküldür. Diğer radikal türlerinin aksine nitrojen ve oksijen atomları üzerinde delokalize bir şekilde bulunur. NO radikalinin bu özelliği sayesinde kendi reaktivitesini baskılar, stabilitesini artırır ve biyolojik koşullarda sentezlendiği yerden daha uzak mesafelere difüzyonunu kolaylaştırır.

NO, haberci bir molekül olup, vazodilatasyon, sinirsel ileti, anti-mikrobiyal ve antitümör aktivitelerini içeren çeşitli fonksiyonlara aracılık etmektedir. Çeşitli hücreler nitrik oksit sentaz enzimiyle L-arjinin oksidasyonu üzerinden NO üretirler (59).

Memelilerde nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve indüklenebilir (iNOS) olmak üzere 3 tür NOS mevcuttur. eNOS ve nNOS yapısal olarak dokularda bulunurlar. iNOS'un ise makrofaj ve diğer hücrelerin aktive olması ile ekspresyonu gerçekleşir. Fonksiyonlar açısından 3 tür NOS birbirlerinden farklıdır.

eNOS ile oluşan NO vazodilatatör etkisi gösterir. eNOS vasa rekta, medüller duktal kanal ve glomerüllerde bulunmaktadır (60, 61). Ayrıca, trombosit agregasyonu ve adezyonunu, nötrofillerin CD11/CD18 adezyon molekülleri ile etkileşimine girmesini engelleyici rolleri vardır (62).

nNOS böbrekte makula densada bulunan hücrelerde üretilmektedir. Tübüloglomerüler geri emilimde rol oynadıkları sanılmaktadır ve eNOS ile karşılaştırıldığında daha azda olsa medüller perfüzyon üzerine etki etmektedir (63).

iNOS damar düz kaslarında, böbrek tübül hücrelerinde ve monosit, makrofaj ve nötrofil gibi immün hücrelerinde üretilmektedir (64-68). iNOS ile oluşan NO konak savunmasında etkilidir. NO bu durumda reaktif oksijen radikalleri ve özellikle peroksinitrit oluşumunu sağlar. Protein tirozin rezidülerinin nitrözasyonu ve mitokondriyal hasara da yol açabilir (69). iNOS kalsiyum bağımsız olmakla birlikte

Ca⁺⁺ varlığı iNOS aktivitesini arttırmaktadır. iNOS ekspresyonu sürekli bir NO üretimine yol açar. Bir kez sentez edildiğinde iNOS tonik olarak aktif kalır ve enzimin yaşam süresi boyunca sürekli olarak NO üretimi devam eder (70).

İzole renal proksimal tübül epitel hücrelerinde hipoksi süresince NOS aktivitesi artar. NOS inhibitörleri bu durumda sitoprotektif rol oynar (71). iNOS gen eksikliği olan farelerin izole proksimal tübüllerinde yapılan çalışmalarda hipoksi ile oluşan hücresel hasarda azalma tespit edilmiştir (72). eNOS ve nNOS yoksun farelerde iskemik hasarlanmada fark tespit edilmemiştir (72). Renal iskemi modelinde NO inhibitörü olan L-NAME verilmesi hasarlanmada artışa yol açtığı bildirilmektedir. Bu durum ise eNOS baskılanmasına bağlanmaktadır (73). Renal iskemi modelinde insan umbilikal ven endotelial hücrelerin verilmesinin ardından eNOS üretiminin arttığı ve hasarın azaldığı görülmüştür (74).

I/R hasarında NO tam olarak mekanizması bilinmesede anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. iNOS'un hasar aşmasında rol oynadığı ve iNOS inhibitörlerinin bu hasarı azalttığı görülmektedir. eNOS'un ise özellikle vasküler regülasyon başta olmak üzere çeşitli mekanizmalarla I/R hasarını önlediği görülmektedir. Ayrıca NO böbrekte özellikle medullada O₂ regülasyonunda da görev almaktadır.

2.6. FOSFODİESTERAZLAR

Siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve cGMP, çeşitli fizyolojik uyarı ve büyüme faktörlerinin iletiminde yer alan kritik önemde hücre içi ikincil mesajcılarıdır. Siklik nükleotidlerin katabolizması, fosfodiesteraz (PDE) enzimi ile düzenlenir. Çoğu hücrede, siklik nükleotid hidroliz kapasitesi, sentez kapasitesini geçer ki bu hücre içi siklik nükleotid seviyesinin büyük ölçüde PDE aktivitesi ile yönetildiğini gösterir.

PDE ailesi, 11 gen ailesi ve 60'dan fazla izoform içeren, geniş ve kompleks bir ailedir. PDE ailesinde sadece cAMP'yi hidrolize edenler PDE4, PDE7 ve PDE8,

sadece cGMP'yi hidrolize edenler PDE5, PDE6 ve PDE9 her ikisini hidrolize edenler ise PDE1, PDE2, PDE3, PDE10 ve PDE11 dir.

cGMP fare glomerüllerinde PDE5 daha az oranda da PDE1 tarafından yıkıma uğrar. Tubüllerde cGMP, PDE1 ve PDE5 tarafından eşit oranda yıkılır (75). PDE5, cGMP yıkımını sağlayan bir enzimdir ve inhibisyonu dokuda cGMP artışına neden olmaktadır. cGMP, proteinkinaz-G'yi aktive ederek birçok hücre sel işlevi tetiklemektedir. cGMP oluşumunu sağlayan enzim guanilat siklazdır. Düz kaslar dışında da (vücuttaki hemen hemen tüm hücrelerde) cGMP ikinci haberci olarak rol oynamaktadır ve birçok hücre işlevinin tetiklenmesi sitozolik cGMP düzeylerine bağlıdır. Hücre içi cGMP düzeylerini, sentezde guanilat siklaz, yıkımda ise PDE enzimleri belirlemektedir.

PDE5 enzimi, damar ve korpus kavernozum düz kasları dışında barsak düz kaslarında, trombositlerde ve kondrositlerde de bulunmaktadır (76).

2.6.1. Udenafil

Udenafil, Sildenafil, Vardenafil, Tadalafil, Avanafil, Microdenafil ve Lodenafil PDE5'in güçlü ve selektif bir inhibitörleridir.

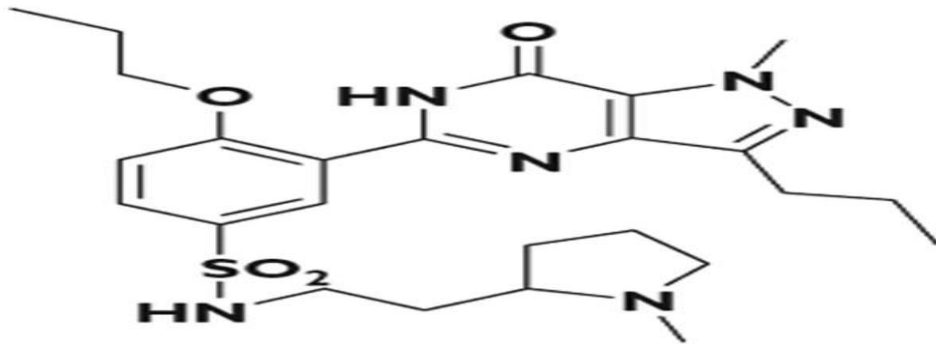
Udenafil korpus kavernozumda yer alan cGMP'yi metabolize eden majör izoenzim PDE5'i selektif olarak inhibe ederek etkisini gösterir. cGMP yıkımının inhibe edilmesi, endotelden NO salınımı ile sinerjik etki gösterir ve böylece penil düz kasta gevşemeyi sağlar ve artırır (76).

Udenafil, Dong-A Pharmaceutical Co Ltd. tarafından ED için üretilmiş seçici, ağızdan alınan PDE5 inhibitörü olup aynı zamanda cGMP hidrolizini de sağlamaktadır (77). Günümüze kadar yapılmış çalışmalarda sildenafille göre daha etkin PDE5 inhibisyonu ve daha az retinada bulunan PDE6 ve kalpte bulunan PDE3 seçiciliği gösterilmiştir (77). Ayrıca, udenafilin yarı ömrü, karaciğerde daha yavaş metabolize olduğundan sildenafilden daha uzundur (78). Tmax süresi 1-1,5 saat, T_{1/2} süresi ise 11-13 saattir. Tadalafilin aksine udenafil PDE11'i inhibe etmez. Udenafil,

maksimum plazma konsntrasyonuna yaklaşık 1 saatte ulaşp etkisini kısa sürede göstermeye başlayan ve 24 saatin üzerinde etkinlik gösteren bir PDE5 inhibitörüdür (77). Ayrıca udenafilin nNOS mRNA ile eNOS ve nNOS protein ekspresyonunu anlamlı derecede arttırdığı saptanmıştır (79).

Udenafilin, insanlarda yapılan metabolizma çalışmalarında, CYP3A4 tarafından DA-8164'e metabolize edildiği ve CYP450'nin zayıf bir baskılayıcısı olduğu gösterilmiştir (80). Sıçan plazma ve idrarında değişik pH solüsyonlarında rölatif olarak değişmeden durabildiği gösterilmiş ve tavşan plazmasıyla kan hücreleri arasında hızla dengeye ulaştığı saptanmıştır (81).

En çok görülen yan etki ise flushing ve baş ağrısı olarak bildirilmiştir. Görmede renk bozukluğu ve miyalji bildirilmemiştir. Ayrıca kan basıncında, elektrokardiyogramda ve laboratuvar testlerinde klinik anlamlı farklılık görülmemiştir (82). Antihipertansif alan hastalarda udenafil kullanımının ED tedavisinde güvenli ve etkin bir seçenek olduğu gösterilmiştir (83). DM tanılı ED hastalarında udenafilin başarılı bir tedavi seçeneği olduğu ve yan etkiler açısından güvenli olduğu gösterilmiştir (84).



Şekil 2. Udenafil'in moleküler yapısı

2.7. MANNİTOL

İntravenöz diüretikler sıklıkla akut sıvı yönetimini ayarlamak için kullanılmaktadır (85). ABY olan yoğun bakım hastalarında sıklıkla loop diüretikler kullanılmaktadır. Yapılan meta analizler sonucunda günümüzde loop diüretiklerin

akut böbrek hasarını önlemek için kullanılması önerilmemektedir (86, 87). Ozmotik diüretiklerin akut böbrek hasarını önlemedeki rolleri tam olarak anlaşılamamıştır.

Mannitol ozmotik bir diüretiktir ve potansiyel böbrek koruyucu etkilerinden dolayı akut böbrek hasarını önlemek için kullanılmaktadır. Bu böbrek koruyucu etkileri tübülerde tıkanıklığa neden olan atıkların uzaklaştırılması, nefrotoksik maddelerin tübüllerdeki konsantrasyonunun azaltılması ve tübüler maddelerin su yardımıyla uzaklaştırılması olabilir (88). Ek olarak mannitol renal kan akımını arttırmaktadır ve buna bağlı olarak reperfüzyon sırasında serbest radikallerin süpürülmesini sağlamaktadır (88). Mannitolün OH^- radikalinin oluşumunu önlemediği fakat özellikle OH^- radikalinin süpürülmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Akut böbrek hasarı oluşturulan hayvan modellerinde proflaktik olarak mannitol kullanımının etkili olduğu gösterilmiştir (89, 90). Bununla beraber bazı çalışmalar mannitolün böbrek hasarını önlemedeki etkisinde çelişkili sonuçlarda göstermiştir (91-94). Ayrıca yüksek dozda mannitol kullanımının kendisinde böbrek hasarına neden olabileceği belirtilmektedir (95-97).

2.8. İSKEMİ REPERFÜZYONDA DNA HASARI

Aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak SOR meydana gelir. SOR oluşumunu organizmanın yapısal ve fonksiyonel biyomoleküllerinin oksidatif stres altına girmesine yol açar. Lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi DNA da SOR'un saldırısına maruz kalır. İnsan bedeninin her hücresindeki DNA, günde yaklaşık 10.000 kez serbest radikal saldırısına maruz kalmaktadır. Serbest radikaller DNA yapısındaki deoksiriboz fosfat iskeletinde hasara, purin ve pirimidin bazların spesifik modifikasyonuna ve DNA-protein çapraz bağlanmalarına neden olur (98, 99). Farklı radikal metabolitlerin DNA hasarlarına neden oluş mekanizmaları da farklıdır. Yapılan çeşitli araştırmalar süperoksit anyonu ve onun dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksitin doğrudan DNA ile eşleşerek baz oksidasyonuna ve zincir kırıklarına yol açmadığı, ancak geçiş metal iyonlarının varlığında Fenton reaksiyonu ile aktif bir serbest radikal olan hidroksil radikalinin DNA hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir (100, 101). Singlet oksijen ise, guanine spesifik olarak bağlanarak hasar oluşturur (102). DNA hasarlarının oluşumunda yer

alan endojen reaksiyonlar; oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksit veya nitrojen dioksit (NO₂), peroksinitrit (ONOO.), dinitrojen trioksit (N₂O₃) ve nitrik asit (HNO₃) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler.

2.8.1. Komet Önekleme Yöntemi

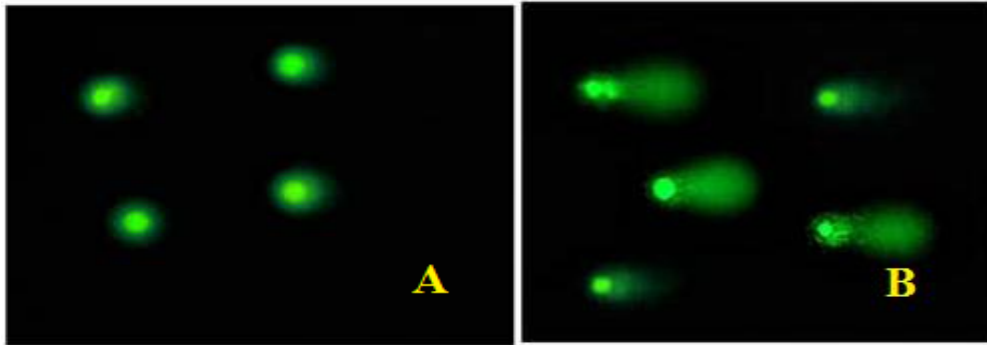
DNA hasarının hassas bir şekilde ölçülmesine olanak tanıyan teknikler günümüzde büyük önem kazanmıştır. Tek hücreli jel elektroforezi veya sıklıkla tercih edilen diğer adıyla “Comet Assay” yöntemi son yıllarda genişleyen uygulama alanı, güvenilirliği ve uygulaması kolay olması bakımından kimyasal ve fiziksel etmenlerin canlılar üzerinde yol açtığı genotoksik ve sitotoksik etkilerin bir göstergesi olan DNA hasar seviyelerinin ölçülmesini sağlayan önemli bir metottür. Komet yönteminin temel prensibi kimyasal ve fiziksel nedenlerle oluşan genotoksik ve sitotoksik ajanların canlı hücreleri üzerindeki etkilerini, hücrelerin DNA’larını tek tek inceleyerek tespit etmektir. Elde edilen veriler hem hücrede meydana gelen DNA hasarının ne kadar olduğunu belirler hemde hücrenin hangi yapıya geçtiğini ifade eder. Basitliği, hızlılığı, hassaslığı, çok yönlülüğü ve ekonomisi açısından ilgi çeken bir metottür. Komet DNA kırıklarını ölçmek için kullanılan bir yöntem olmasına rağmen, lezyona spesifik endonükleazların varlığı, örneğin UV ile indüklenmiş primidin dimerleri gibi okside olmuş bazların ve alkilasyon hasarının belirlenmesine de olanak tanır.

Komete, DNA içeren tek hücreler lam üzerinde hazırlanan agarozla kapladıktan sonra, zarların parçalanıp çekirdekte bulunan süperkoil DNA’nın serbestleşmesi için deterjan ve yüksek tuz konsantrasyonuyla yapılan lizis işlemine tabi tutulur. Böylece DNA, yapılacak olan elektroforez işlemi için immobilize olmuş olur. Alkali ortamda süperkoil yapının gevşeyerek açılması ve kırıkların ortaya çıkması sağlandıktan sonra elektroforezle yürütülür. Elektroforez esnasında hasarsız DNA bütünlüğünü kaybetmeden yürür ve komet yani kuyruk oluşturmaz, oysa hasarlı DNA’ların fragmenleri oluşan hasardan dolayı farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olduklarından elektriksel alanda farklı hızlarda anoda doğru hareket ederler ve kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar. DNA molekülleri

ethidium bromid gibi DNA spesifik boyalarla boyanıp floresan mikroskop altında incelendiğinde hasarın derecesine göre DNA'lar dairesel formdan kuyruklu yıldız benzer forma kadar çeşitli derecelerde görüntüler oluşturduklarından yöntemle İngilizce "kuyruklu yıldız" anlamına gelen "Comet Assay" adı verilmiştir.

Eğer DNA hasarı oluşmaya başlamış ise migrasyon uzunluğu fargmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali-labil bölgelerin seviyesine bağlı olarak değişiklik gösterdiğinden, normalde düzgün kenarlı olan görüntü DNA kırıklarının çekirdek dışına göçünün nedeniyle düzensiz kenarlı bir görünüm alır. Hasarın şiddetine göre merkezden kenara doğru uzama olur. Bu görünüme stretch ya da low migration denir. Hasar arttıkça hücreler kuyruklu yıldız şeklini alır. Bu uzama hasar ile doğru orantılıdır. Ayrıca kuyruktaki floresan yoğunluğu da hasarın derecesine paraleldir.

DNA parçaları baş ve kuyruk olarak iki ana bölüme ayrılmakta, baş ve kuyruk uzunluğu ve baş ve kuyruk kısmındaki rölatif fluoressan yoğunluğu, kuyruk Momenti ve Tail Migration kullanılan parametreler arasındadır. Yapılan çalışmalarda baş ve kuyruk uzunluğunun çok fazla anlamlı olmadığı ortaya çıkmıştır; sadece kuyruklar ilk oluşmaya başlar ve genellikle de düşük hasar seviyesini gösteren dönemde artmaktadır. Ardından, hasar miktarı arttıkça kuyruk yoğunluk bakımından artmaktadır. Rölatif kuyruk yoğunluğu en kullanışlı parametredir ve kırılma frekansı ile doğru bir orantı göstermektedir. Arka zemin ayarlarından etkilenmez ve olası en geniş aralıkta DNA hasarının fark edilmesine olanak tanır.



Resim 1. Komet örnekleme görüntüsü A: normal hücreler, B: hasarlı hücreler

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır.

3.2. DENEY HAYVANLARI VE DENEY ŞARTLARI

Çalışmada Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleti Laboratuvarından sağlanan ağırlıkları ortalama 281-330 gr olan, toplam 64 adet, Wister Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanların barınması, tüm deneysel cerrahi girişimler, ilaç uygulamaları ve sakrifikasyon (kansızlaştırma) işlemleri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleti Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deneyleti hayvanları oda sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, nem oranı %50 ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık siklus olacak şekilde barındırıldı. Barınma süresince deneyleti hayvanları standart beslenme (yem ve su), barınma ve bakım koşullarına tabi tutuldu. Deneyleti standart ve hijyenik laboratuvar koşullarında yapıldı.

Biyokimyasal analizler Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, patolojik incelemeler ise Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Komet örnekleme incelemeleri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi.

3.3. ÇALIŞMA GRUPLARI

Deneyleti hayvanları, her grupta 16 rat olacak şekilde toplam 4 gruba ayrıldı. Her grup kendi içinde 8'erli alt gruplara ayrılarak 0. gün ve 1. gün örnekleri alındı. Bütün deneklere 10 mg/kg ksilazine (Alfazyne, Alfasan International B.V., Türkiye) + 90 mg/kg ketamin HCl (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) intraperitoneal enjeksiyon ile genel anestezi uygulandı. Gereklik halinde idame dozlar yapıldı. Deneklerin abdominal bölgeleri traş edilip %10 povidon-iyot kompleksiyle sterilize

edildi. Abdominal bölgeye orta hat üzerinde yaklaşık 3-4 cm'lik cilt kesisi uygulandı. Deneklerin vücut ısısını koruma amacıyla sıcak ped ve ısıtıcı lamba kullanıldı. Dene süresince ratların spontan solunumu takip edildi.

3.3.1. Grup 1: Kontrol Grubu

Bu gruptaki deneklere herhangi bir tedavi uygulanmadı. Bu deneklere abdominal orta hat laparotomi ile karın içi görünür hale getirildikten sonra karın içi organlar kenarlara doğru çekilerek retroperitona ulaşıldı. Hemen sonra sağ nefrektomi uygulandı.

1. alt gruptakilere 1 saat 45 dk sonra sol nefrektomi yapıldı. Böbrek dokusu patoloji, biyokimya ve fizyolojik çalışma için gerekli koşullar sağlanarak ayrıldı. Ardından mesane içerisine direkt ponksiyon yapıldı ve idrar örneği alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örneği alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

2. alt gruptakilere 1saat 45 dk sonra orta hat insizyonu 2/0 kromik katgüt ile kapatıldı ve ayıldıktan sonra denekler metabolik kafese konuldu. 24 saatlik bekleme süresi sonrası toplanan idrar örnekleri alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından tekrar anestezi uygulandı ve kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örnekleri biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

3.3.2. Grup 2: İskemi Reperfüzyon Grubu (I/R)

İskemi-reperfüzyon grubunda deneklere herhangi bir tedavi uygulanmadı. Bu deneklere abdominal orta hat laparotomi ile karın içi görünür hale getirildikten sonra karın içi organlar kenarlara doğru çekilerek retroperitona ulaşıldı. Hemen sonra sağ nefrektomi uygulandı.

1. alt gruptakilere sol böbrek pedikülü (arter ve ven beraber) non-travmatik plastik mikrovasküler klempe ile 45 dakika klempe edilerek böbrek dokusu iskemiyeye maruz bırakıldı. İskemi süresini takiben sol böbrek pedikülündeki klempe çıkarılarak 1 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. 1 saatlik reperfüzyon sonunda böbrek dokusu patoloji, biyokimya ve fizyolojik çalışma için gerekli koşullar sağlanarak ayrıldı. Ardından mesane içerisine direkt ponksiyon yapıldı ve idrar örneği alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örneği alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

2. alt gruptakilere sol böbrek pedikülü (arter ve ven beraber) non-travmatik plastik mikrovasküler klempe ile 45 dakika klempe edilerek böbrek dokusu iskemiyeye maruz bırakıldı. İskemi süresini takiben sol böbrek pedikülündeki klempe çıkarılarak 1 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. 1 saatlik reperfüzyon sonunda orta hat insizyonu 2/0 kromik katgüt ile kapatıldı ve ayıldıktan sonra denekler metabolik kafese konuldu. 24 saatlik bekleme süresi sonrası toplanan idrar örnekleri alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından tekrar anestezi uygulandı ve kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örnekleri biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

3.3.3. Grup 3: Mannitol + İskemi Reperfüzyon Grubu (Mannitol+I/R)

. Bu deneklere abdominal orta hat laparotomi ile karın içi görünür hale getirildikten sonra karın içi organlar kenarlara doğru çekilerek retroperitona ulaşıldı. Hemen sonra sağ nefrektomi uygulandı.

1. alt gruptakilere 1 cc %20 mannitol ppd enjektörü ile yavaş infüzyonla vena cava inferiorundan intravenöz olarak uygulandı ve 15 dk beklendi. Ardından sol böbrek pedikülü (arter ve ven beraber) non-travmatik plastik mikrovasküler klempe ile 45 dakika klempe edilerek böbrek dokusu iskemiyeye maruz bırakıldı. İskemi süresini takiben sol böbrek pedikülündeki klempe çıkarılarak 1 saat reperfüzyona maruz

bırakıldı. 1 saatlik reperfüzyon sonunda böbrek dokusu patoloji, biyokimya ve fizyolojik çalışma için gerekli koşullar sağlanarak ayrıldı. Ardından mesane içerisine direkt ponksiyon yapılarak idrar örneği alındı ve biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örneği alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

2. alt gruptakilere 1 cc %20 mannitol ppd enjektörü ile yavaş infüzyonla vena cava inferiordan intra venöz olarak uygulandı ve 15 dk beklendi. Ardından sol böbrek pedikülü (arter ve ven beraber) non-travmatik plastik mikrovasküler klemp ile 45 dakika klempe edilerek böbrek dokusu iskemiye maruz bırakıldı. İskemi süresini takiben sol böbrek pedikülündeki klemp çıkarılarak 1 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. 1 saatlik reperfüzyon sonunda orta hat insizyonu 2/0 kromik katgüt ile kapatıldı ve ayıldıktan sonra denekler metabolik kafese konuldu. 24 saatlik bekleme süresi sonrası toplanan idrar örnekleri alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından tekrar anestezi uygulandı ve kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örnekleri biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

3.3.4. Grup 4: Udenafil + İskemi Reperfüzyon Grubu (Udenafil+I/R)

Bu deneklere işlemden 1 saat önce nazogastrik tüp ile 10mg/kg udenafil süspansiyonu oral olarak verildi. Ardından abdominal orta hat laparotomi ile karın içi görünür hale getirildikten sonra karın içi organlar kenarlara doğru çekilerek retroperitona ulaşıldı. Hemen sonra sağ nefrektomi uygulandı.

1. alt gruptakilere sol böbrek pedikülü (arter ve ven beraber) non-travmatik plastik mikrovasküler klemp ile 45 dakika klempe edilerek böbrek dokusu iskemiye maruz bırakıldı. İskemi süresini takiben sol böbrek pedikülündeki klemp çıkarılarak 1 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. 1 saatlik reperfüzyon sonunda böbrek dokusu patoloji, biyokimya ve fizyolojik çalışma için gerekli koşullar sağlanarak ayrıldı. Ardından mesane içerisine direkt ponksiyon yapılarak idrar örneği alındı ve biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından kalp sağ

karıncığa ponksiyon yapılarak kan örneği alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

2. alt gruptakilere sol böbrek pedikülü (arter ve ven beraber) non-travmatik plastik mikrovasküler klempe ile 45 dakika klempe edilerek böbrek dokusu iskemiye maruz bırakıldı. İskemi süresini takiben sol böbrek pedikülündeki klempe çıkarılarak 1 saat reperfüzyona maruz bırakıldı. 1 saatlik reperfüzyon sonunda orta hat insizyonu 2/0 kromik katgüt ile kapatıldı ve ayıldıktan sonra denekler metabolik kafese konuldu. 24 saatlik bekleme süresi sonrası toplanan idrar örnekleri alınarak biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Ardından tekrar anestezi uygulandı ve kalp sağ karıncığa ponksiyon yapılarak kan örnekleri biyokimyasal inceleme için gerekli koşullar oluşturularak ayrıldı. Denekler tamamen kansızlaştırılarak sakrifiye edildi.

3.4. DOKU, KAN VE İDRAR ÖRNEKLERİNİN AYRILMASI

Deney sonunda alınan kan örnekleri 5000 devir/dak da 5 dakika santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Biyokimyasal değerlendirmeler (Kr, BUN, MDA, NO, NGAL) için -20°C 'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

Sol böbrekler dikey olarak uzun eksende ikiye bölündü ve posterior yarısı histolojik çalışmalar için %10 tamponlu formaldehit ile fiksasyon uygulanarak muhafaza edildi. Kalan anterior yarısı kısa eksende tam ikiye bölünerek alt yarısı biyokimyasal değerlendirmeler (MDA, NO, NGAL) için -80°C'de derin donduruya konuldu. Üst yarısı ise fizyolojik incelemeler (Komet örnekleme) için -80°C'de derin donduruya konuldu.

İdrar örnekleri 5000 devir/dak da 3 dakika santrifüj edildi. Biyokimyasal değerlendirmeler (Kr klirensi, NO, NGAL) için -20°C'de derin donduruya konuldu.

3.5. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.5.1. Kreatinin, BUN, İdrar Kreatini ve Kreatinin Klirensinin Tayini

Serum ve idrar örnekleri -20°C'den çıkarılarak oda sıcaklığında erimesi sağlandı. Ardından 24 saatlik idrar hacimleri kaydedildi. Serum Kr, BUN ve idrar Kr düzeyi Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya laboratuvarında cihazı ile otomatik sistemle hesaplandı ve sonuçlar alındı. Kr klirensi aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{Kr. Klirensi (ml/dk)} = \frac{\text{İdrar kreatinini (mg/dl)} \times \text{Günlük idrar volümü (ml)}}{\text{Serum kreatinini (mg/dl)} \times 1440}$$

3.5.2. MDA Düzeyi Tayini

3.5.2.1. MDA Düzeyi İçin Örneklerinin Hazırlanması

-80 °C'de saklanan dokular çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Ardından 10 mg doku 300 µl MDA lysis buffer ile homojenize edildi. Oda sıcaklığında 13000g'de 10 dk santrifüj edildi. Final hacim 200 µl süpernatant kısmı alındı.

-20 °C'de saklanan serum örnekleri oda sıcaklığına getirildi. 10 µl seruma 125 µl Phosphotungstic asit solüsyonu (PAS) eklendi. 5 dk oda ısısında bekletildi. Ardından 13000g'de 3 dk santrifüj edildi. Ardında pellet kısmı kullanıldı. Final hacim 200 µl olacak şekilde ddH₂O ilave edildi.

3.5.2.2. Doku ve Serum İçin Çalışma Prosedürü

BioVision markalı Lipid Peroxidation (MDA) Colorimetric/Fluorometric Assay Kit ile yapılan MDA çalışmasında standartlar prospektüse uygun olarak hazırlandı. 200 µl'lik standart ve örneklere 600 µl thiobarbutic asit (TBA) eklendi. Ardından 95°C'de 1 saat inkübe edildi. 1 saat sonunda buz banyosuna alınarak 10

dk beklendi. 200 µl'lik örnekler alınarak plağa yerleştirildi. Kayto RT-2100c Microplate Reader cihazı kullanılarak 532 nm dalga boyunda absorbans değerleri okutuldu. Sonuçların çıktısı alındı. Bulunan absorbans değerleri kullanılarak konsantrasyonlar end point değerlerine göre hesaplandı.

3.5.3. NO Düzeyi Tayini

3.5.3.1. NO Düzeyi İçin Örneklerinin Hazırlanması

-80 °C'de saklanan dokular çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Ardından 10-100 mg doku 2-3 kat assay buffer ile sulandırıldı. Homojenat 4°C'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant kısmı alınarak çalışmada kullanıldı.

-20 °C'de saklanan serum ve idrar örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Serum ve idrar örnekleri 10 kat dilüe olacak şekilde assay buffer ile sulandırıldı.

Çalışma sırasında Nitrat redüktaz ve enzim kofaktör stabil olmaları için buz üzerinde bekletildi.

3.5.3.2. Doku, Serum ve İdrar İçin Çalışma Prosedürü

BioVision markalı Nitric Oxide Colorimetric Assay Kit ile yapılan NO çalışmasında standartlar 2 kat dilüe olacak şekilde prospektüse uygun olarak hazırlandı. Ardından standart, kör ve örnekler her biri 85 µl olacak şekilde plaklara konuldu. Üzerlerine 115 µl assay buffer eklendi. 5 µl Nitrat redüktaz eklendi. Ardından 5 µl enzim kofaktör eklendi ve plakların üstü kapatılarak oda sıcaklığında 1 saat inkübe edildi. 5 µl enhancer eklenerek 10 dk inkübe edildi. Ardından sırayla 50 µl Griess Reagent R1 ve 50 µl Griess Reagent R2 eklendi. Oda sıcaklığında 10 dk beklendi. Kayto RT-2100c Microplate Reader cihazı kullanılarak 540 nm dalga boyunda absorbans değerleri okutuldu. Sonuçların çıktısı alındı. Bulunan absorbans değerleri kullanılarak konsantrasyonlar end point değerlerine göre hesaplandı.

3.5.4. NGAL (Lipokalin 2) Düzeyi Tayini

3.5.4.1. NGAL Düzeyi İçin Örneklerinin Hazırlanması

-80 °C'de saklanan dokular çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Ardından dokular 1/10 olacak şekilde sample diluent buffer ile homojenize edildi. Homojenat 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası oluşan süpernatant kısmı alınarak çalışmada kullanıldı.

-20 °C'de saklanan serum ve idrar örnekleri oda sıcaklığına getirildi. Serum ve idrar örnekleri 10 kat dilüe olacak şekilde sample diluent buffer ile sulandırıldı.

Medium target protein konsantrasyonu hesaplanması hedeflendiği için örnekler 1/10 oranında dilüe edildi.

3.5.4.2. Doku, Serum ve İdrar İçin Çalışma Prosedürü

Boster Immunoleader Rat Lipocalin-2/NGAL ELİSA Kit kullanılarak standartlar ve kontroller prospektüse uygun şekilde hazırlandı. NGAL antibody, Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC), phosphate buffer saline (PBS) prospektüse uygun olarak hazırlandı. TMB color developing agent ve TMB stop solüsyonu hazır olarak kullanıldı.

Ardından standart, kontrol, kör ve örnekler her biri 0,1 ml olacak şekilde plaklara konuldu. Daha sonra 37 °C'de 90 dk inkübe edildi ve yıkama yapılmadı. Ardından biotinlenmiş antibodiler eklendi ve 37 °C'de 60 dk inkübe edildi. Plaklar 3 kez 0,01M PBS ile yıkandı. Ardından ABC working solüsyonu eklenerek 37 °C'de 30 dk inkübe edildi. Plaklar 5 kez 0,01M PBS ile yıkandı. Ardından TMB color developing agent eklenerek karanlık odada 37 °C'de 30 dk inkübe edildi. Daha sonra TMB stop solüsyonu eklendi. Kayto RT-2100c Microplate Reader cihazı kullanılarak 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri okutuldu. Sonuçların çıktısı alındı. Bulunan absorbans değerleri kullanılarak konsantrasyonlar end point değerlerine göre hesaplandı.

3.6. PATOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

3.6.1. Histomorfolojik değerlendirme

Böbrek dokuları %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda 24 saat fikse edildikten sonra, doku takip işlemi yapıldı. Böbrek dokularından hazırlanan parafin bloklarından 4 µm kalınlığındaki kesitler hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandı. H-E boyalı kesitler korteks ve medüller bölgelerdeki böbrek tübüllerinde tübül nekroz, tübül lümen dilatasyonu, tübül hücre vakuolizasyonu, intratübül silindirler, tübül hücre nekrozu ve interstisyel fibrozisi içeren histopatolojik bulgular açısından Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda aynı patolog tarafından kör olarak değerlendirildi (2). Böbrek tübüllerindeki bu histopatolojik bulguların yarı-kantitatif değerlendirilmesi aşağıdaki kriterlere göre yapıldı:

0: normal

0,5: küçük fokal bir alanda hasar mevcut

1: %10'dan daha az kortikal hasar mevcut

2: %10-25'inde kortikal hasar mevcut

3: %26-75'inde kortikal hasar mevcut

4: %76-100'ünde kortikal hasar mevcut

3.7. FİZYOLOJİK DEĞERLENDİRMELER

3.7.1. Komet örnekleme (Tek Hücre Elektrofrezisi) İçin Dokuların Hazırlanması

Cell Biolabs OxiSelect Comet Assay Kit ve Santacruz cOmplete EDTA-Free protease inh cocktail tablets kullanılarak komet örnekleme çalışması yapıldı. Dokular -80 °C'den çıkarılarak buzlu zemin üstünde 1mm kalınlığında 2 mm uzunluğunda homojen kesitler alındı. Örnekler ince makas ve bistüri yardımıyla küçük parçalara

ayrıldı. Bu şekilde hazırlanan doku örnekleri 75 mM NaCl ve 24 mM'lık Na EdTA içeren homojenizasyon sıvısına konarak 500-800 RPM dönme hızı ile bir homojenizatör yardımı ile homojenizi edildi. Hücre çekirdekleri elde edilmek için 700 g de 10 dk 0 °C'de santrijüj edildi. Elde edilen prespitat 1 gr doku başına 1 ml homojenizasyon bufferı ile resüspende edildi. Elde edilen bu süspansiyondan 10 mikrolitre alınarak LMP (Low melting Point) agara eielve edildi (final hacim 100 mikrolitre). LMP+Homojenet karışımında 75 mikrolitre alınarak derhal comet assay slaytlarına alındı. Her gruptan hücre kaldırıcı ile hücreler kaldırıldı. 1500 g'de 5 dakika santrifuj edildi ve 75 µl % 0,5'lik Ca²⁺ ve Mg⁺ içermeyen PBS (fosfat tampon tuzu) ile 37°C'de hazırlanan "Low melting" agaroz (LMA) ile resüspanse edildi. Önceden % 1'lik "normal melting" agaroz (NMA) ile kaplanmış olan lam üzerine ince bir tabaka halinde döküldü ve üzerine lamel kapatıldı. LMA buz üzerinde 30 dk beklendikten sonra lamel kaldırılıp lam 3. tabakayı oluşturan 70 µl % 0,5'lik LMA ile kaplandı ve üzerine lamel kapatılıp tekrar buz üzerinde 10 dakika beklendi. 10 dakika sonra lamel kaldırılıp lam hücresel proteinleri uzaklaştırmak amacıyla, pH'ı 10 olan soğuk lizis bağlama tamponu ile 60 dakika boyunca 4⁰C'de muamele edildi. Ardından, lamlar yatay jel elektroforezine aktarıldı ve yeni hazırlanmış alkalın elektroforez tamponunda (Distile su, 200 mM EDTA ve 10 N sodyum hidroksit, pH 13) 30 dakika süre ile inkübe edildi. Elektroforez işlemi 4°C'de, 300 mA'de gerçekleştirildi ve işlem 30 dakika boyunca devam etti. Elektroforez işlemini takiben, lamlar nötralizasyon tamponu (0.4M Tris-HCl, pH 7.5) ile alkalın ve deterjanları uzaklaştırmak amacıyla 3 kez 5 dakika 4°C'de yıkandı. Bu işlemler dış kaynaklı DNA hasarını önlemek amacıyla karanlık bir ortamda gerçekleştirildi. Daha sonra lamlar 60 µl etidyum bromid (2µl/ml) ile boyanarak fluoresan mikroskobunda incelendi. "Comet assay IV system (AutoComet)" programıyla DNA hasarı değerlendirildi.

3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMELER

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizleri SPSS 17.0 paket programı (SPSS Inc, USA) ile yapıldı. Sürekli değişkenler ortalama ± standart sapma, minimum-maksimum değerler olarak verildi. Bağımsız grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanıldı. Farklılık bulunan

gruPlarda Post Hoc karşılaştırmalar Bonferroni Düzeltmeli Mann Whitney U testi ile incelendi. Bağımlı grup karşılaştırmalarında Wilcoxon Eřleřtirilmiř İki Örnek Testi kullanıldı. Testlerde p değerinin 0.05'in altında olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. BİYOKİMYASAL SONUÇLAR

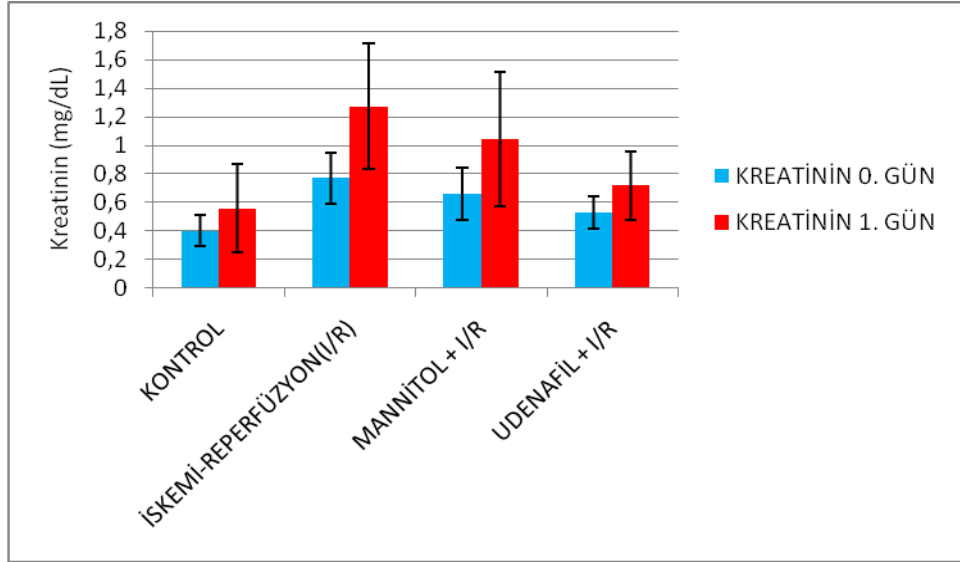
4.1.1. Kreatinin Düzeyi

Grupların 0. gün kan Kr düzeyleri kontrol grubunda $0,4 \pm 0,11$ mg/dl, I/R grubunda $0,77 \pm 0,18$ mg/dl, mannitol+I/R grubunda $0,66 \pm 0,18$ mg/dl, udenafil+I/R grubunda $0,53 \pm 0,11$ mg/dl bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar arasında I/R grubunda Kr değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasında bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R grubunda Kr değeri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunurken bu artış udenafil+I/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmazken Mannitol+I/R grubunda istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R grubunda Kr değeri I/R grubuna göre daha düşük bulunurken bu fark mannitol+I/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmazken udenafil+I/R grubunda istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda Kr değeri mannitol+I/R grubuna göre daha düşük bulunurken bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

1. gün kan Kr düzeyleri kontrol grubunda $0,56 \pm 0,31$ mg/dl, I/R grubunda $1,27 \pm 0,44$ mg/dl, mannitol+I/R grubunda $1,04 \pm 0,47$ mg/dl, udenafil+I/R grubunda $0,72 \pm 0,24$ mg/dl bulunmuştur ($p=0,003$). Gruplar arasında I/R grubunda Kr değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R grubunda Kr değeri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunurken bu fark udenafil+I/R ve mannitol+I/R gruplarında istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R grubunda Kr değeri I/R grubuna göre daha düşük bulunurken bu fark mannitol+I/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmazken udenafil+I/R grubunda istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda Kr değeri mannitol+I/R grubuna göre daha düşük bulunurken bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Grupların kendi içinde 0. gün ve 1. gün kan Kr değerleri karşılaştırıldığında bütün gruplarda Kr değerinde yükselme izlenmiştir. Bu artış kontrol ve udenafil+I/R gruplarında anlamlı bulunmazken I/R ve mannitol+I/R gruplarında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (kontrol $p=0,06$, I/R $p=0,012$, mannitol+I/R $p=0,017$, udenafil+I/R $p=0,05$).

Grupların Kr düzeyleri Şekil 3 te gösterilmiştir.

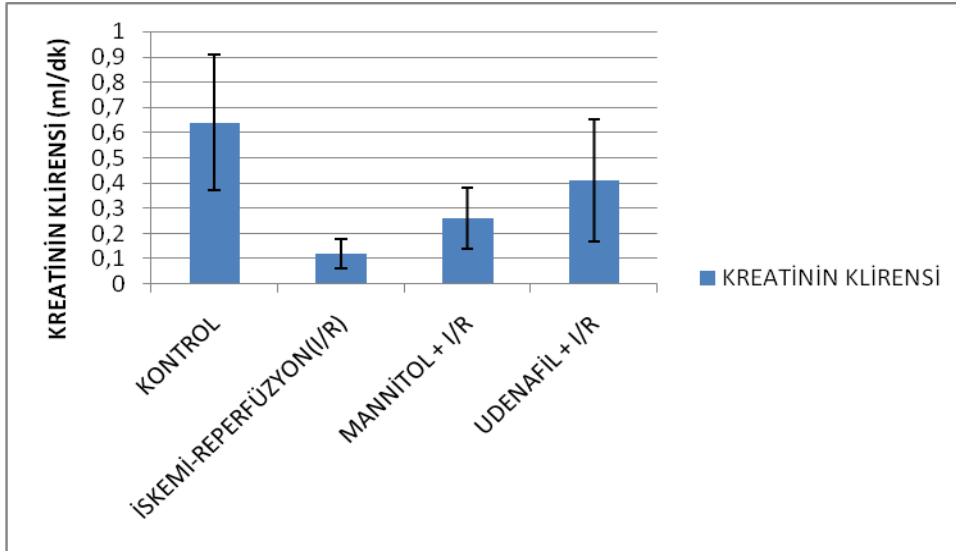


Şekil 3. Grupların 0. ve 1. gün Kr düzeyleri

4.1.2. Kreatinin Klirensi

Grupların 1. gün Kr klirensi düzeyleri kontrol grubunda $0,64 \pm 0,27$ ml/dk, I/R grubunda $0,12 \pm 0,06$ ml/dk, mannitol+I/R grubunda $0,26 \pm 0,12$ mg/dl, udenafil+I/R grubunda $0,41 \pm 0,24$ ml/dk bulunmuştur ($p=0,0001$). I/R grubunda Kr klirensi en düşük düzeyde bulunmuş olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R grubunda Kr klirensi kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda Kr klirensi kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında Kr klirensi I/R grubuna göre daha yüksek bulunmuş olup bu fark mannitol+I/R grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmazken udenafil+I/R grubunda istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda Kr klirensi mannitol+I/R grubuna göre daha yüksek olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır.

Grupların Kr klirensi düzeyleri Şekil 4 te gösterilmiştir.

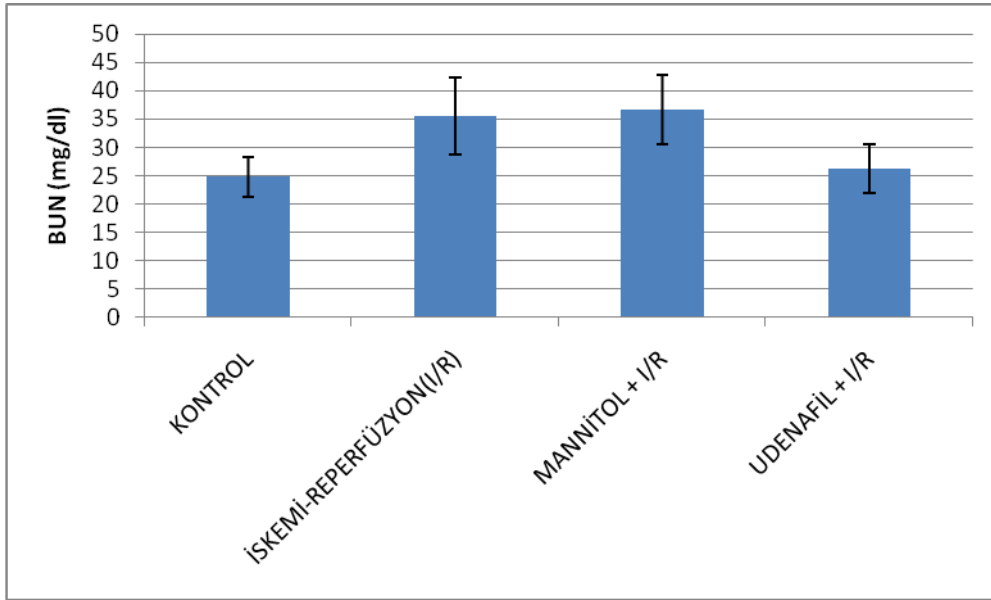


Şekil 4. Grupların Kr klirensi düzeyleri

4.1.3 Kan Üre Azotu (BUN)

Grupların 0. gün serum BUN düzeyleri kontrol grubunda $24,78 \pm 3,61$ mg/dl, I/R grubunda $35,46 \pm 6,82$ mg/dl, mannitol+I/R grubunda $36,69 \pm 6,16$ mg/dl, udenafil+I/R grubunda $26,25 \pm 4,37$ mg/dl bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar arasında BUN düzeyi en yüksek mannitol+I/R grubunda saptanmış olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında I/R ve mannitol+I/R gruplarında BUN düzeyi yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubuna göre udenafil+I/R grubunda BUN düzeyi yüksek olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Udenafil+I/R grubunda BUN düzeyi I/R ve mannitol+I/R daha düşük olup I/R gurubuyla arasında istatistiksel olarak anlamlı saptanmamasına rağmen mannitol+I/R gurubuyla arasında istatistiksel anlamlılık saptanmıştır.

Grupların serum BUN düzeyleri Şekil 5 te gösterilmiştir.

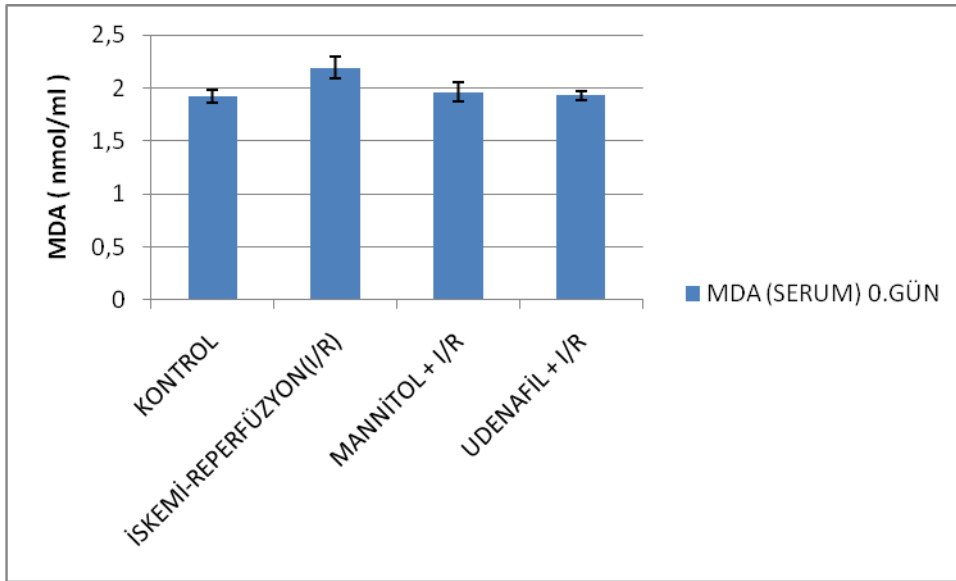


Şekil 5. Grupların serum BUN düzeyleri

4.1.4. MDA Düzeyi

Grupların serum MDA düzeyleri kontrol grubunda $1,92 \pm 0,06$ nmol/ml, I/R grubunda $2,19 \pm 0,1$ nmol/ml, mannitol+I/R grubunda $1,96 \pm 0,09$ nmol/ml, udenafil+I/R grubunda $1,93 \pm 0,04$ nmol/ml bulunmuştur ($p=0,001$). Gruplar arasında I/R grubunda MDA değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında MDA düzeyi I/R grubuna göre daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında MDA düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.

Grupların serum MDA düzeyleri Şekil 6 da gösterilmiştir.

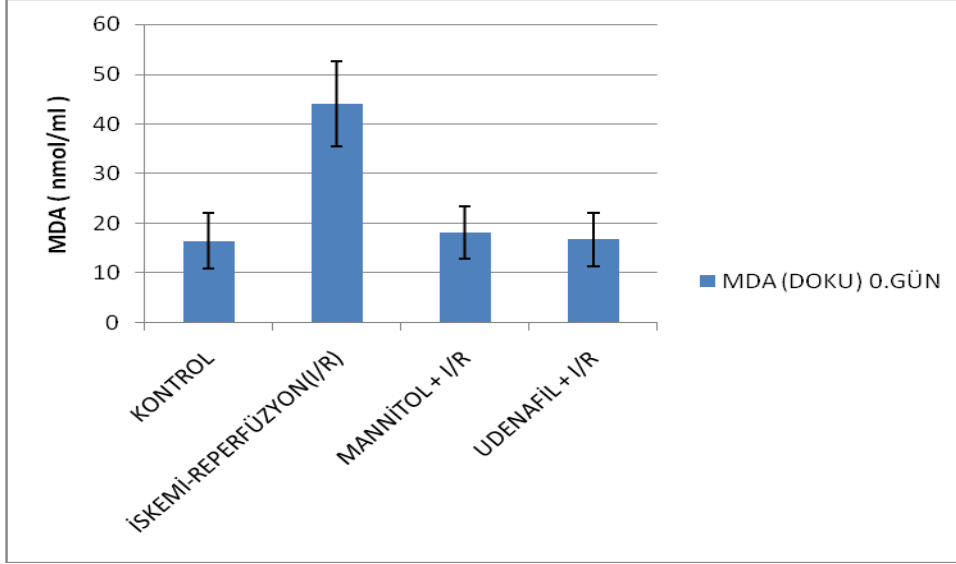


Şekil 6. Grupların serum MDA düzeyleri

Grupların doku MDA düzeyleri kontrol grubunda $16,05 \pm 5,6$ nmol/ml, I/R grubunda $44,07 \pm 8,48$ nmol/ml, mannitol+I/R grubunda $18,15 \pm 5,24$ nmol/ml, udenafil+I/R grubunda $16,81 \pm 5,41$ nmol/ml bulunmuştur ($p=0,0001$). Gruplar arasında I/R grubunda MDA değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında MDA düzeyi I/R grubuna göre daha düşük olup bu farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında

MDA düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.

Grupların doku MDA düzeyleri Şekil 7 de gösterilmiştir.

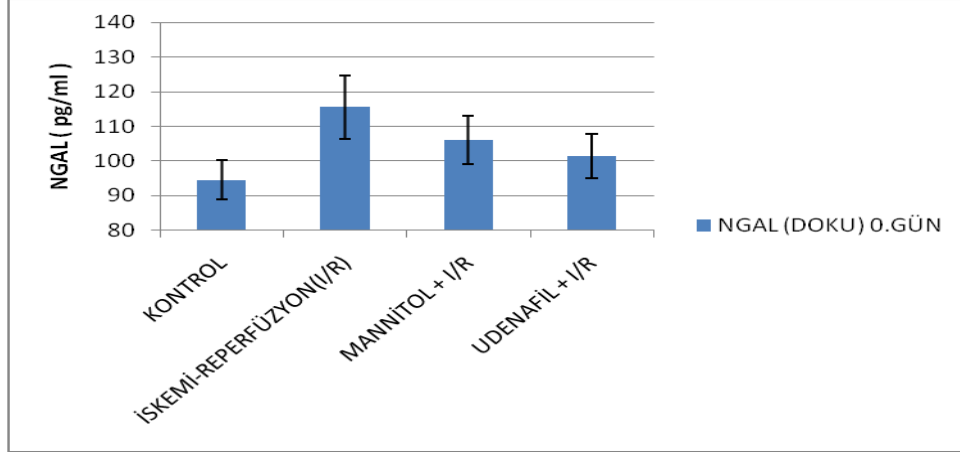


Şekil 7. Grupların doku MDA düzeyleri

4.1.5. NGAL Düzeyi

Grupların doku NGAL düzeyleri kontrol grubunda $94,51 \pm 5,71$ pg/ml, I/R grubunda $115,58 \pm 9,16$ pg/ml, mannitol+I/R grubunda $106,03 \pm 7,00$ pg/ml, udenafil+I/R grubunda $101,42 \pm 6,38$ pg/ml bulunmuştur ($p=0,0001$). Gruplar arasında I/R grubunda doku NGAL değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında doku NGAL düzeyi I/R grubuna göre daha düşük olup bu fark mannitol+I/R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmamış, udenafil+I/R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında doku NGAL düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olup bu fark udenafil+I/R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmamış, mannitol+I/R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda doku NGAL değeri Mannitol+I/R grubuna göre daha düşük saptanmış olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.

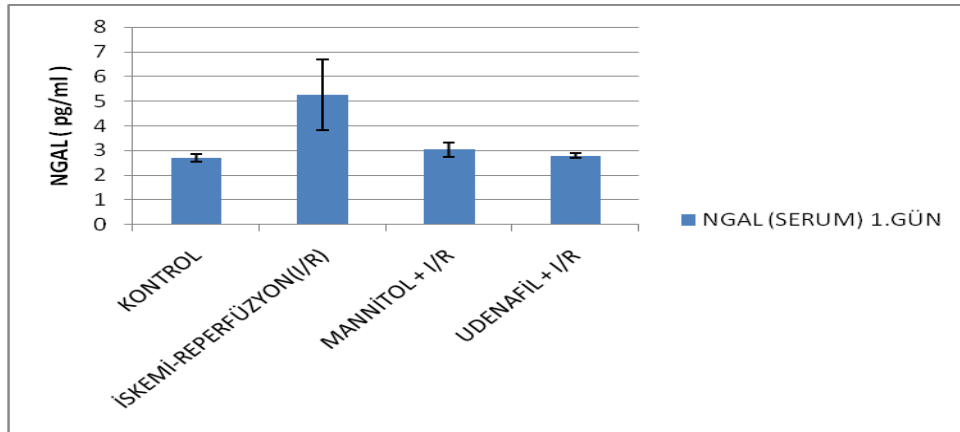
Grupların doku NGAL düzeyleri Şekil 8 de gösterilmiştir.



Şekil 8. Grupların doku NGAL düzeyleri

Grupların serum NGAL düzeyleri kontrol grubunda $2,7 \pm 0,15$ pg/ml, I/R grubunda $5,27 \pm 1,43$ pg/ml, mannitol+I/R grubunda $3,04 \pm 0,29$ pg/ml, udenafil+I/R grubunda $2,8 \pm 0,1$ pg/ml bulunmuştur ($p=0,0001$). Gruplar arasında I/R grubunda serum NGAL değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında serum NGAL düzeyi I/R grubuna göre daha düşük olup bu fark her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında serum NGAL düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olup bu farklar udenafil+I/R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmamış, mannitol+I/R grubu ile istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda serum NGAL düzeyi mannitol+I/R grubuna göre daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmamıştır.

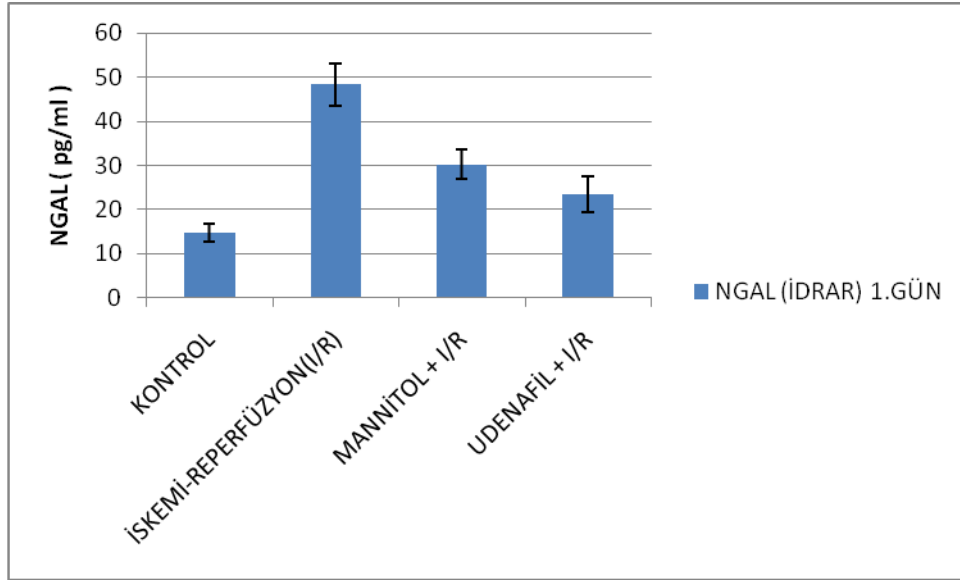
Grupların serum NGAL düzeyleri Şekil 9 da gösterilmiştir.



Şekil 9. Grupların serum NGAL düzeyleri

Grupların idrar NGAL düzeyleri kontrol grubunda $14,76 \pm 2,02$ pg/ml, I/R grubunda $48,31 \pm 4,82$ pg/ml, mannitol+I/R grubunda $30,25 \pm 3,39$ pg/ml, udenafil+I/R grubunda $23,46 \pm 4,0$ pg/ml bulunmuştur ($p=0,0001$). Gruplar arasında I/R grubunda idrar NGAL değeri en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında idrar NGAL düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olup her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında idrar NGAL düzeyi I/R grubuna göre daha düşük olup bu farklar her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda idrar NGAL düzeyi mannitol+I/R grubuna göre daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır.

Grupların idrar NGAL düzeyleri Şekil 10 de gösterilmiştir.

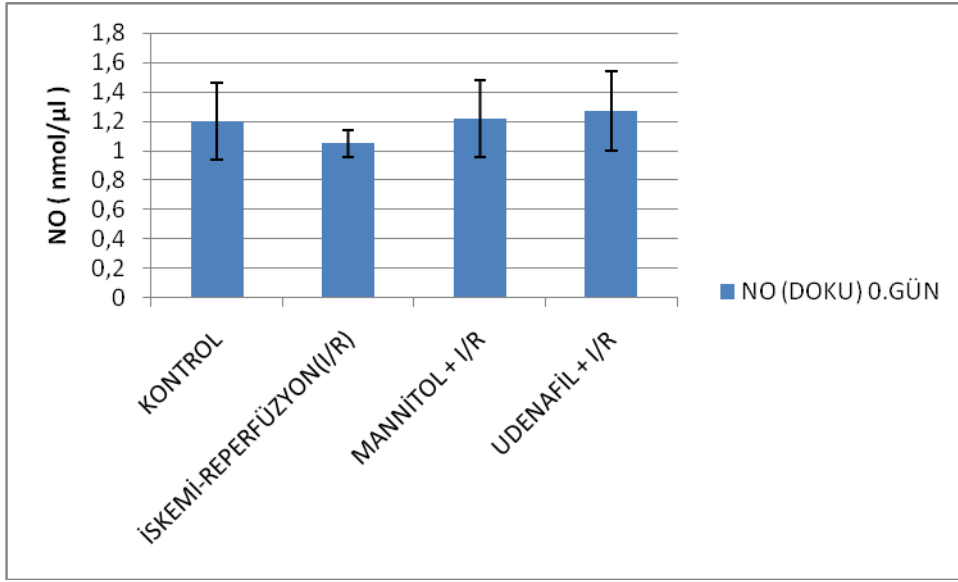


Şekil 10. Grupların idrar NGAL düzeyleri

4.1.6. NO Düzeyi

Grupların doku NO düzeyleri kontrol grubunda $1,20 \pm 0,26$ nmol/ μ l, I/R grubunda $1,05 \pm 0,09$ nmol/ μ l, mannitol+I/R grubunda $1,22 \pm 0,26$ nmol/ μ l, udenafil+I/R grubunda $1,27 \pm 0,27$ nmol/ μ l bulunmuştur ($p=0,337$). Gruplar arasında I/R grubunda doku NO düzeyi en düşük düzeyde saptanmış olup çalışma grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların doku NO düzeyleri Şekil 11 de gösterilmiştir.



Şekil 11. Grupların doku NO düzeyleri

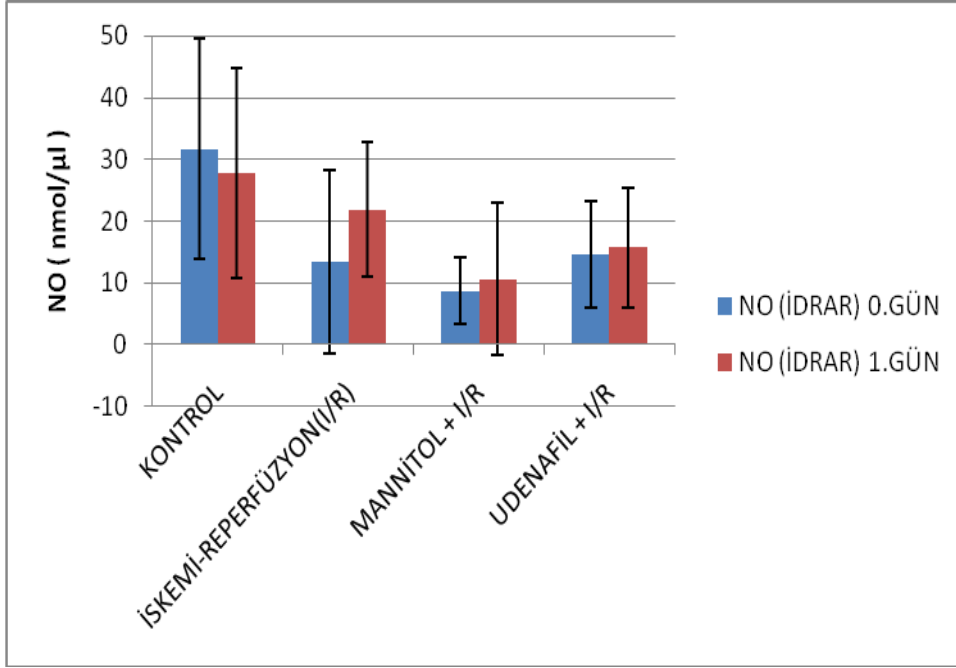
Grupların 0. gün idrar NO düzeyleri kontrol grubunda $31,63 \pm 17,85$ nmol/ μ l, I/R grubunda $13,42 \pm 14,81$ nmol/ μ l, mannitol+I/R grubunda $8,66 \pm 5,38$ nmol/ μ l, udenafil+I/R grubunda $14,47 \pm 8,62$ nmol/ μ l bulunmuştur ($p=0,079$). Gruplar arasında mannitol+I/R grubunda idrar NO düzeyi en düşük düzeyde saptanmış olup çalışma grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların 1. gün idrar NO düzeyleri kontrol grubunda $27,69 \pm 17,01$ nmol/ μ l, I/R grubunda $21,88 \pm 10,88$ nmol/ μ l, mannitol+I/R grubunda $10,59 \pm 12,27$ nmol/ μ l, udenafil+I/R grubunda $15,77 \pm 9,7$ nmol/ μ l bulunmuştur ($p=0,114$). Gruplar arasında mannitol+I/R grubunda idrar NO düzeyi en düşük düzeyde saptanmış olup çalışma grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların kendi içinde 0. gün ve 1. gün idrar NO değerleri karşılaştırıldığında I/R grubunda artış olmasına rağmen çalışma grupları arasındaki farklar istatistiksel

olarak anlamlı saptanmamıştır (kontrol p=0,68, I/R p=0,50, mannitol+I/R p=0,89, udenafil+I/R p=0,50).

Grupların idrar NO düzeyleri Şekil 12 de gösterilmiştir.



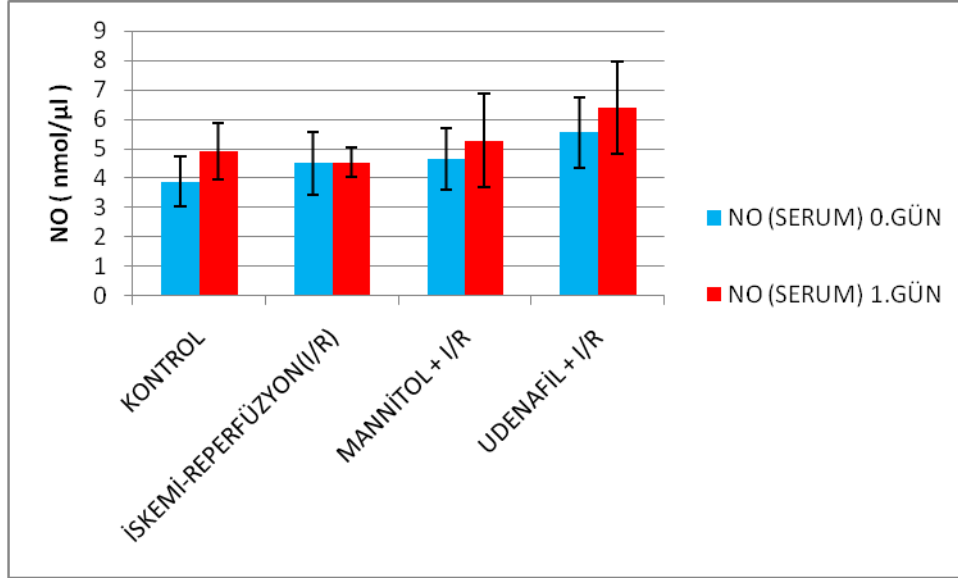
Şekil 12. Grupların 0. ve 1. gün idrar NO düzeyleri

Grupların 0. gün serum NO düzeyleri kontrol grubunda $3,89 \pm 0,86$ nmol/μl, I/R grubunda $4,50 \pm 1,08$ nmol/μl, mannitol+I/R grubunda $4,65 \pm 1,04$ nmol/μl, udenafil+I/R grubunda $5,55 \pm 1,20$ nmol/μl bulunmuştur (p=0,026). Gruplar arasında udenafil+I/R grubunda serum NO düzeyi en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır. Diğer çalışma grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların 1. gün serum NO düzeyleri kontrol grubunda $4,91 \pm 0,97$ nmol/μl, I/R grubunda $4,54 \pm 0,49$ nmol/μl, mannitol+I/R grubunda $5,28 \pm 1,57$ nmol/μl, udenafil+I/R grubunda $6,38 \pm 1,57$ nmol/μl bulunmuştur (p=0,052). Gruplar arasında udenafil+I/R grubunda serum NO düzeyi en yüksek düzeyde saptanmış olup çalışma grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların kendi içinde 0. gün ve 1. gün serum NO değerleri karşılaştırıldığında I/R grubu dışında diğer gruplarda serum NO düzeyinde artış olmasına rağmen çalışma grupları arasında sadece kontrol grubunda bu artış istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır (kontrol $p=0,02$, I/R $p=0,88$, mannitol+I/R $p=0,40$, udenafil+I/R $p=0,40$).

Grupların serum NO düzeyleri Şekil 13 te gösterilmiştir.

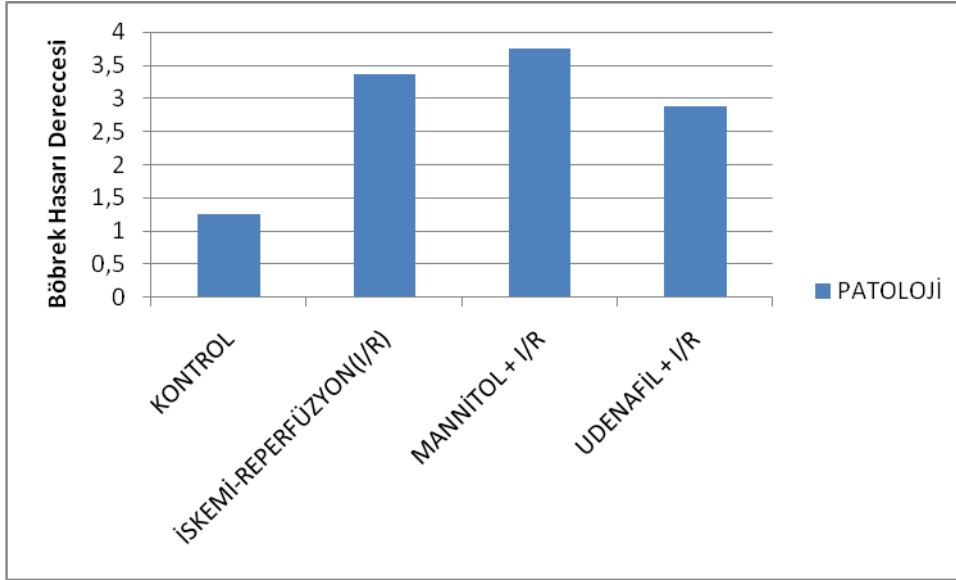


Şekil 13. Grupların 0. ve 1. gün serum NO düzeyleri

4.2. PATOLOJİ SONUÇLARI

Grupların patolojik incelemesinde böbreklerde oluşan hasar düzeyleri kontrol grubunda $1,25 \pm 0,70$, I/R grubunda $3,37 \pm 0,74$, mannitol+I/R grubunda $3,75 \pm 0,46$, udenafil+I/R grubunda $2,87 \pm 0,83$, bulunmuştur ($p=0,0001$). Gruplar arasında kontrol grubunda böbrekte hasar düzeyi en az düzeyde, I/R grubunda ise en yüksek düzeyde saptanmıştır. I/R, mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında böbrek hasarı kontrol grubuna göre daha yüksek olup istatistiksel olarak anlamlılık saptanmıştır. Udenafil+I/R grubunda I/R ve mannitol+I/R gruplarına göre böbrek hasarı daha az bulunmakla beraber bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların patolojik hasar düzeyleri Şekil 14 te gösterilmiştir.



Şekil 14. Grupların patolojik hasar düzeyleri

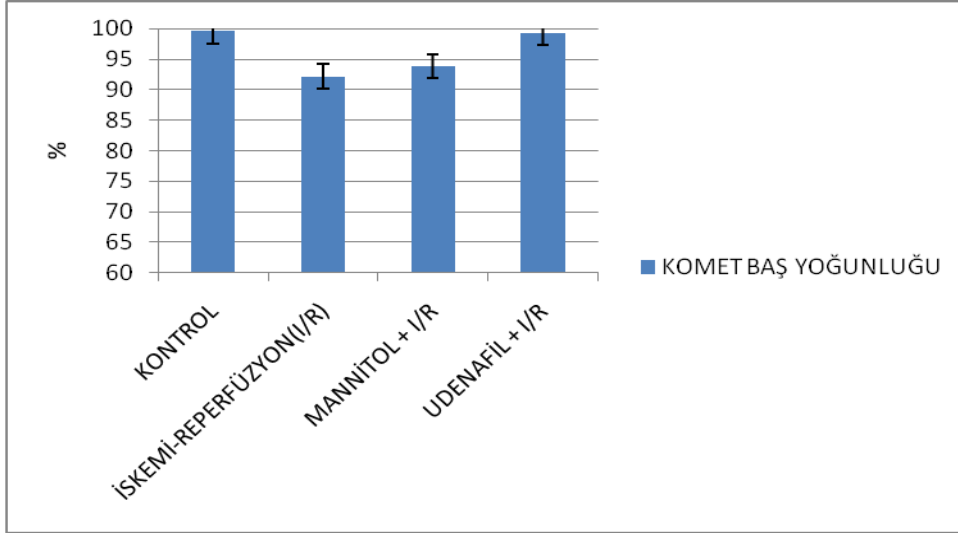
4.3. FİZYOLOJİ SONUÇLARI

4.3.1. Baş Yoğunluğu

Grupların komet örnekleme incelemesinde baş yoğunluğu düzeyleri kontrol grubunda $\% 99,55 \pm 0,53$, I/R grubunda $\% 92,18 \pm 9,1$, mannitol+I/R grubunda $\% 93,80 \pm 8,00$, udenafil+I/R grubunda $\% 99,33 \pm 1,2$ bulunmuştur ($p=0,012$). Gruplar arasında I/R grubunda komet baş yoğunluğu değeri en düşük düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Mannitol+I/R ve udenafil+I/R gruplarında baş yoğunluğu I/R grubuna göre daha yüksek bulunurken bu farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların baş yoğunluğu düzeyleri Şekil 15 te gösterilmiştir.

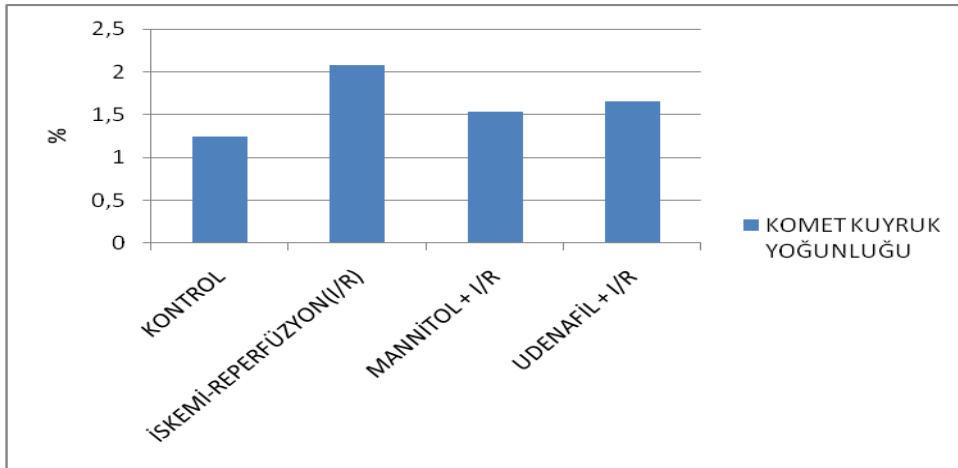


Şekil 15. Grupların komet örneklemede baş yoğunluğu düzeyleri

4.3.2. Kuyruk Yoğunluğu

Grupların komet örnekleme incelemesinde kuyruk yoğunluğu düzeyleri kontrol grubunda % $1,24 \pm 2,28$, I/R grubunda % $2,08 \pm 1,51$, mannitol+I/R grubunda % $1,53 \pm 1,53$, udenafil+I/R grubunda % $1,65 \pm 1,49$ bulunmuştur ($p=0,343$). Gruplar arasında I/R grubunda komet kuyruk yoğunluğu değeri en yüksek düzeyde saptanmıştır. Çalışma gruplarının arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların kuyruk yoğunluğu düzeyleri Şekil 16 da gösterilmiştir.

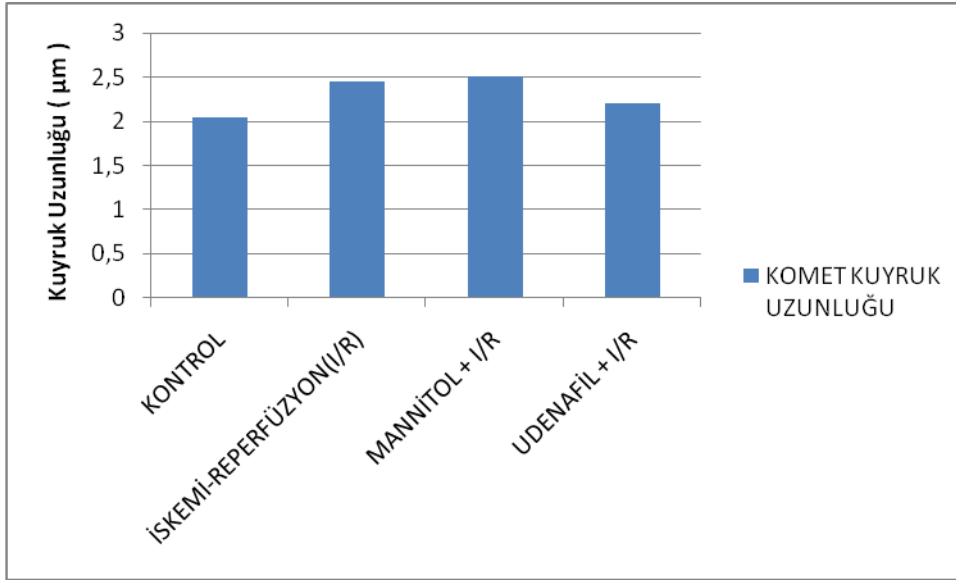


Şekil 16. Grupların komet örneklemede kuyruk yoğunluğu düzeyleri

4.3.3 Kuyruk Uzunluğu

Grupların komet örnekleme incelemesinde kuyruk uzunluğu düzeyleri kontrol grubunda $2,04 \pm 0,8 \mu\text{m}$ I/R grubunda $2,45 \pm 1,02 \mu\text{m}$, mannitol+I/R grubunda $2,50 \pm 1,29 \mu\text{m}$, udenafil+I/R grubunda $2,20 \pm 1,02 \mu\text{m}$ bulunmuştur ($p=0,763$). Gruplar arasında mannitol+I/R grubunda komet kuyruk uzunluğu değeri en yüksek düzeyde saptanmıştır. Çalışma gruplarının arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır.

Grupların kuyruk uzunluğu düzeyleri Şekil 17 de gösterilmiştir.



Şekil 17. Grupların komet örneklemede kuyruk uzunluğu düzeyleri

5. TARTIŞMA

Bir dokuda kan akımının tamamen kesilmesi veya azalmasıyla iskemi meydana gelmektedir. İskemik bir dokuda kan akımının tekrar sağlanmasıyla reperfüzyon oluşmaktadır. Her dokunun kendine göre iskemiye dayanma süresi vardır ve iskemi süresince oluşacak hasar belli bir seviyeye ulaşmadıysa reperfüzyonla tekrar düzelmeye başlar. İskemi süresince dokuda özellikle O₂ düzeyi azalır ve oksidatif mekanizmalar bozulur. Bu durum sonucunda iskeminin süresi ve şiddetine bağlı olarak dokuda hasar meydana gelmektedir. Reperfüzyonla beraber tekrar kan akımıyla beraber özellikle serbest oksijen radikalleri ve inflamatuvar hücreler dokuda artmaya başlar. Bu artışla beraber dokuda iskemik hasara ek olarak reperfüzyon hasarında eklenmektedir. Hatta reperfüzyonla oluşan hasarın iskemik hasardan daha şiddetli olabileceği gösterilmiştir (103, 104).

Böbrekte I/R hasarı sadece böbrek cerrahilerinde (parsiyel nefrektomi, böbrek transplantasyonu, vb.) değil kardiyopulmoner bypass cerrahisi, sepsis, şok, travma ve benzeri durumlarda da görülmektedir. Normalde böbrek iskemi sınırının 20-30 dakikayı geçmemesi önerilse de bazı durumlarda bu mümkün olmamaktadır (105). Böbrek fonksiyonlarının önemi düşünüldüğünde hasarın oluşumunu önlemek hem mortalite ve morbidite hemde ileri tedavi maliyetlerini azaltmaktadır. Bu yüzden antioksidan ve/veya antiinflamatuvar özellikleri olan birçok maddenin bu hasarın azaltılması için kullanılması konusunda çalışmalar yapılmıştır.

I/R hasarında mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen NO önemli bir rol oynamaktadır (67, 106). NO'nun hem hasarın oluşması sırasında hemde önlenmesi sırasında rol oynadığı bilinmektedir. Bu durum farklı izoformlarda oluşan NO'nun oluşturduğu etkiyle açıklanmaktadır. iNOS'un I/R sırasında oluşan hasarda rol aldığı, eNOS'un ise vasküler regülasyon başta olmak üzere çeşitli mekanizmalarla bu hasarı azalttığı bildirilmiştir. NO ikinci haberci olarak cGMP'yi kullanmaktadır. PDE ise cGMP'nin yıkımından sorumludur. PDE5 inhibitörleri cGMP'in düzeyini artırarak etki göstermektedir. Sildenafil, vardenafil ve tadalafil PDE5 inhibitörleridir ve bu ilaçlar böbrek I/R hasarının azaltılmasında hayvan modellerinde denemiş olup olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Udenafil yeni jenerasyon PDE5 inhibitörü olup

etkinliği kanıtlanmış ve klinik kullanıma girmiştir. Udenafil'in böbrek hasarı modellerinde kullanımı ile ilgili kısıtlı sayıda deneysel çalışma mevcut olup olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalardaki olumlu sonuçlara rağmen günümüzde böbrekte I/R hasarını önlemede PDE5 inhibitörleri klinik kullanıma girmemiştir. Bizde bu çalışmada sıçanlarda renal I/R hasar modelinde udenafil ile renaltransplantasyon, kardiyovasküler cerrahi ve parsiyelnefektomi gibi I/R hasarı oluşan ve bu hasarın önlenmesi amacı ile rutin olarak kullanılan mannitolün etkinliklerini karşılaştırdık.

Çalışma planının oluşmasında konu ile ilgili literatür incelendiğinde böbrek I/R hasar modelinde ortak bir zaman sınırı olmadığı görülmüştür. İnsanlarda iskemi üst sınırı olarak 20-30 dk belirlense de hayvan deneylerinde iskemi süresi genellikle daha fazla (45 veya 60 dk) tutulmaktadır. Bizim çalışmamızda iskemi süresi 45 dk olarak uygulanmıştır. Reperfüzyon süresi olarak literatürde farklı çalışmalarda değişken reperfüzyon süreleri bulunmaktadır. Literatür incelendiğinde reperfüzyon hasarının 20 dk sonrası oluşmaya başladığı görülmektedir dolayısıyla bu çalışmada 60 dk reperfüzyon süresi ile akut hasar, 24 saat reperfüzyon süresi ile de erken iyileşme dönemindeki hasar oluşturulmaya ve incelenmeye çalışılmıştır (107). Renal fonksiyon değerlendirme parametrelerine bakıldığında literatürde hasar belirteçleri olarak Kr ve BUN seviyesinin araştırıldığı görülmektedir. Bu çalışmada da aynı parametreler kullanılmıştır. Ayrıca böbrek fonksiyonunun daha iyi bir göstergesi olan Kr klirensi düzeyini de çalışmamıza ekledik. Böbrekte I/R hasarı ile beraber SOR'ların oluşturdukları oksidatif hasar düzeyi tespitlerinde literatürde farklı çalışmalarda MDA, total antioksidan kapasiteyi (TAK), total oksidan durumu (TOS), SOD, miyeloperoksidaz, glutatyon vb parametrelerin kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda lipit peroksidasyonunun iyi bir göstergesi olan MDA düzeyi en sık kullanılan parametre olarak yeterli görülmüş ve serum ve doku örneklerinde bu parametrenin çalışılması planlanmıştır (34, 108). NO önemli bir molekül olup yapılan çalışmalarda I/R hasarında önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir. NO yarı ömrü çok kısa olduğundan NO'nun düzey ölçümleri stabil formları olan nitrit/nitrat ile yapılmaktadır. Bizim çalışmamızda da nitrit/nitrat ölçümü ile NO düzeyi belirlenmiştir. Ayrıca literatürde NO'nun etkilerinin belirlenmesinde cGMP

düzeyi, NOS'un farklı izoformları olan eNOS ve iNOS düzeylerinin ölçülmesinin de kullanıldığını görülmektedir. Bununla birlikte, bizim çalışmamızda bu ölçümlere gerek duyulmamıştır. İdrarda NGAL, N-asetil- β -D-glokozaminodaz (NAG), β 2-microglobulin ve kidney injury molekülü (KIM) düzeylerinin, literatürde I/R hasarı sonrası belirteç olarak kullanıldığı görülmektedir. Buna ilaveten, idrarda en hızlı ve spesifik düzeyde artış gösteren ve bu artışın kan ve doku örnekleriyle kolerasyon gösterdiği bilinen NGAL düzeyinin ölçülmesinin çalışmamızda kullanılması planlanmıştır (109, 110). Literatürde histopatolojik incelemede böbrekte I/R hasarı sonrası tübüler atrofi, tübüler lümen çap artışı, tübüler hyalinizasyon, reaktif atipi, fırçamsı kenar kaybı, hücresel şişme, nukleus deformasyonu, lökosit infiltrasyonu gibi parametrelerin kullanıldığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda tübüler nekroz, tübül lümen dilastasyonu, tübül hücre vakuolizasyonu, intratübüler silendirler, tübüler hücre nekrozu ve interstisyel fibrozis seviyelerinin belirlenmesi planlanmıştır. Literatüre bakıldığında DNA hasarı tespitinde komet örnekleme yönteminin hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak kabul edildiği görülmektedir (111). Komet örnekleme yöntemiyle oksitadif stres, ilaç ve madde toksisitesi, karsinojen hasar ölçümleri gibi genotoksik hasar çalışmaları yapılabilmektedir. Böbrek I/R hasarı sonucu oluşan SOR'un DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir ve bizim çalışmamızda da doku hücrelerinde komet örnekleme yöntemi ile bu hasarın saptanması amaçlanmıştır. Literatürde böbrekte I/R hasarında doku hücrelerinde komet örnekleme yöntemi ilk olarak bizim çalışmamızda kullanılmıştır.

Böbrek yetmezliğinin en sık nedeni ATN'dir ve ATN'nin en sık sebebi ise renal iskemi ve/veya renal hipoperfüzyondur. Böbrek hasarının belirlenmesinde klinikte biyokimyasal olarak Kr, BUN ve Kr klirensi kullanılmaktadır. Kr klirensi böbreğin fonksiyonel kapasitesini göstermede tek başına Kr ve BUN'dan daha değerlidir. Bizim çalışmamızda I/R grubunda Kr düzeyi en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasında anlamı farklılık saptandı. İskemi öncesi mannitol ve udenafil kullanılan grupların da Kr düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen I/R grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Bu durum her iki maddenin de hasarı azalttığını desteklemektedir. Udenafil grubunda Kr düzeyi mannitol grubuna göre daha düşük olarak saptanmıştır ve hasarı azaltmada udenafilin

etkinliğinin daha iyi olduğu söylenebilir. Yang ve ark. çalışmalarında iskemi-reperfüzyon ve siklosporin kullanarak oluşturulan böbrek hasarında udenafilin etkinliğini çalışmışlardır (112). Çalışmalarında Kr düzeyleri hem iskemi hem de siklosporin toksitesi sonrası oluşan hasarda udenafil verilen grupta anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Choi ve ark. sıçanlarda böbrek I/R modelinde sildenafil kullanmışlardır (1). Sildenafil grubunda Kr seviyesi 24 ve 48. saatte I/R grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da benzer olarak bulunmuştur. Burke ve ark. norepinefrinle oluşturulan akut böbrek hasarı modelinde mannitol verilen grupta Kr değerini daha düşük bulmuşlardır (113). Bizim çalışmamızda da mannitol grubunda Kr değeri -aradaki fark anlamlı olmasa da- I/R grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Wever ve ark. yaptıkları metaanalizde hayvan çalışmalarında böbrek iskemik hasarı sonrası Kr yüksekliğinin olduğunu göstermişlerdir (114). Bu çalışmada bir çalışma hariç toplam 36 adet çalışmanın sonucunda iskemik hasarı önleyici tedavilerle serum Kr değerinde düşüş olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da udenafil grubunda daha anlamlı olmak üzere her iki grupta da Kr düzeyinde azalma gözlenmiştir.

Çalışmamızda BUN düzeyi en yüksek mannitol verilen grupta bulunmuş olup kontrol ve udenafil grubunda anlamlı olarak düşüklük saptanmıştır. Bu sonuçlara göre udenafilin mannitole göre hasarı azaltmada daha etkili olduğu ifade edilebilir. Yang ve ark. udenafil ile yaptıkları çalışmada BUN düzeyinin udenafil grubunda daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (112). Choi ve ark. çalışmalarında sildenafil grubunda BUN düzeyini anlamlı olarak düşük bulmuşlardır (1). Bizim çalışmamızda da udenafil grubu benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlara göre udenafilin mannitole göre hasarı azaltmada daha etkili olduğu söylenebilir. Antony ve ark. PDE5 inhibitörü olan zaprinast ile yaptıkları I/R hasar modelinde Kr ve BUN düzeylerinde tedavi grubunda düşüklük saptamış olmalarına rağmen istatistiksel olarak farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir (115). Fu ve ark. böbrek I/R hasarı oluşturdukları ratlarda NO yolağının etkisini görmek için L-sitruilin kullanmışlardır (33). Kr ve BUN düzeyinde I/R grubunda belirgin bir artış bulmuşlar ve L-sitruilin bu artışı anlamlı olarak azalttığını saptamışlardır. Ayrıca NOS inhibitörü olan L-NAME verilmesinin ardından bu etkinin hala devam ettiğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda Kr ve

BUN düzeyi udenafil grubunda anlamlı olarak düşük bulunurken mannitol grubunda Kr düzeyinde anlamlılık bulunmamıştır ve BUN düzeyi anlamlı olmasa da I/R grubundan yüksek saptanmıştır. Bu sonuçlara göre udenafilin mannitole göre hasarı azaltmada daha etkili olduğu söylenebilir. Wever ve ark. yaptıkları metaanalizde iskemik hasar sonrası BUN seviyesinde artma olduğunu ve koruyucu tedavilerle bu artışın azaltıldığını bildirmişlerdir (114). Bizim çalışmamızda udenafil grubunda BUN düzeyindeki düşüş benzerlik göstermektedir. Mannitol grubunda elde edilen BUN düzeyinde artış bu metaanalizle uyumlu olmasa da bizim çalışmamızdaki I/R modelinden farklı iskemi yöntemleriyle BUN düzeyinde azalma olmayan çalışmalar da mevcuttur (116). Dawson yaptığı çalışmada renal iskemik hasar oluşturduğu ratlarda iskemi öncesi mannitol verilen grupta BUN seviyesinin anlamlı olarak düşük bulunduğunu belirtmiştir (117).

Kr klirensi GFR hesaplanmasında en sık kullanılan yöntemdir. İnvaziv olmaması ve kolay uygulanması en önemli avantajı olarak görülmektedir. 24 saatlik idrar biriktirme sonrasında kan ve idrar kreatinin düzeyi ve idrar hacminin elde edilmesinden sonra hesaplanmaktadır. Gerek akut gerekse kronik böbrek hastalarında böbreğin kapasitesini göstermektedir. Kr klirensi 10 ml/dk'nın altında olan durumlarda SDBY oluşur. Bu durumda tedavi renal transplantasyon veya diyaliz yöntemleridir. Çalışmamızda metabolik kafes yardımıyla 24 saatlik idrar toplanmasını takiben grupları Kr klirensi düzeyleri hesaplanmıştır. I/R grubunda kontrol grubuna göre Kr klirensinde belirgin bir azalma görülmüştür. Bu azalma iskemi ve reperfüzyonun böbrekte ciddi bir hasar oluşturmasıyla açıklanabilir. İskemi öncesi udenafil ve mannitol verilen gruplarda Kr klirensinde artış izlenmiştir. Udenafil grubunda Kr klirensine göre düzelme daha belirgin olup istatistiksel anlamlılık saptanmıştır. Mannitol grubunda da Kr klirensinde artış izlense de istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Kr klirensindeki artış I/R hasarı sonrası böbreğin fonksiyonel düzelmesi olarak düşünülecek olursa udenafilin etkinliğinin mannitole daha iyi olduğu söylenebilir. Behnia ve ark. renal arterde %50 daralmayla oluşturdukları iskemi modelinde mannitol kullanımı ile GFR'nin arttığını göstermişlerdir (118). Bizim çalışmamızda da istatistiksel olarak anlamlı olmasa da mannitol grubunda Kr klirensinde artış izlenmiştir. Burke ve ark. norepinefrinle

oluşturulan akut böbrek hasarı modelinde mannitol verilen grupta Kr klirensinde artış olduğunu belirtmektedirler (113). Bragadottir ve ark. komplike kardiyovasküler cerrahi sonrası ABY gelişen hastalarda mannitol ile anlamlı olmasa da GFR'de artış olduğunu saptamışlardır (19). Medeiros ve ark. yaptıkları çalışmada rat böbreklerinde I/R hasarında sildenafilin koruyucu etkinliğini çalışmışlardır (2). Çalışmada böbrek fonksiyonları Tc 99m kullanılarak sintigrafik olarak değerlendirilmiş ve hem 24. saatte hemde 7. günde yapılan karşılaştırmalarda sildenafil grubunda renal fonksiyonların daha iyi olduğu bulunmuştur. Sağıroğlu ve ark. böbrek transplantasyonunda gecikmiş doku fonksiyonunun I/R hasarı ile ilişkili olduğunu belirtmiş ve everolimusun I/R hasarındaki koruyucu etkisini çalışmışlardır (119). Çalışmalarında immünoşupressan everolimus ve takrolimus etkilerine bakıldığında 24. saatte Kr klirensinde I/R hasarı olan grupla karşılaştırıldığında artış saptamışlardır. Bu artışın everolimus grubunda daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında Kr ve BUN düzeyinde I/R grubunda belirgin bir artma olduğunu ve everolimusla iki parametrede de daha iyi sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmalarında 7. günde yapılan DMSA çalışmasında yine everolimus grubunda I/R grubuna göre daha iyi renal fonksiyon saptamışlardır. Sohotnik ve ark. yaptıkları çalışmada sıçan böbreklerinde I/R hasarını önlemede tadalafilin etkinliğini araştırmışlardır (120). Çalışmalarında I/R grubunda GFR'de belirgin bir azalma olduğunu ve tadalafil verilen grupta GFR'de düzelmenin belirgin olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da udenafil grubunda daha belirgin olmak üzere hem udenafil hem de mannitol gruplarında 1. günde Kr klirensinde I/R grubuna göre artış izlenmiştir.

I/R hasarı ile birlikte serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu metabolitler özellikle membran lipitlerinde hasara neden olurlar. Oluşan lipit peroksidasyonu doku hasarı ile ilişkilidir ve MDA lipit peroksidasyonunun gösterilmesini sağlayan bir belirteçtir (34). Çalışmamızda hem dokuda hem de kanda MDA düzeyi I/R grubunda kontrol grubuna göre yüksek olarak saptandı. Doku MDA seviyesinde sonuçlar daha belirgin olup I/R grubunda kontrol grubuna göre 2.74 kat yükseldiği görülmüştür. Bu sonuçla I/R sonrası dokuda SOR kaynaklı lipit peroksidasyonuna bağlı anlamlı hasar olduğu söylenebilir. Udenafil ve mannitol grubunda hem doku

hem de kanda MDA seviyesi I/R grubuna göre belirgin olarak düşük saptanmıştır. Bununla birlikte iki gruptaki sonuçların kontrol grubuna yakın olduğu görülmüştür. Küçük ve ark. böbrek I/R hasar modelinde PDE5 inhibitörü olan sildenafil ve tadalafilin etkinliklerini karşılaştırmışlardır (121). Çalışmalarında her iki PDE5 inhibitörünün de I/R grubuna göre doku MDA seviyesini azalttığı ve bu etkinin sildenafil grubunda daha iyi olduğunu saptamışlardır. Fu ve ark. L-sitrulin ile yaptıkları çalışmalarında doku MDA düzeylerinde I/R grubunda belirgin artış olduğunu göstermişlerdir (33). L-sitrulin grubunda MDA seviyelerinin anlamlı olarak düştüğünü saptamışlardır. Ayrıca çalışmalarında antioksidan savunma sistemlerinden GSH ve SOD düzeylerinde L-sitrulin grubunda artış olduğunu belirtmişlerdir. Goksin ve ark. oluşturdukları akut böbrek I/R hasarında flebotomi ve mannitolün etkilerini karşılaştırmışlardır (89). I/R sonrası doku MDA seviyelerinde belirgin bir artış meydana geldiğini saptamışlardır. Bu durumun flebotomi, mannitol ve mannitol+flebotomi grubunda belirgin olarak düzeldiğini belirtmişlerdir. Böbrekte I/R hasarı ile birlikte hücre içi Ca^{++} artışı olduğu ve bu artışın hasar yolaklarında etkili olduğu bilinmektedir. Grossini ve ark. domuzlarda I/R hasarında ATP bağımlı K^+ kanal açıcı ve Ca^{++} sensitizatörü levosimendanın etkisini araştırmışlardır (122). Çalışmalarında I/R grubunda MDA seviyesinin I/R grubunda yükseldiğini ve levosimendan ve çoklu organ koruyucu custodiol solüsyonunun MDA seviyelerinde düşüşe neden olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında levosimendan ve custodiol gruplarında K_r klirensinde belirgin artış saptamışlardır. İnflamatuvar sürecin böbrek I/R hasarında serbest oksijen radikalleriyle beraber önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Reperfüzyonla beraber dokuya SOR ve inflamatuvar hücrelerin hızla göç ettiği ve sentezledikleri maddelerle hasara katkıda buldukları saptanmıştır. Ahmadiasl ve ark. antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri bilinen iki ajan olan eritropoetin ve melatoninin böbrek I/R hasarında etkilerini araştırmışlardır (123). Her iki ajanın da anlamlı olmasa da MDA seviyesinde azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir. Bunun yanında bu iki ajanın ek olarak TAK arttırdığını saptamışlardır. Sancaktutar ve ark. pomegranat ekstresinin böbrek I/R hasar modelinde etkinliğini çalışmışlardır (3). Serum MDA seviyesinin anlamlı olmasa da I/R grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğunu ve pomegranat ekstresi ile MDA düzeyinde anlamlı olarak düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Yine çalışmalarında

pomegranat ekstresinin TAK düzeyini arttırdığı ve TOD ve oksidatif stres indeksini (OSİ) azalttığını bildirmişlerdir. Bozkurt ve ark. böbrek I/R hasar modelinde ellagik asitin koruyucu etkisini çalışmışlardır (124). Serum MDA seviyesinin I/R grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğunu ve ellagik asitin verilmesi ile MDA düzeyinde anlamlı olarak düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bunlara ilaveten ellagik asitin TAK düzeyini arttırdığı ve TOD ve OSİ'yi azalttığını bildirmişlerdir. Güzeloğlu ve ark. böbrek I/R hasar modelinde tadalafilin koruyucu etkisini çalışmışlardır (125). Çalışmalarında tadalafil grubunda TAK seviyesinin arttığını ve TOD seviyesinin azaldığını saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak hem mannitol hem de udenafilin MDA düzeyini azalttığı ve lipid peroksidasyonunu önlediği görülmektedir.

NGAL lipokalin protein ailesinin bir üyesidir (126). Birkaç farklı isimle bilinmektedir. İnsanlarda Lipokalin-2, human nötrofil lipokalin, nötrofil lipokalin, farelerde onkogen protein 24p3 veya uterokalin, sıçanlarda neu-related protein veya 25 kDa α 2-makroglobulin bilinen diğer isimleridir (127-131). Böbrek hasarı oluştuğunda kan, idrar ve dokuda ekspresyonunda belirgin bir artış olmaktadır. Böbrek dokusunda özellikle proksimal tübül hücrelerinden sekrete edilmektedir. İnsanlarda NGAL aktive nötrofillerden izole edilse de; böbrek, prostat, solunum yolu epiteli, adenomlar, inflame bağırsak epiteli, meme kanseri ve üriner sistem kanser hücrelerinden de eksprese olmaktadır. Buradan da anlaşılacağı gibi inflamasyon, enfeksiyon, kanser ve böbrek hasarı gibi nedenlerle NGAL düzeyinde artış görülmektedir. NGAL'in serbest ve bağlı formları idrarda erken dönemde saptanmaktadır. İdrardaki NGAL düzeyi plazma ve serumdaki düzeyleriyle kolerebilir. Bununla birlikte yüksek idrar NGAL düzeyleri böbrek hasarında veya üriner sistem kanserlerinde saptanmaktadır. NGAL iskemik böbrek hasarı sonrası 90. dakikada idrarda saptanmaya başladığı ve 6. saatte en yüksek değere ulaştığı bildirilmektedir. Literatürde NGAL'in böbrek fonksiyonunu belirlemede kolerebilir olduğu ve akut böbrek hasarını göstermede erken bir belirteç ve prognostik faktör olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (57, 132, 133). Biz çalışmamızda 60 dk reperfüzyon uyguladığımız için 0. gün sadece dokuda NGAL seviyesini, 24 saatte idrar ve serumda NGAL seviyesini araştırdık. Doku NGAL düzeyi I/R grubunda en

yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu durum reperfüzyon sonrası oluşan hasarla beraber dokuda NGAL düzeyinde yükselmenin ilk 60 dk içinde başladığını göstermektedir. Udenafil ve mannitol gruplarında dokuda NGAL düzeyi I/R grubuna göre daha düşük saptanmıştır. Udenafil grubunda bu azalma daha belirgin olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Udenafil grubunda doku NGAL düzeyi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yüksek olsa da aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. 24 saat reperfüzyon sonrası serumda NGAL düzeyi I/R grubunda en yüksek düzeyde saptanmış olup kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bu artışın yaklaşık 2 kat düzeyinde olduğu saptanmıştır. Udenafil ve mannitol gruplarında serum NGAL düzeyleri I/R grubuyla karşılaştırıldığında belirgin olarak düşük saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da udenafil grubunda mannitol grubuna göre serum NGAL seviyesi düşük saptanmıştır. 24 saat reperfüzyon sonrası metabolik kafes yardımıyla toplanan idrar örneklerinde NGAL düzeyi I/R grubunda en yüksek olarak saptanmış olup kontrol grubuyla arasında 3 kattan daha fazla artış görülmüştür. Udenafil ve mannitol grubunda idrar NGAL seviyeleri I/R grubuna göre belirgin olarak düşük saptanmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında mannitol grubunda 2 kattan fazla bir artış saptanırken udenafil grubunda 1.5 katlık artış saptanmıştır. Bu sonuçlar literatürde de belirtildiği gibi I/R hasarı sonucu doku, serum ve idrarda NGAL seviyelerinin arttığını göstermektedir. Doku, serum ve idrarda NGAL düzeylerinin udenafil grubunda mannitol grubuna göre düşük olmasını göz önüne alırsak, NGAL düzeyinin böbrek hasarı derecesiyle kolere olduğu düşünüldüğünde udenafilin mannitole göre daha etkili olduğunu söyleyebiliriz. Ayrıca Kr, BUN ve Kr klirensi çalışmalarında da udenafil grubunda elde edilen sonuçların mannitol grubuna göre daha iyi olması NGAL ile böbrek fonksiyon testlerinin kolere olduğunu göstermektedir. Magnusson ve ark. böbrek transplantasyonu yapılan, transplantasyon için bekleyen hastalar ve normal sağlıklı hastaların plazma NGAL düzeylerini transplantasyon öncesinde ve 12. ayda karşılaştırmışlardır (134). Transplantasyon yapılan hastaların operasyon öncesi NGAL düzeyi ve transplantasyon için bekleyen hastaların NGAL düzeyi sağlıklı polülasyona göre anlamlı olarak (7.6 kat ve 9 kat) yüksek bulunmuştur. 12 ay sonra transplantasyon yapılan grupta bekleyen hastalara göre belirgin düşüş saptamışlardır.

Trasplantasyon grubunda NGAL düzeyi sağlıklı popülasyona göre 1.5 kat yüksek iken bekleyen hastalarda bu oranın 10 kat yüksek olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca çalışmalarında transplantasyon öncesi ve sonrasında serum Kr düzeyi ve Cockcroft-Gault formülüyle hesaplanan GFR düzeylerinin NGAL düzeyi ile kolere olduğunu belirtmişlerdir. Yine çalışmalarında transplantasyon sonrası NGAL düzeyinin aterosklerotik böbrek hastalıklarında bir belirteç olan homosistein düzeyi ile de kolerasyon gösterdiğini belirtmişlerdir. Mishra ve ark. tek taraflı veya bilateral böbrek I/R hasar modeli ve siklosporinle oluşturulan renal toksisite modelinde NGAL düzeylerini çalışmışlardır (110). Hasar gruplarının hepsinde NGAL düzeyinin doku ve idrarda belirgin olarak yükseldiğini saptamışlardır. Ayrıca idrarda diğer böbrek hasar belirteçleri olan β 2-microglobulin ve NAG düzeylerini karşılaştırmışlardır. Tek taraflı böbrek I/R hasarında NGAL düzeyi ilk 2 saat içinde artarken β 2-microglobulin ve NAG düzeylerinin 12. saatte arttığını saptamışlardır. Bilateral böbrek I/R hasarında ise NGAL düzeyi ilk 2 saat içinde artarken β 2-microglobulin ve NAG düzeylerinin 8. saatte arttığını saptamışlardır. Yine çalışmalarında 5, 10, 20 dk bilateral hasarı yapılan farelerin hepsinde serum Kr değerleri normal düzeyde saptanırken idrar NGAL düzeylerinde yükselme zamanının sırasıyla 6. saat, 4. saat ve 4. saat olarak belirtmişlerdir. 30 dk bilateral iskemide idrar NGAL düzeyinde artışın 2. saatte olduğu düşünüldüğünde iskemi süresi ve şiddetiyle idrar NGAL düzeyi arasında kolerasyon bulunduğunu belirtmişlerdir. Yine çalışmalarında siklosporin verilerek oluşturulan nefrotoksisite hasarında tek doz uygulama sonrası idrarda NGAL düzeyinde artış meydana gelirken β 2-microglobulin ve NAG düzeylerinin ancak 4-5. Günde saptanabildiğini belirtmişlerdir. Sohotnik ve ark. böbrek I/R hasar modelinde PDE5 inhibitörü tadalafil kullandıkları çalışmalarında tadalafil grubunda idrarda NGAL ve KIM düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir (120). Ayrıca çalışmalarında GFR'nin tadalafil grubunda dahi iyi olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da literatüre uygun olarak NGAL düzeyi I/R grubunda doku, serum ve idrarda yüksek bulunmuştur. Ayrıca Sohotnik ve ark. çalışmalarına paralel olarak udenafil ve mannitol gruplarında NGAL düzeyleri düşük olup, Kr klirens düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Yine Sohotnik ve ark. çalışmalarına paralel olarak udenafil grubundaki sonuçların mannitol grubunun

sonuçlarından daha iyi olması PDE5 inhibitörlerinin I/R hasarını önlemede daha etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Nitrik oksit gaz halinde bir molekül olup; vazodilatasyon, sinirsel ileti, anti-mikrobiyal ve antitümör aktivitelerini içeren çeşitli fonksiyonlara aracılık etmektedir. Çeşitli hücreler nitrik oksit sentaz enzimiyle L-arjinin oksidasyonu üzerinden NOS enzimi aracılığıyla NO üretirler. Memelilerde nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve induklenebilir (iNOS) olmak üzere 3 tür NOS mevcuttur. NO ikinci haberci olarak cGMP'yi kullanmaktadır. Üretildikten fonksiyonlar açısından bu 3 tür NOS birbirlerinden farklı etkiler gösterirler. I/R hasarında NO tam olarak mekanizması bilinmese de anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. NO süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek güçlü bir oksidan olan peroksinitriti oluşturmaktadır. Peroksinitrit ise hem I/R hasarının hemde hipoksi-reoksijenizasyon hasarının patofizyolojisinde yer almaktadır. iNOS'un hasar aşmasında rol oynadığı ve iNOS inhibitörlerinin veya iNOS yokluğunun bu hasarı azalttığı görülmektedir (73, 135, 136). eNOS'un ise özellikle vasküler regülasyon başta olmak üzere çeşitli mekanizmalarla I/R hasarını önlediği görülmektedir (74). NO üretildikten sonra çok kısa etkili bir molekül olup stabil formları olan nitrit ve nitrate dönüşmektedir. Biz çalışmamızda nitrit/nitrat ölçümüyle doku, serum ve idrarda NO seviyesini belirledik. Çalışmamızda 45 dk iskemi ve 60. dk reperfüzyon sonrası I/R grubunda NO düzeyi en düşük düzeyde udenafil grubunda ise en yüksek düzeyde saptanmıştır. Mannitol ve udenafil grubunda kontrol grubuna göre NO seviyesi daha yüksek olarak bulundu. Bu değerlere bakıldığında doku örneklerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığını görülmüştür. 0. gün serum NO seviyelerine bakıldığında en düşük NO düzeyi kontrol grubunda saptandı. Udenafil grubunda NO düzeyi kontrol grubuna göre da yüksek saptandı ve istatistiksel olarak bu artış anlamlı bulunmuştur. Mannitol grubunda NO seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek saptansada istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmamıştır. 1. gün serum NO seviyelerine bakıldığında en düşük NO düzeyi kontrol grubunda saptandı. Udenafil grubunda NO düzeyi kontrol grubuna göre da yüksek saptandı. Udenafil ve mannitol gruplarında NO seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek saptansada bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 0. gün ve 1. gün serum NO seviyesinde

I/R grubunda değişiklik olmazken mannitol ve udenafil gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olmasada artış izlenmiştir. Her ne kadar istatistiksel olarak anlamlı olmasa da mannitol ve udenafil gruplarında böbrek hasarında azalma olduğu için bu yönden, NO artışının antioksidan etkiye ek olarak koruyucu bir etkisi olduğu sonucuna varılabilir. 0. gün ve 1. gün idrar NO seviyelerine bakıldığında her iki ölçümde de gruplar arasında istatistiksel bir anlamlılık saptanmadı. İdrarda NO ölçümlerine baktığımızda çok değişken sonuçlar nedeniyle standart sapmaların yüksek olması buna neden olmaktadır. Korkmaz ve ark. böbrek I/R hasarı modelinde iNOS inhibitörünün hasarı azalmadaki etkilerine bakmışlardır (137). Çalışmalarında iNOS inhibitörü olan L-NIL ile 45 dk iskemi ve 3 saat reperfüzyon sonrası NO düzeylerini karşılaştırmışlardır. I/R grubunda plazma nitrit/nitrat düzeylerinde belirgin bir artış olduğunu ve bunun L-NIL veya izotonik solüsyon verilerek engellendiğini bildirmişlerdir. Biz çalışmamızda I/R grubunda nitrit/nitrat seviyesini daha düşük olarak bulduk; bunun nedeni beklide iskemi sürelerinin benzer olmasına rağmen reperfüzyon süresinin bizim çalışmamızda 1 saat iken Korkmaz ve ark. çalışmasında bu sürenin 3 saat olması olabilir. Yine çalışmalarında doku örneklerinde iNOS ve peroksinitrit göstergesi olan 3-NT düzeylerini araştırmışlar ve bu parametrelerin I/R grubunda yüksek, L-NIL veya izotonik grubunda düşük olduğunu bildirmişlerdir. Yang ve ark. I/R ve siklosporin nefrotoksisitesi ile oluşturdukları hasar modelinde udenafil kullanılmasının etkilerini araştırmışlardır (112). İmmünohistokimyasal incelemede I/R ve siklosporin ile hasarda udenafil kullanımıyla anlamlı bir fark olmasada eNOS düzeyinin arttığını göstermişlerdir. Westernblot analizinde udenafil ile I/R hasarında eNOS düzeyi değişmezken siklosporin nefrotoksisitesinde udenafil grubunda eNOS düzeyinde artış olduğunu belirtmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR ile yapılan analizde I/R hasarı ile eNOS düzeyinin azaldığını ve udenafil verilen grupta değişiklik izlenmediğini bildirmişlerdir. Bununla beraber siklosporin nefrotoksisitesiyle eNOS düzeyinin azaldığını ve udenafil verilen grupta eNOS düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Chatterjee ve ark. iNOS inhibitörünün I/R hasarında böbrek koruyucu etkisini araştırmışlardır (135). Çalışmalarında 45 dk bilateral iskemi ve 6 saat reperfüzyon uygulamışlardır ve iNOS inhibitörü olarak L-NIL ve AE-ITU kullanmışlardır. Plazma NO düzeyini nitrit ve nitrat ölçümüyle değerlendirmişlerdir. Plazma NO

düzeyinin I/R grubunda belirgin olarak arttığını L-NIL ve AE-ITU verilen gruplarda NO düzeylerinin belirgin olarak düştüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında serum Kr düzeylerinin I/R grubunda yükseldiğini, idrarda NAG seviyesinin arttığını, fraksiyone Na düzeyinin arttığını ve bu bulguların hepsinin L-NIL ve AE-ITU verilen gruplarda azaldığını bildirmişlerdir. Kr klirens düzeyinde I/R grubunda azalma gözlenirken L-NIL ve AE-ITU verilen gruplarda artış olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca interferon- γ ve lipopolisakkaritlerle indüklenen sitokin aracılı NO seviyelerine bakıldığında hücre kültürlerinde proksimal tübüllerde nitrit/nitrat oranlarının L-NIL ve AE-ITU verilen gruplarda azaldığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bize iNOS'un I/R hasarında rol oynadığını göstermektedir. Choi ve ark. çalışmalarında sıçanlarda böbrek I/R modelinde sildenafil kullanmışlardır (1). Çalışmalarında cGMP düzeylerinin böbrek dokusunda sildenafil grubunda belirgin olarak arttığını bildirmişlerdir. iNOS düzeyinin 2. saatte artış gösterdiğini ve sildenafil grubunda anlamlı bir artış olmadığını bildirmişlerdir. eNOS düzeyinin 4. saatte yükseldiğini ve sildenafil grubunda bu artışın daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Türker ve ark. böbrek I/R hasar modelinde PDE5 inhibitörü olan tadalafilin etkilerini araştırmışlardır (138). Çalışmalarında immunhistokimyasal olarak böbrek tübül epitelinde eNOS ve iNOS seviyelerinde I/R grubunda anlamlı olarak arttığını ancak Tadalafil verilen grupta ise bu seviyelerin anlamlı olarak azaldığı saptamışlardır. Emre ve ark. böbrek I/R hasarının karaciğer üzerine etkilerini araştırmışlardır (139). Çalışmalarında 30 dk iskemi ve 2 saat reperfüzyon uygulamışlar ve NOS inhibitörü L-NAME, endotelin reseptör inhibitörü BQ-123 ve L-arjinin kullanılmasının karaciğer dokusunda etkilerini karşılaştırmışlardır. Kontrol ve I/R hasarı oluşturulan gruplar arasında doku nitrit/nitrat seviyesinde anlamlı bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. L-NAME verilen gruplarda NO düzeyinin azaldığını ve yalnızca BQ-123 verilen grupta bu düşün normale döndüğünü saptamışlardır.

I/R hasarı dokuda farklı histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Renal korteks kan akımı I/R sonrasında belli oranda azalmaktadır. Bu azalma; tübüloglomerüler arterioller vazokonstriksiyon, hücresel şişme, tübüler obstrüksiyon, interstisyel ödeme bağlı intrarenal basınç artışı ve lökosit tıkaçları ve kırmızı

hücrelerin dış medulladan sızmasına bağlı vasküler obstrüksiyona bağlı olabilir (140). I/R ile etkilenen proksimal tübüller reperfüzyon sırasında sıcak iskemi nedeniyle hasarlanırlar ki bu da renal fonksiyonların düzelmesinde yavaşlamaya neden olur. Reperfüzyon sırasında tübüller lümen çapı artar, proksimal tübüllerden ortaya çıkan döküntüler tübüllerini tıkayarak henle kulpu ve proksimal tübüllerde sıvı alımına direnç oluşturur, sellüler hasar nedeniyle tübüller su reabsorpsiyonu bozulur, kapiller dilatasyon dış medulla toplayıcı tüplerine basıyla intratübüler basıncı artırır. Bunların sonucunda kan akımı %12 azalırken glomerüler filtrasyon hızı %90 azalmaktadır (140). Dokuda tübüller atrofi, tübüller lümen çap artışı, tübüller hyalinizasyon, reaktif atipi, fırçamsı kenar kaybı, hücresel şişme, nukleus deformasyonu, lökosit infiltrasyonu görülmektedir. Biz çalışmamızda 45 dk iskemi ve 60 dk reperfüzyon sonrası erken dönemde histopatolojik olarak böbrek dokusunda hasarı incelediğimizde kontrol grubuna göre I/R, mannitol ve udenafil gruplarında hasarın belirgin olarak arttığı saptanmıştır. Hasar düzeyinin I/R grubu ile mannitol gruplarında daha belirgin olduğunu görülmektedir. Udenafil grubunda hasar derecesi daha az olarak saptansada I/R ve mannitol grubularıyla karşılaştırıldığında bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Medeiros ve ark. böbrek I/R hasra modelinde sildenafilin etkisini araştırmışlardır (2). 60 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon sonrası böbrek histopatolojisini karşılaştırdıklarında sildenafil grubunda özellikle hücresel nekroz oranında belirgin bir azalma saptamışlardır. Tübüler lümen çapında ise I/R grubuna göre artış saptamışlardır ve bu artışın nedeninin sildenafilin vazodilatator ve natriüretik etkileri sonucu olabileceğini bildirmişlerdir. Polcari ve ark. PDE5 inhibitörü zaprinast ile yaptıkları çalışmalarında 30 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon sonrası zaprinast grubunda istatistiksel olarak anlamlı olmasada I/R grubuna göre histopatolojik hasarda azalma tespit etmişlerdir (115). Chatterjee ve ark. iNOS inhibitörleri L-NIL ve AE-ITU kullanarak böbrek I/R hasarında 45 dk iskemi ve 6 saat reperfüzyon sonrası histopatolojik değişiklikleri araştırmışlardır (135). Çalışmalarında L-NIL ve AE-ITU gruplarında histopatolojik olarak hasarda belirgin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Sağiroğlu ve ark. everolimusun 45 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon yaparak I/R hasarındaki histopatolojik olarak etkisini araştırmışlardır (119). Çalışmalarında tübüller dilatasyon, hyalinizasyon, epitelyal nekroz, intersisyel ödem, medüller konjesyon ve

hücresel şişme parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına rağmen parametrelerinin hepsinde everolimus grubunda I/R ve takrolimus gruplarına göre azalma tespit etmişlerdir. Gasanov ve ark. böbrek I/R hasar modelinde tadalafilin etkinliğini araştırmışlardır (141). Tadalafil grubunda I/R grubuna göre belirgin olarak hasarda azalma olduğunu belirtmişlerdir. Güzeloğlu ve ark. böbrek I/R hasar modelinde tadalafilin histopatolojik olarak etkisini araştırmışlardır (125). 60 dak iskemi ve 60 dk reperfüzyon sonrası histopatolojik olarak tübüler atrofi ve lökosit infiltrasyonu ile yaptıkları değerlendirmede tadalafil grubunda I/R grubuna göre belirgin olarak hasarda azalma olduğunu belirtmişlerdir. Gökşin ve ark. alt ekstremite I/R hasarıyla oluşturdukları akut böbrek hasarı modelinde mannitol ve flebotominin histopatolojik etkileri karşılaştırmışlardır (89). Tübüler atrofi ve lökosit infiltrasyonu açısından yaptıkları değerlendirmelerinde hem mannitol hemde flebotomi gruplarında I/R grubuna göre hasarda belirgin bir azalma olduğunu belirtmişlerdir.

I/R hasarının oluşmasında SOR önemli bir role sahiptir. İnflamatuvar sürecin başlatılması, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı ve hücre apoptozisine neden olmaktadır. Bazı çalışmalarda bu etkilere NO'nin kendisinde katıldığını belirtilmektedir (142-144). SOR DNA yapısındaki deoksiriboz fosfat iskeletinde hasara, purin ve pirimidin bazların spesifik modifikasyonuna ve DNA-protein çapraz bağlanmalarına neden olur. Tek hücreli jel elektroforezi veya sıklıkla tercih edilen diğer adıyla Comet Assay yöntemi son yıllarda genişleyen uygulama alanı, güvenilirliği ve uygulaması kolay olması bakımından kimyasal ve fiziksel etmenlerin canlılar üzerinde yol açtığı genotoksik ve sitotoksik etkilerin bir göstergesi olan DNA hasar seviyelerinin ölçülmesini sağlayan önemli bir metottür. Komet incelemesinde baş ve kuyruk uzunluğunun çok fazla anlamlı olmadığı sadece kuyruklar ilk aşamada oluşmakta ve genellikle de düşük hasar seviyesini gösteren dönemde artmaktadır. Ardından, hasar miktarı arttıkça kuyruk yoğunluk bakımından artmaktadır. Rölatif kuyruk yoğunluğu en kullanışlı parametre olarak kullanılmaktadır. Biz çalışmamızda yaptığımız komet örnekleme analizinde 45 dk iskemi ve 60 dk reperfüzyon sonrası kometlerde baş yoğunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğu sonuçları karşılaştırılmıştır. Baş yoğunluğuna bakıldığında I/R

grubunda kontrol grubuna göre azalma olduğu saptanmıştır. Mannitol ve udenafil gruplarında baş yoğunluğu daha yüksek olmasına rağmen anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Kuyruk uzunluğu açısından da gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. En önemli parametre olan kuyruk yoğunluğuna bakıldığında I/R grubunda yoğunluğun arttığı fakat mannitol ve udenafil gruplarında yoğunluk azalmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlara bakıldığında I/R sonrası komet örnekleme analizinde doku hücrelerinde önemli derecede DNA hasarı oluşmadığını söyleyebiliriz. Buda sitotoksik oluşan hasarın dokuda genotoksik düzeye ulaşmamasıyla açıklanabilir. Dias ve ark. renovasküler hipertansiyon modeli oluşturdukları farelerde sildenafilin oksidatif stres, DNA hasarı ve renal fonksiyonlar üzerine etkilerini araştırmışlardır (145). Çalışmalarında sol renal arteri 2 hafta boyunca klipeyerek renal arter stenozu oluşturduktan sonra 2 hafta boyunca sildenafil ve plasebo verilmesi sonrası etkilerini karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında sildenafil grubunda böbrek atrofisinin azaldığını, kompensatuvar hipertrofinin azaldığını, böbrek dokusunu ağırlığının arttığını, ortalama arter basıncının ve kalp hızının azaldığını ve anjiyotensin 2 seviyesinin yarıya indiğini belirtmişlerdir. Renal fonksiyon testlerine bakıldığında Kr, üre, proteinüri ve GFR düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Komet örnekleme incelemesinde kuruk yoğunluğu ve kuyruk momenti ölçümleri karşılaştırıldığında plasebo grubunda DNA hasar oranında belirgin bir artış (2 kat) saptanırken sildenafil verilen grupta bu hasarın minimal seviyede olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da farklı bir böbrek hasar modelinde anlamlı olmasada maannitol ve biraz daha belirgin olmak üzere udenafil grubunda DNA hasarı daha düşük bulunmuştur. Sasaki ve ark. karaciğer için karsinojenik maddelerin komet örnekleme incelemesinde karaciğer, böbrek, kemik, dalak ve akciğerde etkilerini çalışmışlardır (146). Böbrek dokusunda komet yönteminin karsinojen maddelerden bazılarının sadece karaciğerde değil böbrek ve diğer dokularda da hasara neden olduklarını göstermişlerdir. Karahalil ve ark. alt ekstremitte cerrahisi yapılan hastalarda iskemi öncesi, 30 dk iskemi sonrasında ve reperfüzyon sonrası oluşan I/R hasarına bağlı DNA hasarını araştırmışlardır (147). Komet örnekleme analizinde gruplar arasında kuyruk yoğunluğuna bakılmış ve 3 grup arasında da anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Her ne kadar bizim çalışmamızla Karahalil

ve ark. I/R hasar modeli aynı olmasada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Willy ve ark. alt ekstremite cerrahisi yapılan hastalarda iskemi öncesi, iskemi sonrasında (ortalama iskemi süresi (65-130 dk) ve reperfüzyon sonrası (0., 2., 5., 30. dk) oluşan I/R hasarına bağlı DNA hasarını araştırmışlardır (148). Çalışmalarında komet örnekleme analizinde gruplar arasında kuruk momentini baz almışlardır. İskemi öncesi ve iskemi sırasında DNA hasarı arasında fark bulunmazken 5. ve 30. dk reperfüzyon döneminde DNA hasarının oluştuğunu ve 2 saat sonrasında bile bu hasarın iskemi öncesi düzeye geri dönmediğini bildirmişlerdir. Stoyanova ve ark. çalışmalarında KBY tanısı almış hastalarda oksidatif stres ve DNA hasar düzeylerini karşılaştırmışlardır (149). KBY hastalarını hemodiyaliz alanlar, GFR düzeyi 30 ml/dk altı olanlar ve GFR düzeyi 30-90 ml/dk arasında olanlar olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır. Hemodiyaliz hasta grubunda oksidatif stres oranının diğer gruplara göre yüksek olduğunu ve buna paralel olarak komet örnekleme analizinde DNA hasar oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (149).

Ahn ve ark. akut spinal kord hasarı modeli oluşturdukları ratlarda udenafilin ereksiyon düzeyindeki etkisini araştırmışlardır (150). Renal arter seviyesinin altında oluşturdukları iskemiye bağlı hasar ve spinal kordun L2-4 düzeyindeki kesi ile oluşturdukları hasar modelinde farklı dozlarda udenafilin etkinliğini çalışmışlardır. Sonuç olarak hem iskemik hemde kesi ile oluşturulan hasar modelinde udenafilin penil ereksiyonu sağladığını, bu etkisinin doza bağlı olarak arttığını ve NO donörü olan sodyum nitropurid ile bu etkinin belirginleştiğini saptamışlardır. Özgür ve ark. testiküler I/R hasar modelinde iki PDE5 inhibitörü olan sildenafil ve udenafilin etkilerini araştırmışlardır (151). Her iki ajanında belirgin düzeyde doku MDA düzeylerini azalttığını, I/R grubunda doku nitrit seviyesinin azaldığını ve dokuda oluşan ödem, konjesyon ve hemoraji gibi histopatolojik hasar bulgularını azalttığını saptamışlardır.

Willerson ve ark. miyokardiyal iskemi modelinde mannitolün etkisini araştırmışlardır (152). Mannitol verilen grupta miyokardiyal fonksiyonun düzeldiğini, S-T seviyesinin düştüğünü, toplam koroner kan akımının arttığını, kollateral koroner kan akımının arttığını ve ek olarak iskemik miyokardiyal alanın azaldığını saptamışlardır. Kalimeris ve ark. endovasküler aort anevrizma onarımında hidrasyon

ve mannitolün böbrek koruyucu etkisini araştırmışlardır (153). Mannitol grubunda ilk 24 saatte Kr seviyesinin daha düşük olduğunu, 72 saatte Kr düzeylerinin benzer olduğunu, Kr klirensi ve idrar NGAL seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığını ve hidrasyon+mannitolün minimal böbrek koruyucu etkisi olduğunu saptamışlardır. Sağsöz ve ark. ovaryan I/R hasarında mannitol, vitamin C ve verapamilin etkilerini araştırmışlardır (154). Lipit peroksidasyonu düzeyi ve histopatolojik hasar bulgularının mannitol ve vitamin C gruplarında azaldığını saptamışlardır. Morawski ve ark. ismenik hasar sonrası mannitolün işitsel fonksiyonlar üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; mannitol verilmesiyle oluşan hasarın azaldığını ve işitsel fonksiyonlarda iyileşme görüldüğünü bildirmişlerdir (155).

Hersey ve Poullis yaptıkları derlemede açık abdominal aort anevrizma cerrahisinde mannitol kullanımının böbrek koruyucu etkisini araştırmışlardır (156). Derlemeye alınan çalışmaların birkaçında mannitolün akut dönemde böbrek fonksiyonlarında düzelme olsada sonuç olarak mannitol kullanımının böbrek yetmezliği insidansını azaltmada etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Power ve ark. parsiyel nefrektomi yapılan hastalarda iskemi öncesi mannitol kullanımının böbrek fonksiyonu üzerine etkisini araştırmışlardır (157). Uzun dönem sonuçlara (takip süresi en az 6 ay) bakıldığında mannitol kullanılan hastaların kullanılmayanlara göre renal fonksiyon düzeyinde anlamlı bir artış olmadığını bildirmişlerdir. Karajala ve ark. yaptıkları derlemede ABY tedavisinde mannitolde dahil olmak üzere diüretiklerin böbrek koruyucu ajanlar olarak kullanılmaması gerektiğini ve tedavide yalnızca sıvı balansını ayarlama da yardımcı olarak kullanılmalrı gerektiğini bildirmiştir. Yang ve ark. yaptıkları metaanalizde intravasküler mannitol verilmesinin akut böbrek hasarını önleyici etkisini araştırmışlardır (158). Metaanaliz sonucunda mannitolün yeterli sıvı tedavisi alan hastalarda akut böbrek hasarını azaltmada ek yarar sağlamadığını ve bunun yanı sıra kontrast madde nefropatisinde ise ek olarak böbrekte oluşan hasarı arttırdığını bildirmişlerdir.

6. SONUÇ

Renal iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda mannitol ve udenafil kullanımının böbrek koruyucu etkilerinin karşılaştırıldığı çalışmamızda;

1- İskemi-reperfüzyon ile böbrekte ciddi oranda hasar meydana geldiği ve bu hasarın post operatif 1. günde arttığı,

2- İskemi-reperfüzyon ile böbrekte oluşan hasarın yalnızca sitotoksik düzeyde kaldığı ve belirgin genotoksik hasar düzeyine ulaşmadığı,

3- Mannitol'ün böbrek fonksiyonlarını düzeltmede minimal fayda sağladığı,

4- Udenafil'in böbrek fonksiyonlarını düzeltmede belirgin etkinlik gösterdiği ve bu etkinin neredeyse kontrol grubuna yakın olduğu,

5- NGAL düzeyinin böbrek I/R hasarını göstermede iyi bir belirteç olduğu ve renal fonksiyon testleriyle iyi kolerasyon gösterdiği,

6- Komet örnekleme yöntemiyle bizim oluşturduğumuz I/R modelinde genotoksik hasarın oluşmamasının daha şiddetli ve uzun süreli I/R modellerinde anlamlı hasar düzeyine ulaşabileceği,

7- Nitrit/nitrat ölçümüyle belirlenen NO seviyelerinde anlamlı düzeyde farklılık olmadığı ve NO yolağı ile ilgili daha spesifik belirteçlerin kullanılmasının gerektiği,

8- Yaptığımız deneysel çalışmada udenafilin böbrek koruyucu etkilerinin klinik deneylerle de desteklenmesi gerektiği, NGAL düzeyinin böbrek fonksiyon düzeyinin bir belirteci olarak klinik kullanımda girmesi gerektiği,

sonuçlarına varılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. Choi DE, Jeong JY, Lim BJ, Chung S, Chang YK, Lee SJ, et al. Pretreatment of sildenafil attenuates ischemia-reperfusion renal injury in rats. *American journal of physiology Renal physiology* 2009;297:F362-70.
2. Medeiros PJ, Villarim Neto A, Lima FP, Azevedo IM, Leao LR, Medeiros AC. Effect of sildenafil in renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Acta cirurgica brasileira / Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa em Cirurgia* 2010;25:490-5.
3. Sancaktutar AA, Bodakci MN, Hatipoglu NK, Soylemez H, Basarili K, Turkcu G. The protective effects of pomegranate extracts against renal ischemia-reperfusion injury in male rats. *Urology annals* 2014;6:46-50.
4. Legrand M, Mik EG, Johannes T, Payen D, Ince C. Renal hypoxia and dysoxia after reperfusion of the ischemic kidney. *Mol Med* 2008;14:502-16.
5. Bagshaw SM. The long-term outcome after acute renal failure. *Current opinion in critical care* 2006;12:561-6.
6. Korkeila M, Ruokonen E, Takala J. Costs of care, long-term prognosis and quality of life in patients requiring renal replacement therapy during intensive care. *Intensive care medicine* 2000;26:1824-31.
7. Lameire N, Vanholder R. Pathophysiologic features and prevention of human and experimental acute tubular necrosis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2001;12 Suppl 17:S20-32.
8. Lien YH, Lai LW, Silva AL. Pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury: lessons from knockout mice. *Life sciences* 2003;74:543-52.
9. Liangos O, Wald R, O'Bell JW, Price L, Pereira BJ, Jaber BL. Epidemiology and outcomes of acute renal failure in hospitalized patients: a national survey. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2006;1:43-51.
10. Jayson M, Sanders H. Increased incidence of serendipitously discovered renal cell carcinoma. *Urology* 1998;51:203-5.
11. Novara G, Ficarra V, Antonelli A, Artibani W, Bertini R, Carini M, et al. Validation of the 2009 TNM version in a large multi-institutional cohort of patients treated for renal cell carcinoma: are further improvements needed? *European urology* 2010;58:588-95.
12. Fadili W, Habib Allah M, Laouad I. Chronic renal allograft dysfunction: risk factors, immunology and prevention. *Arab journal of nephrology and transplantation* 2013;6:45-50.

13. Geddes CC, Woo YM, Jardine AG. The impact of delayed graft function on the long-term outcome of renal transplantation. *Journal of nephrology* 2002;15:17-21.
14. Riera M, Torras J, Herrero I, Valles J, Paubert-Braquet M, Cruzado JM, et al. Neutrophils accentuate renal cold ischemia-reperfusion injury. Dose-dependent protective effect of a platelet-activating factor receptor antagonist. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1997;280:786-94.
15. Oruc O, Inci K, Aki FT, Zeybek D, Muftuoglu SF, Kilinc K, et al. Sildenafil attenuates renal ischemia reperfusion injury by decreasing leukocyte infiltration. *Acta histochemica* 2010;112:337-44.
16. du Toit EF, Rossouw E, Salie R, Opie LH, Lochner A. Effect of sildenafil on reperfusion function, infarct size, and cyclic nucleotide levels in the isolated rat heart model. *Cardiovascular drugs and therapy / sponsored by the International Society of Cardiovascular Pharmacotherapy* 2005;19:23-31.
17. Sesti C, Florio V, Johnson EG, Kloner RA. The phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil reduces myocardial infarct size. *International journal of impotence research* 2007;19:55-61.
18. Shilliday I, Allison ME. Diuretics in acute renal failure. *Renal failure* 1994;16:3-17.
19. Bragadottir G, Redfors B, Ricksten SE. Mannitol increases renal blood flow and maintains filtration fraction and oxygenation in postoperative acute kidney injury: a prospective interventional study. *Crit Care* 2012;16:R159.
20. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *The Surgical clinics of North America* 1992;72:65-83.
21. Wilhelm J. Metabolic aspects of membrane lipid peroxidation. *Acta Universitatis Carolinae Medica Monographia* 1990;137:1-53.
22. Gueler F, Park JK, Rong S, Kirsch T, Lindschau C, Zheng W, et al. Statins attenuate ischemia-reperfusion injury by inducing heme oxygenase-1 in infiltrating macrophages. *The American journal of pathology* 2007;170:1192-9.
23. Bonventre JV. Mediators of ischemic renal injury. *Annual review of medicine* 1988;39:531-44.
24. Honda N, Hishida A. Pathophysiology of experimental nonoliguric acute renal failure. *Kidney international* 1993;43:513-21.
25. Waz WR, Van Liew JB, Feld LG. Nitric oxide metabolism following unilateral renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Pediatr Nephrol* 1998;12:26-9.
26. Jennings RB, Reimer KA. The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annual review of medicine* 1991;42:225-46.

27. Green CJ, Gower JD, Healing G, Cotterill LA, Fuller BJ, Simpkin S. The importance of iron, calcium and free radicals in reperfusion injury: an overview of studies in ischaemic rabbit kidneys. *Free radical research communications* 1989;7:255-64.
28. Orrenius S, Burkitt MJ, Kass GE, Dypbukt JM, Nicotera P. Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of neurology* 1992;32 Suppl:S33-42.
29. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *The American journal of physiology* 1988;254:G768-74.
30. Homer-Vanniasinkam S, Crinnion JN, Gough MJ. Post-ischaemic organ dysfunction: a review. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 1997;14:195-203.
31. Monsinjon T, Richard V, Fontaine M. Complement and its implications in cardiac ischemia/reperfusion: strategies to inhibit complement. *Fundamental & clinical pharmacology* 2001;15:293-306.
32. Akkus I, Kalak S, Vural H, Caglayan O, Menekse E, Can G, et al. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 1996;244:221-7.
33. Fu X, Li S, Jia G, Gou L, Tian X, Sun L, et al. Protective effect of the nitric oxide pathway in L-citrulline renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Folia biologica* 2013;59:225-32.
34. Kacmaz A, Polat A, User Y, Tilki M, Ozkan S, Sener G. Octreotide improves reperfusion-induced oxidative injury in acute abdominal hypertension in rats. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2004;8:113-9.
35. Davies SJ, Reichardt-Pascal SY, Vaughan D, Russell GI. Differential effect of ischaemia-reperfusion injury on anti-oxidant enzyme activity in the rat kidney. *Experimental nephrology* 1995;3:348-54.
36. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-9.
37. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *The New England journal of medicine* 1985;312:159-63.
38. Hinder RA, Stein HJ. Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg* 1991;126:104-5.
39. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical biochemistry* 1993;26:351-7.

40. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *The American journal of medicine* 1991;91:14S-22S.
41. Pryor WA, Stanley JP. Letter: A suggested mechanism for the production of malonaldehyde during the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Nonenzymatic production of prostaglandin endoperoxides during autoxidation. *The Journal of organic chemistry* 1975;40:3615-7.
42. Farmer EE, Davoine C. Reactive electrophile species. *Current opinion in plant biology* 2007;10:380-6.
43. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD* 2005;15:316-28.
44. Moore K, Roberts LJ, 2nd. Measurement of lipid peroxidation. *Free radical research* 1998;28:659-71.
45. Sheridan AM, Bonventre JV. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Current opinion in nephrology and hypertension* 2000;9:427-34.
46. Buja LM. Myocardial ischemia and reperfusion injury. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 2005;14:170-5.
47. Burne-Taney MJ, Rabb H. The role of adhesion molecules and T cells in ischemic renal injury. *Current opinion in nephrology and hypertension* 2003;12:85-90.
48. Dragun D, Haller H. Diapedesis of leukocytes: antisense oligonucleotides for rescue. *Experimental nephrology* 1999;7:185-92.
49. Ng CS, Wan S, Yim AP. Pulmonary ischaemia-reperfusion injury: role of apoptosis. *The European respiratory journal* 2005;25:356-63.
50. Savransky V, Molls RR, Burne-Taney M, Chien CC, Racusen L, Rabb H. Role of the T-cell receptor in kidney ischemia-reperfusion injury. *Kidney international* 2006;69:233-8.
51. Arnaout MA. Leukocyte adhesion molecules deficiency: its structural basis, pathophysiology and implications for modulating the inflammatory response. *Immunological reviews* 1990;114:145-80.
52. Wuthrich RP. Intercellular adhesion molecules and vascular cell adhesion molecule-1 and the kidney. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1992;3:1201-11.
53. Harlan JM, Winn RK. Leukocyte-endothelial interactions: clinical trials of anti-adhesion therapy. *Critical care medicine* 2002;30:S214-9.

54. de Groot H, Rauen U. Ischemia-reperfusion injury: processes in pathogenetic networks: a review. *Transplantation proceedings* 2007;39:481-4.
55. Hoste EA, Cruz DN, Davenport A, Mehta RL, Piccinni P, Tetta C, et al. The epidemiology of cardiac surgery-associated acute kidney injury. *The International journal of artificial organs* 2008;31:158-65.
56. Swedko PJ, Clark HD, Paramsothy K, Akbari A. Serum creatinine is an inadequate screening test for renal failure in elderly patients. *Archives of internal medicine* 2003;163:356-60.
57. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006;105:485-91.
58. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231-8.
59. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews* 1991;43:109-42.
60. Arima S, Ito S. Isolated juxtaglomerular apparatus as a tool for exploring glomerular hemodynamics: application of microperfusion techniques. *Experimental nephrology* 2000;8:304-11.
61. Wu F, Park F, Cowley AW, Jr., Mattson DL. Quantification of nitric oxide synthase activity in microdissected segments of the rat kidney. *The American journal of physiology* 1999;276:F874-81.
62. Kosonen O, Kankaanranta H, Malo-Ranta U, Moilanen E. Nitric oxide-releasing compounds inhibit neutrophil adhesion to endothelial cells. *European journal of pharmacology* 1999;382:111-7.
63. Brown R, Ollerstam A, Persson AE. Neuronal nitric oxide synthase inhibition sensitizes the tubuloglomerular feedback mechanism after volume expansion. *Kidney international* 2004;65:1349-56.
64. Buttery LD, Evans TJ, Springall DR, Carpenter A, Cohen J, Polak JM. Immunochemical localization of inducible nitric oxide synthase in endotoxin-treated rats. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1994;71:755-64.
65. Johannes T, Mik EG, Ince C. Nonresuscitated endotoxemia induces microcirculatory hypoxic areas in the renal cortex in the rat. *Shock* 2009;31:97-103.
66. Kone BC. Localization and regulation of nitric oxide synthase isoforms in the kidney. *Seminars in nephrology* 1999;19:230-41.

67. Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of nitric oxide in the normal kidney. *The American journal of physiology* 1997;272:F561-78.
68. Tojo A, Gross SS, Zhang L, Tisher CC, Schmidt HH, Wilcox CS, et al. Immunocytochemical localization of distinct isoforms of nitric oxide synthase in the juxtaglomerular apparatus of normal rat kidney. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1994;4:1438-47.
69. Komers R, Anderson S. Paradoxes of nitric oxide in the diabetic kidney. *American journal of physiology Renal physiology* 2003;284:F1121-37.
70. Morris SM, Jr., Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *The American journal of physiology* 1994;266:E829-39.
71. Yu L, Gengaro PE, Niederberger M, Burke TJ, Schrier RW. Nitric oxide: a mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994;91:1691-5.
72. Ling H, Gengaro PE, Edelstein CL, Martin PY, Wangsiripaisan A, Nemenoff R, et al. Effect of hypoxia on proximal tubules isolated from nitric oxide synthase knockout mice. *Kidney international* 1998;53:1642-6.
73. Noiri E, Peresleni T, Miller F, Goligorsky MS. In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia. *The Journal of clinical investigation* 1996;97:2377-83.
74. Brodsky SV, Yamamoto T, Tada T, Kim B, Chen J, Kajiya F, et al. Endothelial dysfunction in ischemic acute renal failure: rescue by transplanted endothelial cells. *American journal of physiology Renal physiology* 2002;282:F1140-9.
75. Matousovic K, Tsuboi Y, Walker H, Grande JP, Dousa TP. Inhibitors of cyclic nucleotide phosphodiesterase isozymes block renal tubular cell proliferation induced by folic acid. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1997;130:487-95.
76. Wallis RM, Corbin JD, Francis SH, Ellis P. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function, and the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *The American journal of cardiology* 1999;83:3C-12C.
77. Salem EA, Kendirci M, Hellstrom WJ. Udenafil, a long-acting PDE5 inhibitor for erectile dysfunction. *Curr Opin Investig Drugs* 2006;7:661-9.
78. Oh TY, Kang KK, Ahn BO, Yoo M, Kim WB. Erectogenic effect of the selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, DA-8159. *Archives of pharmacal research* 2000;23:471-6.
79. Ahn GJ, Chung HK, Lee CH, Kang KK, Ahn BO. Increased expression of the nitric oxide synthase gene and protein in corpus cavernosum by repeated dosing of udenafil in a rat model of chemical diabetogenesis. *Asian journal of andrology* 2009;11:435-42.

80. Ji HY, Lee HW, Kim HH, Kim DS, Yoo M, Kim WB, et al. Role of human cytochrome P450 3A4 in the metabolism of DA-8159, a new erectogenic. *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems* 2004;34:973-82.
81. Shim HJ, Lee EJ, Kim SH, Yoo M, Kwon JW, Kim WB, et al. Pharmacokinetics, stability, and blood partition of DA-8159, a new phosphodiesterase V inhibitor. *Research communications in molecular pathology and pharmacology* 2000;108:275-86.
82. Paick JS, Kim SW, Yang DY, Kim JJ, Lee SW, Ahn TY, et al. The efficacy and safety of udenafil, a new selective phosphodiesterase type 5 inhibitor, in patients with erectile dysfunction. *The journal of sexual medicine* 2008;5:946-53.
83. Paick JS, Kim SW, Park YK, Hyun JS, Park NC, Lee SW, et al. The efficacy and safety of udenafil [Zydena] for the treatment of erectile dysfunction in hypertensive men taking concomitant antihypertensive agents. *The journal of sexual medicine* 2009;6:3166-76.
84. Moon du G, Yang DY, Lee CH, Ahn TY, Min KS, Park K, et al. A therapeutic confirmatory study to assess the safety and efficacy of Zydena (udenafil) for the treatment of erectile dysfunction in male patients with diabetes mellitus. *The journal of sexual medicine* 2011;8:2048-61.
85. Venkataraman R, Kellum JA. Prevention of acute renal failure. *Chest* 2007;131:300-8.
86. Ho KM, Power BM. Benefits and risks of furosemide in acute kidney injury. *Anaesthesia* 2010;65:283-93.
87. Ho KM, Sheridan DJ. Meta-analysis of frusemide to prevent or treat acute renal failure. *BMJ* 2006;333:420.
88. Karajala V, Mansour W, Kellum JA. Diuretics in acute kidney injury. *Minerva anesthesiologica* 2009;75:251-7.
89. Goksin I, Adali F, Enli Y, Akbulut M, Teke Z, Sackan G, et al. The effect of phlebotomy and mannitol on acute renal injury induced by ischemia/reperfusion of lower limbs in rats. *Annals of vascular surgery* 2011;25:1118-28.
90. Khoury W, Namnesnikov M, Fedorov D, Abu-Gazala S, Weinbroum AA. Mannitol attenuates kidney damage induced by xanthine oxidase-associated pancreas ischemia-reperfusion. *The Journal of surgical research* 2010;160:163-8.
91. Gubern JM, Sancho JJ, Simo J, Sitges-Serra A. A randomized trial on the effect of mannitol on postoperative renal function in patients with obstructive jaundice. *Surgery* 1988;103:39-44.
92. Ip-Yam PC, Murphy S, Baines M, Fox MA, Desmond MJ, Innes PA. Renal function and proteinuria after cardiopulmonary bypass: the effects of temperature and mannitol. *Anesthesia and analgesia* 1994;78:842-7.

93. Kellum JA. The use of diuretics and dopamine in acute renal failure: a systematic review of the evidence. *Crit Care* 1997;1:53-59.
94. Plusa SM, Clark NW. Prevention of postoperative renal dysfunction in patients with obstructive jaundice: a comparison of mannitol-induced diuresis and oral sodium taurocholate. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh* 1991;36:303-5.
95. Gadallah MF, Lynn M, Work J. Case report: mannitol nephrotoxicity syndrome: role of hemodialysis and postulate of mechanisms. *The American journal of the medical sciences* 1995;309:219-22.
96. Kim MY, Park JH, Kang NR, Jang HR, Lee JE, Huh W, et al. Increased risk of acute kidney injury associated with higher infusion rate of mannitol in patients with intracranial hemorrhage. *Journal of neurosurgery* 2014;120:1340-8.
97. Visweswaran P, Massin EK, Dubose TD, Jr. Mannitol-induced acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1997;8:1028-33.
98. Dizdaroglu M. Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Methods in enzymology* 1994;234:3-16.
99. Shigenaga MK, Ames BN. Assays for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: a biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free radical biology & medicine* 1991;10:211-6.
100. Aruoma OI, Halliwell B, Gajewski E, Dizdaroglu M. Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and ferric ion chelates. *The Journal of biological chemistry* 1989;264:20509-12.
101. Aruoma OI, Halliwell B, Dizdaroglu M. Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *The Journal of biological chemistry* 1989;264:13024-8.
102. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutation research* 1992;275:331-42.
103. Orvieto MA, Zorn KC, Mendiola FP, Gong EM, Lucioni A, Mikhail AA, et al. Ischemia preconditioning does not confer resilience to warm ischemia in a solitary porcine kidney model. *Urology* 2007;69:984-7.
104. Pasupathy S, Homer-Vanniasinkam S. Ischaemic preconditioning protects against ischaemia/reperfusion injury: emerging concepts. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2005;29:106-15.
105. Secin FP. Importance and limits of ischemia in renal partial surgery: experimental and clinical research. *Advances in urology* 2008:102461.

106. Guan Z, Gobe G, Willgoss D, Endre ZH. Renal endothelial dysfunction and impaired autoregulation after ischemia-reperfusion injury result from excess nitric oxide. *American journal of physiology Renal physiology* 2006;291:F619-28.
107. Meyer F, Silva DS, Bombonato GM, Lizana JN, Dziedricki LF, Krieger ML. Histological analysis and the blood flux in kidneys submitted to different periods of ischemia/reperfusion. *Acta cirurgica brasileira / Sociedade Brasileira para Desenvolvimento Pesquisa em Cirurgia* 2011;26:451-5.
108. Kiris I, Kapan S, Kilbas A, Yilmaz N, Altuntas I, Karahan N, et al. The protective effect of erythropoietin on renal injury induced by abdominal aortic-ischemia-reperfusion in rats. *The Journal of surgical research* 2008;149:206-13.
109. Kaminski KA, Bonda TA, Korecki J, Musial WJ. Oxidative stress and neutrophil activation--the two keystones of ischemia/reperfusion injury. *International journal of cardiology* 2002;86:41-59.
110. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2003;14:2534-43.
111. Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, et al. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. *Environmental and molecular mutagenesis* 2000;35:206-21.
112. Yang JW, Han ST, Kim YS, Song SH, Kim BR, Eom MS, et al. Effects of a cGMP-specific phosphodiesterase inhibitor on expression of endothelial nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in rats with cyclosporine-induced nephrotoxicity. *Transplantation proceedings* 2010;42:4625-32.
113. Burke TJ, Cronin RE, Duchin KL, Peterson LN, Schrier RW. Ischemia and tubule obstruction during acute renal failure in dogs: mannitol in protection. *The American journal of physiology* 1980;238:F305-14.
114. Wever KE, Menting TP, Rovers M, van der Vliet JA, Rongen GA, Masereeuw R, et al. Ischemic preconditioning in the animal kidney, a systematic review and meta-analysis. *PloS one* 2012;7:e32296.
115. Polcari AJ, Farooq AV, Woods ME, Ripsch MS, Picken M, Turk TM, et al. Effect of the phosphodiesterase-5 inhibitor zaprinast on ischemia-reperfusion injury in rats. *Journal of endourology / Endourological Society* 2013;27:338-42.
116. Chander V, Chopra K. Role of nitric oxide in resveratrol-induced renal protective effects of ischemic preconditioning. *Journal of vascular surgery* 2005;42:1198-205.
117. Dawson JL. Jaundice and Anoxic Renal Damage: Protective Effect of Mannitol. *British medical journal* 1964;1:810-1.

- 118.Behnia R, Koushanpour E, Brunner EA. Effects of hyperosmotic mannitol infusion on hemodynamics of dog kidney. *Anesthesia and analgesia* 1996;82:902-8.
- 119.Sagiroglu T, Sezer A, Torun N, Yalta T, Yagci MA, Sagiroglu G, et al. Protective effect of everolimus on renal ischemia reperfusion injury in rats. *Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia* 2014;25:294-302.
- 120.Sohotnik R, Nativ O, Abbasi A, Awad H, Frajewicki V, Bishara B, et al. Phosphodiesterase-5 inhibition attenuates early renal ischemia-reperfusion-induced acute kidney injury: assessment by quantitative measurement of urinary NGAL and KIM-1. *American journal of physiology Renal physiology* 2013;304:F1099-104.
- 121.Kucuk A, Yucel M, Erkasap N, Tosun M, Koken T, Ozkurt M, et al. The effects of PDE5 inhibitory drugs on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Molecular biology reports* 2012;39:9775-82.
- 122.Grossini E, Molinari C, Pollesello P, Bellomo G, Valente G, Mary D, et al. Levosimendan protection against kidney ischemia/reperfusion injuries in anesthetized pigs. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2012;342:376-88.
- 123.Ahmadiasl N, Banaei S, Alihemmati A, Baradaran B, Azimian E. The anti-inflammatory effect of erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in male rats. *Advanced pharmaceutical bulletin* 2014;4:49-54.
- 124.Bozkurt Y, Firat U, Atar M, Sancaktutar AA, Pembegül N, Soylemez H, et al. The Protective Effect of Ellagic Acid Against Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Male Rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012;18:823-28.
- 125.Guzeloglu M, Yalcinkaya F, Atmaca S, Bagriyanik A, Oktar S, Yuksel O, et al. The beneficial effects of tadalafil on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urologia internationalis* 2011;86:197-203.
- 126.Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengelov H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *The Journal of biological chemistry* 1993;268:10425-32.
- 127.Flower DR, North AC, Attwood TK. Mouse oncogene protein 24p3 is a member of the lipocalin protein family. *Biochemical and biophysical research communications* 1991;180:69-74.
- 128.Liu Q, Ryon J, Nilsen-Hamilton M. Uterocalin: a mouse acute phase protein expressed in the uterus around birth. *Molecular reproduction and development* 1997;46:507-14.
- 129.Stoesz SP, Gould MN. Overexpression of neu-related lipocalin (NRL) in neu-initiated but not ras or chemically initiated rat mammary carcinomas. *Oncogene* 1995;11:2233-41.

130. Triebel S, Blaser J, Reinke H, Tschesche H. A 25 kDa alpha 2-microglobulin-related protein is a component of the 125 kDa form of human gelatinase. *FEBS letters* 1992;314:386-8.
131. Xu SY, Carlson M, Engstrom A, Garcia R, Peterson CG, Venge P. Purification and characterization of a human neutrophil lipocalin (HNL) from the secondary granules of human neutrophils. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation* 1994;54:365-76.
132. Malyszko J, Malyszko JS, Mysliwiec M. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin correlates with kidney function in renal allograft recipients. *Clinical transplantation* 2009;23:681-6.
133. Zappitelli M, Washburn KK, Arikan AA, Loftis L, Ma Q, Devarajan P, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care* 2007;11:R84.
134. Magnusson NE, Hornum M, Jorgensen KA, Hansen JM, Bistrup C, Feldt-Rasmussen B, et al. Plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) is associated with kidney function in uraemic patients before and after kidney transplantation. *BMC nephrology* 2012;13:8.
135. Chatterjee PK, Patel NS, Kvale EO, Cuzzocrea S, Brown PA, Stewart KN, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney international* 2002;61:862-71.
136. Wangsiripaisan A, Gengaro PE, Nemenoff RA, Ling H, Edelstein CL, Schrier RW. Effect of nitric oxide donors on renal tubular epithelial cell-matrix adhesion. *Kidney international* 1999;55:2281-8.
137. Korkmaz A, Kolankaya D. Inhibiting inducible nitric oxide synthase with rutin reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Canadian journal of surgery Journal canadien de chirurgie* 2013;56:6-14.
138. Turker T. Renal İskemi Reperfüzyon Modlinde Tadalafil'in APAF-1, eNOS, iNOS ve Lipid Peroksidasyon Ürünleri Üzerine Olan Etkileri. *Tıpta Uzmanlık Tezi* 2011;Karaelmas Üniversitesi.
139. Emre MH, Erdogan H, Fadillioglu E. Effect of BQ-123 and nitric oxide inhibition on liver in rats after renal ischemia-reperfusion injury. *General physiology and biophysics* 2006;25:195-206.
140. Yin M, Kurvers HA, Tangelder GJ, Booster MH, Daemen JH, Kootstra G. Intravital microscope studies of the ischemically injured rat kidney during the early phase of reperfusion. *Transplantation proceedings* 1995;27:2847-8.
141. Gasanov F, Aytac B, Vuruskan H. The effects of tadalafil on renal ischemia reperfusion injury: an experimental study. *Bosnian journal of basic medical sciences / Udruzenje basicnih mediciniskih znanosti = Association of Basic Medical Sciences* 2011;11:158-62.

142. Chatterjee PK, Patel NS, Sivarajah A, Kvale EO, Dugo L, Cuzzocrea S, et al. GW274150, a potent and highly selective inhibitor of iNOS, reduces experimental renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney international* 2003;63:853-65.
143. Furuu A, Miyazaki M, Abe K, Tsukasaki S, Shiohita K, Sasaki O, et al. Expression of endothelial and inducible nitric oxide synthase in human glomerulonephritis. *Kidney international* 1998;53:1760-8.
144. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. *Kidney international* 2002;61:855-61.
145. Dias AT, Rodrigues BP, Porto ML, Gava AL, Balarini CM, Freitas FP, et al. Sildenafil ameliorates oxidative stress and DNA damage in the stenotic kidneys in mice with renovascular hypertension. *Journal of translational medicine* 2014;12:35.
146. Sasaki YF, Izumiyama F, Nishidate E, Matsusaka N, Tsuda S. Detection of rodent liver carcinogen genotoxicity by the alkaline single-cell gel electrophoresis (Comet) assay in multiple mouse organs (liver, lung, spleen, kidney, and bone marrow). *Mutation research* 1997;391:201-14.
147. Karahalil B, Polat S, Senkoylu A, Bolukbasi S. Evaluation of DNA damage after tourniquet-induced ischaemia/reperfusion injury during lower extremity surgery. *Injury* 2010;41:758-62.
148. Willy C, Dahouk S, Starck C, Kaffenberger W, Gerngross H, Plappert UG. DNA damage in human leukocytes after ischemia/reperfusion injury. *Free radical biology & medicine* 2000;28:1-12.
149. Stoyanova E, Sandoval SB, Zuniga LA, El-Yamani N, Coll E, Pastor S, et al. Oxidative DNA damage in chronic renal failure patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2010;25:879-85.
150. Ahn BO, Kang KK, Ahn GJ, Kwon JW, Kim WB, Kang KS, et al. Efficacy of DA-8159, a new PDE5 inhibitor, for inducing penile erection in rabbits with acute spinal cord injury. *International journal of impotence research* 2003;15:405-11.
151. Ozgur BC, Telli O, Yuceturk CN, Sarici H, Ozer E, Surer H, et al. The Effect of Sildenafil and Udenafil on Testicular Damage Following Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *The Journal of urology* 2014.
152. Willerson JT, Powell WJ, Jr., Guiney TE, Stark JJ, Sanders CA, Leaf A. Improvement in myocardial function and coronary blood flow in ischemic myocardium after mannitol. *The Journal of clinical investigation* 1972;51:2989-98.
153. Kalimeris K, Nikolakopoulos N, Riga M, Christodoulaki K, Moulakakis KG, Dima C, et al. Mannitol and Renal Dysfunction after Endovascular Aortic Aneurysm Repair Procedures: A Randomized Trial. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia* 2013.

- 154.Sagsoz N, Kisa U, Apan A. Ischaemia-reperfusion injury of rat ovary and the effects of vitamin C, mannitol and verapamil. *Hum Reprod* 2002;17:2972-6.
- 155.Morawski K, Telischi FF, Merchant F, Abiy LW, Lisowska G, Namyslowski G. Role of mannitol in reducing postischemic changes in distortion-product otoacoustic emissions (DPOAEs): a rabbit model. *The Laryngoscope* 2003;113:1615-22.
- 156.Hersey P, Poullis M. Does the administration of mannitol prevent renal failure in open abdominal aortic aneurysm surgery? *Interactive cardiovascular and thoracic surgery* 2008;7:906-9.
- 157.Power NE, Maschino AC, Savage C, Silberstein JL, Thorner D, Tarin T, et al. Intraoperative mannitol use does not improve long-term renal function outcomes after minimally invasive partial nephrectomy. *Urology* 2012;79:821-5.
- 158.Yang B, Xu J, Xu F, Zou Z, Ye C, Mei C, et al. Intravascular administration of mannitol for acute kidney injury prevention: a systematic review and meta-analysis. *PloS one* 2014;9:e85029.