



T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**FOSFODİESTERAZ 5 İNHİBİTÖRLERİNİN
RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA
ETKİSİ VE BU ETKİNİN İSKEMİ MODİFİYE
ALBUMİN DÜZEYİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR.ABDULLAH AKKURT

ÜROLOJİ UZMANLIK TEZİ

PROF.DR.HALUK EROL

TEZ DANIŞMANI

AYDIN 2014

FOSFODİESTERAZ 5 İNHİBİTÖRLERİNİN RENAL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARINA ETKİSİ VE BU ETKİNİN İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN DÜZEYİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

DR.ABDULLAH AKKURT

ÜROLOJİ UZMANLIK TEZİ

PROF.DR.HALUK EROL

TEZ DANIŞMANI

AYDIN 2014

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TPF-14040 numaralı proje olarak desteklenmiştir

TEŞEKKÜR

Ürololoji ihtisas eğitimim boyunca benden desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof.Dr. Haluk EROL'a, Prof.DR. Hakan GEMALMAZ'a, Prof.Dr. Mehmet DÜNDAR'a, Prof.DR.İzzet KOÇAK'a, Yrd.Doç.Dr. Akın Soner AMASYALI'ya ve Yrd.Doç.Dr. Ercan KAZAN' a, çalışma arkadaşlarım Dr. Mehmet YILDIZHAN, Dr. Mehmet Şirin ERTEK, Dr. Alper Nesip MANAV a ve hep yanımda olan Ailem ve nişanlım Elif'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım

Ayrıca tez çalışması sırasında bana desteklerini sunan Prof.Dr. Nil ÇULHACI'ya, Yrd.Doç.Dr. Mustafa YILMAZ'a veteriner hekim Serdar AKTAŞ'a ve arş.grv. Merve KATRANCI ya_ ayrıca teşekkürlerimi sunarım

DR.Abdullah AKKURT

TEŞEKKÜR.....	3
İÇİNDEKİLER.....	4
KISALTMALAR.....	6
TABLolar.....	7
ŞEKİLLER	8
RESİMLER.....	9
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	9
2. GENEL BİLGİLER.....	10
2.1. BÖBREĞİN ANATOMİSİ.....	10
2.1.1. Arterleri.....	10
2.1.2. Venleri.....	11
2.1.3. Sinirleri.....	11
2.1.4. Lenfatikleri.....	11
2.2. BÖBREĞİN HİSTOLOJİSİ.....	12
2.3. BÖBREĞİN FONKSİYONLARI.....	12
2.3.1. Su Dengesi.....	13
2.3.2. Elektrolit Dengesi.....	13
2.3.3. Asit Baz Dengesi.....	14
2.3.4. Non Protein Nitrojen Atıkların İttrahı	
2.3.4.1. Üre.....	15
2.3.4.2. Kreatinin.....	15
2.3.4.3. Ürik asit.....	15
2.3.5. Endokrin Fonksiyon.....	15
2.3.6. Glomerüllerin Fonksiyonları.....	16
2.3.7. Tubulerin Fonksiyonları.....	17
2.3.7.1. Proksimal Tubul.....	18

2.3.7.2. Henle Kulpu.....	18
2.3.7.3. Distal Tubul.....	18
2.3.7.4. Toplayıcı Tubul.....	18
2.4. BÖBREK KAN AKIMI	18
2.5. İSKEMİ	18
2.5.1. Geri Dönüşümlü Zedelenme.....	19
2.5.2. Geri Dönüşümsüz Zedelenme.....	19
2.5.3. Reperfüzyon.....	21
2.6. İSKEMİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ	23
2.7 TADALAFİL VE PDE5 RESEPTÖRÜ.....	25
2.8. İSKEMİ -MODİFİYE ALBÜMİN (IMA).....	26
2.9 NİTRİK OKSİT (NO).....	29
2.10 MALONİLDİALDEHİT (MDA)	34
2.11 PARŞİYEL NEFREKTOMİ.....	34
2.11.1 Açık parşiyel nefrektomi.....	34
2.11.2 Laparoskopik parşiyel nefrektomi.....	36
2.11.3 Özel endikasyonlar.....	37
2.11.4 İskemi süresi.....	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	38
3.1 prosedür.....	39
3.2 iskemi modifiye albumin (IMA),Nitrik oksit (NO) ve malonildialdehit (MDA) ölçümü.....	41
3.3 histopatolojik değerlendirme.....	42

3.4 veri analizi.....	44
3.5 biyokimyasal analiz.....	44
4.BULGULAR.....	45
4.1 Histopatolojik bulgular.....	45
4.2 Biyokimyasal bulgular.....	48
5. TARTIŞMA.....	51
6. SONUÇ.....	52
7.ÖZET.....	53
8.ABSTRACT.....	53
9. KAYNAKLAR.....	54
10. GÖRSELLERİN KAYNAKLARI.....	65

KISALTMALAR

PDE-5 İNH. :Fosfodiesteraz 5 inhibitörü

IMA: İskemi Modifiye Albumin

MDA: Malonil Dialdehit

İ-NOS: İndüklenebilir Nitrik Oksit

e-NOS: Endotelyal Nitrik Oksit

VKI: Vena Cava Inferior

ADH: Anti-diüretik Hormon

KA: Karbonik Anhidraz

GFH: Glomeruler Filtrasyon Hızı

ACTH: Adrenokortikotropik Hormon

ATP: Adenozin Trifosfat

AMP: Adenozin Monofosfat

GER: Granüler Endoplazma Retikulumu

RNA: Ribonükleik Asit

SOR: Serbest Oksijen Radikali

PMNL: Polimorfonükleer Lenfosit

ELAM-1: Endotelyal Adhezyon Molekülü

VCAM-1: Vasküler Adhezyon Molekülü

ABY: Akut Böbrek Yetmezliği

TABLolar

- 1.** NOS tipleri ve özellikleri
- 2.** Rat gruplarının dağılımı
- 3.** Renal hasarın histopatolojik sınıflaması
- 4.** Patolojik hasarın gruplara dağılımı
- 5.** Tüm grupların patolojik bulguları
- 6.** İma düzeyleri

7. NO düzeyleri
8. MDA düzeyleri
9. Tüm grupların sonuçları

ŞEKİLLER

- 1.Böbreğin vasküler anatomisi
- 2.Nefronun yapısı
- 3.İskemi reperfüzyon hasarının mekanizması
- 4.PDE-5 inhibitörlerinin etki mekanizması
5. PDE-5 reseptörün gözdeki etkileri
6. iskemi modifiye albumin yapısı
- 7.Serbest radikal oluşumu
- 8.Vasküler endotelde cGMP ve EDRF etkileşimi
9. Parsiyel nefrektomi

RESİMLER

- 1.İşlem aşamaları
- 2.Böbreğin ortaya konması
- 3.Renal pediküle klemp konması
4. intrakardiyak kan alınması
- 5.Rat serum tüpleri
6. IMA kiti
7. Sham grubu böbrek kesiti
8. İskemi grubu böbrek kesiti
- 9.Tadalafil verilen grub böbrek kesiti

1.GİRİŞ

Beklenen yaşam sürelerinin uzaması renal kanserlerde nefron koruyucu cerrahiyi ön plana çıkarmaktadır. Bundan dolayı renal iskemi zamanı oldukça önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda iskemi zamanının belirteci olarak İskemi Modifiye Albumin (İMA) ön plana çıkmaktadır. (1, 2, 3) Hayvan temelli çalışmalarda İMA düzeyi ile iskemi süresi arasında anlamlı korelasyonlar bulunmuştur (4). Aynı zamanda fosfodiesteraz-5 inhibitörlerinin (PDE 5) renal iskemi süresini uzattığına dair yine hayvan temelli çalışmalar mevcuttur (4, 5).

AMAC: Çalışmamızın öncelikli amacı Tadalafil kullanımının iskemi-reperfüzyon hasarındaki koruyucu etkisinin, IMA düzeyi çalışılarak ortaya konması ve nefron koruyucu cerrahi

uygulayacağımız hastalarda iskemi-reperfüzyon hasarını azaltmak ve güvenli iskemi süresini uzatmak açısından PDE-5 inhibitörlerinden Tadalafilin etkisini incelemek.

İskemi-reperfüzyon hasarının ortaya konmasında histopatolojik değerlendirmenin yanı sıra ve IMA düzeyinin dışında, NO ve MDA düzeylerinin de araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREĞİN ANATOMİSİ

Böbrekler retroperitoneal bölgede vertebral kolonun yanlarında T12 –L3 vertebralar seviyesinde bulunur. Karaciğerin konumu nedeni ile sağ böbrek sol böbreğe oranla bir miktar daha aşağıdadır. Erişkinlerde böbreğin uzunluğu 10-12 cm; genişliği 5-7 cm, kalınlığı 3-4 cm'dir. Yetişkin erkeklerde böbreğin ağırlığı yaklaşık 150 gr; kadınlarda 125 gr'dır. Çocuklarda ise bir böbreğin uzunluğu yaklaşık 2,5 vertebra korpusunun yüksekliği kadardır.

Sağ böbreğin komşuları; üstte sürrenal, önde karaciğer, hilum dolaylarında vena kava inferior (VKİ), duodenum ve altta çıkan kolondur. Sol böbreğin komşuları ise üstte sürrenal, dalak hilum dolaylarında pankreas; önde jejunum ve inen kolon ile komşudur. Böbrekler adrenal bezle birlikte Gerota Fasiası tarafından sarılmıştır. Bu fasianın iç ve dış yüzünde yağ dokusu mevcuttur. Üreterin genişlemesi ile oluşan renal pelvis ise ilkönce üç majör kalikse daha sonra 8 minör kalikse bölünür (6,7).

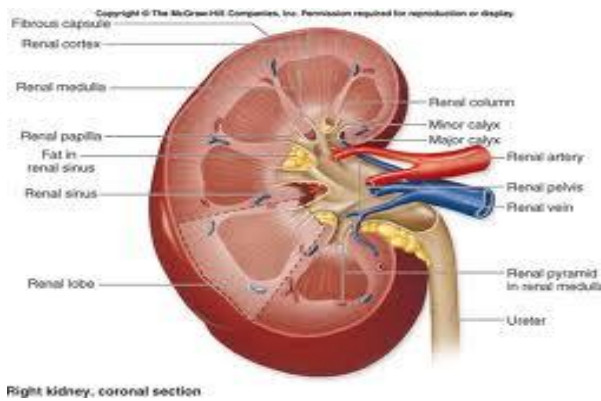
2.1.1. Arterleri

Abdominal aortanın dalları olan böbrek arterleri, sağ ve sol renal arter olarak ayrılır, üreter ile birlikte hilustan böbreğe girer. Renal arter anterior ve posterior dallara ayrılır. Posterior dal arka yüzün orta segmentine gider. Anterior dal hem alt hem üst polü hem de ön yüzü besler. Segmenter arterler her bir piramid içinde interlober arter olarak devam eder ve interlober arterler piramid tabanında arkuat arter adını alır. Arkuat arterlerden interlobüler arterler çıkar. İnterlobüler arterlerden çıkan afferent arterioller glomerüllere gider, glomerüllerden çıkan efferent arterioller ise tübüllere gider (7).

2.1.2. Venleri

Efferent arterioller peritübüler kapiller ağı oluşturur. Peritübüler kapillerler interlobular ven, arkuat ven, interlobar ven, renal ven ve daha sonra da vena kavaya drene olurlar Renal venler renal arterlerle birlikte ilerler.

Sağ renal ven sol renal vene oranla kısadır, doğrudan vena kavaya açılır. Sol renal vene ise inferior frenik, gonadal, adrenal ve 3. lomber ven açılır. Sağ renal ven çoğu kez tektir. Sol renal ven ise önce tekken aortaya yaklaştığında lomber venler, hemiazigos sistemi ve küçük paravertabral venlerle birleşir (7).



ŞEKİL 1:Böbreğin vasküler anatomisi

2.1.3. Sinirleri

Böbreğin sempatik lifleri n.splanchnicus minör, n.splanchnicus imus ve truncus sympathicus'un lumbal bölümünden, parasempatik lifleri ise n.vagustan köken alır. Bu lifler önce plexus coeliacus, daha sonra a. renalis etrafındaki plexus renalis aracılığıyla böbreğe gelir. Bu lifler kan damarlarına ve tubulus renalis'in hücrelerine gider. Sempatik lifler kan damarlarında vasokonstriksiyona neden olarak, damar dan geçen kanın miktarını dolayısıyla idrarın miktarını azaltır (8,9).

2.1.4. Lenfatikleri

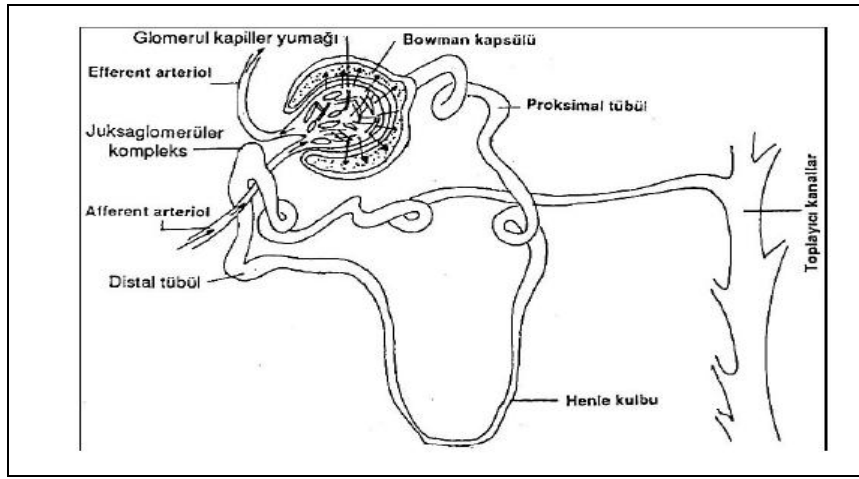
Sol böbrek lenfatikleri öncelikle sol lateral paraaortik lenf nodlarına olur. Sol böbrekten çıkan bazı lenfatik kanallar ise retrokrural nodüllere veya doğrudan diafragma üzerindeki torasik kanallara açılabilir.

Sağ böbrek lenfatikleri, interaortakaval ve sağ parakaval lenf nodlarına drene olur. Parakaval lenf nodları kommon iliak arterin altından, diaframa üzerine kadar yayılan

bölgedeki ön ve arka lenf nodlarını da kapsar. Sağ böbrekten çıkan bazı lenfatik kanallar retrokrural nodlara ya da doğrudan torasik kanala veya sol paraaortik lenf nodlarına direne olabilir (9,10).

2.2. BÖBREĞİN HİSTOLOJİSİ

Böbreğin çevresinde kollagen fibrillerden zengin kapsülü bulunur. Böbrek sagittal planda kesildiğinde dışta korteks, içte medulla olmak üzere 2 bölgeden meydana geldiği görülür. Medulla 10-18 adet piramid şeklindeki yapılardan oluşur, bu yapılara medüller piramitler denir. Medüller piramitlerin arasında Bertini Sütunları denilen kortikal uzantılar vardır. Her böbrek lobu bir medüller piramid ve bir Bertini Sütunundan oluşur (11).



Şekil 12: Nefronun yapısı.

Böbrekte idrar sekresyonunu sağlayan en küçük birim nefronudur. Her böbrekte yaklaşık 1 milyon nefron bulunur. Nefronlar glomerül ve tübülüsler olarak iki kısımdan oluşur. Glomerüller etrafı Bowman kapsülü ile çevrili kapiller yumaklardır. Tübülüsler ise proksimal tübül, distal tübül ve Henle kulpu ve toplayıcı kanallar olmak üzere dört bölümden oluşur (9,11).

2.3. BÖBREĞİN FONKSİYONLARI

Boşaltım sisteminin fonksiyonları; vücut sıvılarının hacim ve içeriğinin düzenlemek, kan basıncının su ve elektrolit dengesinin ve asit baz dengesinin ayarlanması; kanın üre ürik asit gibi hücrel artık ürünlerden arındırılması; renin, prostaglandinler ve eritropoietin gibi hormonların sentez edilmesidir.

2.3.1. Su Dengesi

Vücudun su dengesi antidiüretik hormon (ADH) kontrolü altındadır. Kanın osmolitedeki artış veya intravasküler volüm azalması gibi durumlarda ADH salınımını stimüle eder. ADH hem susamayı stimüle eder hem de toplayıcı kanallardan suyun resorbsiyonuna neden olur ve idrarın konsantrasyonu artar. Vücutta su fazlalığı durumunda ise tam tersi olur ADH azalır tübüllerin su absorpsiyonu minimal azalır. ve idrar konsantrasyonu azalır (13,14).

2.3.2. Elektrolit Dengesi

Sodyum vücutta ekstrasellüler ana katyondur. Sodyumun böbrekten atılımıRenin-Anjiyotensin-Aldosteron sistemi kontrolünde olur.

Potasyum vücutta intrasellüler ana katyondur. Potasyum glomerülden serbestçe filtre edilir ve henle kulpunun inen kolu hariç tübülslerin her tarafından reabsorbe edilir. Distal tübül ve toplayıcı kanal ise aldosteron hormonu kontrolünde potasyumu sekrete edebilir (13).

Klor ekstrasellüler sıvının başlıca anyonudur. Glomerülden filtre edilir ve proksimal tübülde sodyum reabsorbe edildiğinde karşıt iyon olarak pasif olarak reabsorbe edilir. Henlenin çıkan kolunda ise potasyum klor pompası ile aktif olarak reabsorbe edilir. Klor iyonunun regülasyonu sodyumla aynıdır (13).

Fosfatekstrasellüler ve intrasellüler sıvı içeriğinin her ikisinde de yaklaşık olarak aynıdır. Fosfatın kandaki dengesi paratroid hormonun kontrolü ile proksimal tübülden reabsorbsiyonu ile olur (13,14).

Kalsiyum intrasellüler katyondur. Hücrede en önemli inorganik haberci maddedir. Kalsiyum da proteine bağlı ve proteine bağlı olmayan iyonize formda bulunur. İyonize formdaki kalsiyum glomerülden filtre olduktan sonra ve parathormon (PTH)'nın kontrolü altında proksimal tübülden reabsorbe edilir. Aynı zamanda PTH ve kalsitonin barsaktan ve kemik depolarından kalsiyum absorpsiyonunu da regüle eder (13).

Magnezyum intrasellüler katyondur ve enzimatik olaylarda kofaktör olarak görev yapar. Proteine bağlı ve proteine bağlı olmayan iki formda bulunur. Proteine bağlı olmayan formu glomerülden filtre olduktan sonra proksimal tübülsten PTH'ın kontrolü altında resorbe olur (13, 14, 15).

2.3.3. Asit Baz Dengesi

Vücut PH'sının kontrolünün yapılmasında renal sistem, respiratuar sistem ve asit-baz tamponlama sistemi görev alır. Normal vücut metabolizmasıyla karbonik asit, laktik asit, keto asitler ve diğerleri fizyolojik PH'da plazmada taşınır ve vücuttan atılır. Böbrekler vücut PH'sının kontrolünü bikarbonat iyonlarının tutulması ve metabolik asitlerin atılması yoluyla sağlar.

Bikarbonat iyonları glomerülden plazma dışına filtre edilir. Tübüllerde bikarbonat iyonları, hidrojen iyonları ile birleşir karbonik asiti oluşturur ve karbonik asit daha sonra CO₂ ve suya ayrışır. Oluşan karbondioksit proksimal tübül hücrelerinde karbonik anhidraz (KA) tarafından karbonik asite çevrilir. Sonra hidrojen ve bikarbonat iyonlarına ayrışır. Bu yeni oluşan bikarbonat kana verilir, hidrojen iyonları ise tübül lumene sekrete edilirler ve atılır. Kan pH'ı düzenlenmiş olur (13,14).

Amonyum glomerüllerden filtre edilemez. Glutamin amino asiti aracılığı ile amonyak nontoksik olarak kandan böbreğe taşınır. Böbrek hücrelerinde glutaminaz tarafından deamine edilir ve tübüllere sekrete edilir, renal tübüle amonyak geçer. Asit atılımının bu şekli, metabolik asidozun böbrek yoluyla kompensasyonunda en önemli mekanizmadır (14,15).

Fosfat iyonları iseglomerüller tarafından filtre edilir hidrojen iyonları ile birleşerek disodyum hidrojen fosfat olarak tübül sıvı içinde bulunur ve idrarla atılır, idrarın asiditesinden sorumludur (14,15).

Metabolik asitler arttığında vücut kan pH'nı dengelemek için idrar PH'sı 4,4 oluncaya kadar metabolik asitleri atabilir. Bu noktadan sonra renal kompensasyon mekanizması asidozu daha fazla düzeltemez ve metabolik asidoz ortaya çıkar (13,14,15)

2.3.4. Non Protein Nitrojen Atıkların İtrahı

Klirensproteinlerin yıkım metabolizmaları sonucunda vücutta üre, kreatin, ürik asit gibi nonprotein nitrojen atıklar üretilir. Bu ürünlerin atılımı böbreğin önemli fonksiyonlarından biridir. Böbreklerde kan bu maddelerden arındırılmaktadır. Böbreklerin bir dakikada herhangi bir maddeyi kaç ml plazmadan arındırdığını belirlemek için klirens tanımı kullanılır, klirens aşağıdaki formülle belirlenir(1).
$$\text{Klirens (pk)} = \frac{\text{Maddenin idrardaki konsantrasyonu (mg/ml)} \times \text{İdrar hacmi (ml/dk)}}{\text{Maddenin plazmadaki konsantrasyonu (mg/ml)}}$$

2.3.4.1. Üre

Üre proteinlerin oksidatif katabolizması sonucunda günlük olarak atılan nonprotein nitrojen atıklarının %75'den fazlasını oluşturur. Proteinlerin yıkımı sonucu amonyak oluşur amonyak da üreye dönüşür. Böbrek ürenin atılımı için tek yoldur. Ürenin glomerüllerden filtrasyonu sonrası tübüllere geçer, %40 - %60 oranında toplayıcı kanaldan reabsorbe edilir. Absorbe edilen üre, medulladaki osmolaliteyi oluşturur. (13,14).

2.3.4.2. Kreatinin

Kaslar ATP 'nin hızlı formasyonu için yüksek enerjili fosforil grubu olan kreatin fosfat içerir. Kreatin fosfat kasların kullandığı metabolik yakıttır. Hergün kaslardaki kreatin fosfatın %20'si dolaşıma girer. Kreatin fosfatın atık ürünü kreatinindir. Kreatinin düzeyleri kas kütlesinin fonksiyonunu gösterir ve kas kütlesi arttığında kreatinin düzeyi artar. Kreatinin glomerüllerden filtre edilebilir, üreden farklı olarak tübüllerden reabsorbe edilemez fakat serumda konsantrasyonu arttığında böbrek tübülleri tarafından sekrete edilebilir (16).

2.3.4.3. Ürik asit

Pürin metabolizmasının atık ürünüdür. Molekül ağırlığı 168 daltondur. Glomerulden filtre edildikten sonra tübülüslerde reabsorbsiyon ve sekresyona uğrar ve sonuçta % 6-12 oranında atılır (13,15).

2.3.5. Endokrin Fonksiyon

Böbreklerin atılım fonksiyonları yanında ilaveten endokrin fonksiyonları da vardır. Böbrekler hem hormon üretirler hem de diğer endokrin organlardan gelen hormonların hedef organıdır. Böbrekler, renin, prostaglandinler ve eritropoietin sentez ederler.

Renin, anjiotensin-aldesteron sisteminin başlangıç komponentidir. Bu sistem kan hacmi, kan basıncı ve glomerül filtrasyon hızının düzenlenmesini sağlar. Distal tubulusun afferent arteriyol ile temas haline geldiği bölgede, hem afferent arteriol hemde distal tübülüs hücreleri değişime uğrar. Afferent arteriyol hücreleri değişime uğrayarak jukstaglomeruler hücrelere ve tübülüs hücreleri ise değişime uğrayarak makula densa hücrelerine dönüşür. GFH'ın azalması distal tubulustan geçen sıvıda Na⁺ ve Cl⁻ azalmasına neden olur bu durum macula densa hücrelerini uyarır, jukstaglomerül hücrelerinden renin salgılanmasına neden olur. Renin kanda bulunan Angiotensinojene etki eder ve Anjiotensin I oluşur. Anjiotensin I anjiotensin konverting enzim aracılığı ile Anjiotensin II'ye çevrilir. Anjiotensin II; arterlerde

vasokonstrüksiyola kan basıncını ve glomerüler kapiller basıncı yükseltir, aldosteron salgısını uyararak tuz ve su tutulmasını artırır, ADH salgısını ve susama hissini de uyarır (14,15).

Prostaglandinler, esansiyel yağ asitlerinden (öncelikle doymamış araşidonik asitten) oluşmuş halkalı yağ asitleridir. Böbreklerden salınan prostaglandinler PGA₂, PGE₂ ve PGI₂'dir ve bu prostaglandinler renal kan akımını, sodyum ve su atılımını ve renin salınımını artırır; vazodilatör etkileri vardır (13,14,15).

Eritropoetin ise kemik iliğinde eritroid kök hücrelerinin maturasyonuna neden olur ve kırmızı kan hücrelerinin sayılarını artırır. Eritropoietinproksimal tübül hücreleri tarafından üretilir ve üretimi kan oksijen seviyesi ile orantılı olarak salınır. Hipokside serumdaki eritropoetin konsantrasyonu artar (13,15).

Yukarıda sayılanlar böbreklerin primer endokrin fonksiyonudur bir de böbreklerin sekonder endokrin fonksiyonu vardır. Aldosteronun etki ettiği hedef organ böbreklerdir. İnsülin, glukagon ve aldosteronun katabolizması için ve Vit D'nin aktivasyonu böbreklerdedir. Bu nedenle kronik renal yetmezlikte osteomalazi ortaya çıkar (15).

2.3.6. Glomerüllerin Fonksiyonları

Kan glomerüllerden bowman kapsülüne filtre edilir ve filtre edilen proteinsiz sıvı sırasıyla proksimal tübül, henle kulpu, distal tübülüslerde ilerlerken peritübüler kapillerlerden suyun ve özel solütlerin salgılanması veya emilmesi sonucu toplayıcı kanallarda idarara dönüşür. İdrar renal papillalardan renal kalikslere oradan renal pelvise ve üretere atılır. Üreterlerden mesaneye boşalan idrar üretra aracılığı ile dışarı atılır (17,18).

Glomerulün fonksiyonu, afferent arteriolla gelen kanı filtre etmektir. Bu kanın proteinleri ve hücreleri dışındaki tüm içeriği bowman kapsülüne süzülür. Filtre edilen kanın içeriği proteinler dışında hemen hemen plazmanın yapısı ile aynıdır. Bowman kapsülü içeriği tübüllere doğru ilerler.

Glomerüllerden dakikada filtre edilen kan volümü Glomerüler Filtrasyon Hızı (GFH) olarak tanımlanmıştır. GFH'nı etkileyen faktörler glomerüler kapiller basınç, glomerüler kapillerlerin geçirgenliği, bowman kapsülü içindeki sıvının basıncıdır. Glomerüler kapiller basınç hipotansiyon, vücuttan kan kayıpları gibi durumlarda afferent arteriyolun daralmasına bağlı azalır. Efferent arteriyolun daralması sonucu ise glomerüler kapiller basınç artar ve GFH

azalır. Bowman kapsülü içindeki basınç ise böbrek taşı gibi durumlarda artar. GFH' in normal değeri 125 ml/dk' dır. Bu da bir böbreğin dakikada 125 ml, günde 180 litre plazma filtre ettiğini gösterir buna karşılık günlük çıkardığımız idarar miktarı 1-1,5 litredir. Bu da kanın filtre edildikten sonra büyük bir kısmının tubuluslerden geri emildiğini gösterir (13,18).

2.3.7. Tübüllerin Fonksiyonları

2.3.7.1. Proksimal Tübül

Proksimal tubuldeki glomerüler filtrat içindeki su, glikoz, sodyum, potasyum, klor, magnezyum, kalsiyum, bikarbonat gibi iyonlar geri emilir. Bu maddeler önce tubulus epitel hücrelerine, buradan da peritubuler kapiller plazmaya geri emilirler. Maddelerin geri emilmeleri vücudun ihtiyaçlarına göre düzenlenmektedir. Bu maddelerin su ile birlikte reabsorbsiyonundan dolayı proksimal tubulun osmolaritesi glomeruler filtrata eşittir. Tubuluslerdeki geri emilimin % 90'ı proksimal tubulde yapılmaktadır.

Proksimal tubülün diğer bir fonksiyonu da hidrojen iyonu, oksalat, safra tuzlarının ve penisilin salisilat gibi ilaçların sekresyonudur. Artık ürün olan ürik asitin %98-100'ü geri emilir, sadece proksimal tubulun distal ucunda salınma olur (18,19).

2.3.7.2. Henle Kulpu

Henle kulpunun inen kolu suya çok fazla, sodyum ve klor gibi iyonlara daha az geçirgendir. Bu yüzden inen kol glomeruler filtrata göre hipertondiktir.

Henle kulpunun çıkan kolu suya geçirgen değildir. Sodyum, potasyum, klor, kalsiyum ve magnezyum gibi iyonların geçirgenliği ise suyun geçirgenliğinde göre fazladır. Bu yüzden henle kulpunun çıkan kolu glomerüler filtrata göre hipotondiktir. Hidrojen iyonu atılımı da henle kulpunda gerçekleşmektedir (20).

2.3.7.3. Distal Tübül

Glomerüler filtrat distal túbülde son halini almıştır. Sodyum ve klorun %95 i ve suyun %90'ı reabsorbe edilmiş durumdadır. Distal tubul aldesteron ve adrenokortikotiroid hormonun (ACTH) kontrolü altındadır. ACTH hipofiz arka lobdan salgılanır aldesteronu regüle eder. Aldesteron adrenal korteksten salgılanır ve afferent renal arterde kan akımının azalmasıyla tetiklenir. ACTH hipofiz arka lobdan salgılanır aldesteronu regüle eder. Aldosteron distal tubulde sodyum reabsorbsiyonunu ve potasyum ile hidrojen iyonlarının

sekresyonunu stimule eder. Bu nedenle distal tübülün vücudun asit-baz ve su dengesinin düzenlenmesinde büyük önemi vardır (18,21).

2.3.7.4. Toplayıcı Tübül

Toplayıcı tübülün üst bölümlerinde aldesteronun etkisiyle sodyum ve klor reabsorbsiyonu gerçekleşir. Toplayıcı tubul arka hipofizden salınan anti diüretik hormon'un (ADH) kontrolü altındadır. ADH kan osmolaritesinin artması ve intravasküler volüm azalması gibi durumlarda tetiklenir. ADH toplayıcı tübülden su reabsorbsiyonunu stimule eder. Toplayıcı kanal normalde suya geçirgen değildir ancak ADH varlığında suya geçirgen hale gelir (18).

2.4. BÖBREK KAN AKIMI

Böbreğe giden kanın miktarı yaklaşık %20'si kadardır. Renal arter ile böbreğe gelen kan afferent arteriol ile glomerüllere gelir ve glomerüllerden efferent arteriol postglomerüler kapillerler ile ayrılır. Bu kapillerler böbrek korteksinde peritübüler kapillerleri oluşturur, böbrek medullasında ise efferent arterioller olan vaza rektaları oluşturur. Vaza rektalar böbreklerin yoğunlaştırılmış idrar yapmasında önemli rol oynarlar (22).

Bütün böbrek damarlarında sempatik sinir lifleri mevcuttur. İnsanın hipotansif olduğu durumlarda renal medulladan epinefrin ve nörepinefrin böbrek damarlarının endotel hücrelerinden ise endotelin salınır bu da böbrek arteriollerinin vasokonstriksiyonuna yol açarak GFR'yi azaltabilir. Diyetle sodyum kısıtlaması ve konjestif kalp yetmezliği gibi durumlarda da anjiyotensin II efferent arteriollerini daraltarak etki gösterir ve yine GFR'yi azaltır (23,24,25).

Endotelden kaynaklanan nitrik oksit, böbrek damar direncini azaltır ve GFR'yi artırır. Damarları genişleten ve böbrek kan akımı ile GFR'yi artıran diğer otokoidler PGE₂, PGI₂ ve bradikininidir. Prostaglandinler afferent arteriyollerin daralmasını önleyerek GFR ve renal kan akımında aşırı bir azalmayı engelleyebilir (25,26,27).

2.5. İSKEMİ

İskemi; bir organa gelen kan akımının yetersiz hale gelmesi veya durması sonucu dokunun oksijen (O₂) ve diğer metabolitlere olan ihtiyacın dolaşım tarafından sağlanamaması ve oluşan toksik metabolitlerin dolaşım tarafından uzaklaştırılamamasıdır. İskemi sonucunda doku hipokside kalır ve hipoksik doku hasarı ortaya çıkar. Hipoksik doku hasarının derecesi

hipoksinin derinliğine ve şiddetine bağlıdır. İskemi uzun sürerse hücrel enerji depolarının boşalması ve toksik metabolitlerin birikmesi sonucu hücre ölümleri ve doku yetmezlikleri meydana gelir (28, 29).

2.5.1. Geri Dönüşümlü Zedelenme

İskeminin ilk zarar verdiği yer hücrenin aerobik solunumudur. Hipoksi sonucu oksidatif fosforilasyon engellenir, dolayısıyla Adenozin Trifosfat (ATP) oluşumu engellenir. Üç dört dakikalık iskemi, yüksek enerjili fosfat olan fosfokreatinin ile adenozin trifosfat (ATP) depolarının boşalması ve ATP'ye bağımlı çalışan membran iyon pompalarının fonksiyonunun bozulmasına sebep olur. Özellikle hücre zarındaki sodyum pompasının yetersizliğine yol açarak hücre içi sodyum birikimine ve hücre dışı potasyum atılmasına neden olur. Ayrıca hücre içinde laktik asit, pürin nükleotitleri gibi materyeller de birikir. Sonuçta hücre içi osmatik basınç artar, hücre içinde su birikir ve akut hücrel şişme meydana gelir (30,31).

Hücre içi ATP'de azalma adenozin monofosfatta (AMP) artış olur. Fosfofruktokinaz enzimi uyarılır ve glikojenden ATP üretimini saplayan aneorobik glikolizin hızı artar yalnız anaerobik glikolizle, aerobik glikolizle elde edilen ATP'nin ancak % 7'si elde edilir. Hücre içi glikojen de hızla tükenir. Artan glikoliz sonucu laktik asit ve inorganik fosfatlar birikir, hücre içi pH düşer.

Ribozomlar granüllü endoplazmik retikulumdan (GER) ayrılır ve polizomlardan monozomların oluşur ve protein sentezi azalır. Hipoksi devam ederse ise mitokondrial fonksiyonun daha da kötüleşir ve membran permeabilitesi artar. Hücrenin ana hatları bozulur. Hücre yüzeyinde kabarcıkların oluşur ve tüm hücrelerde şişme görünür. Eger O₂ eski seviyesine dönerse tüm bu değişimler reversibledir, bununla beraber eğer iskemi devam ederse irreversible zedelenme gelişir (32,33,34).

2.5.2. Geri Dönüşümsüz Zedelenme

İrreversible zedelenmede yapısal olarak mitokondri ve kristalarında aşırı vakuolizasyon, plazma zarında aşırı zedelenme, lizozomlarda şişme; özellikle iskemik alan yeniden kanlanırsa hücre içi yoğun kalsiyum tutulumu görülür. Mitokondri matriksinde amorf kalsiyum (Ca²⁺)'dan zengin yapılar birikir. Aşırı geçirgen membranlardan proteinler, temel koenzimler, ribonükleik asitler (RNA) sürekli kaybedilir. Hücreler, ATP'nin yeniden oluşumu için yaşamsal önemi olan metabolitlerini de kaybederler. Lizozom zarlarının zedelenmesiyle

enzimler sitoplazmaya geçer, sitoplazmada iskemik ortamda pH düşük olduğundan asit hidrolazların aktifleşir, sitoplazmik ve nükleer yapıların sindirimine neden olur (35,36).

Hücre ölümünü izleyerek, lizozomal hidrolazlarla hücre organelleri parçalanır ve hücrel enzimler hücre dışı mesafeye sızar, hücre dışı makro moleküller de hücre içine geçer. Sonuçta ölü hücreler myelin oluşumlar ve fosfolipit den oluşan büyük kitlelere dönüşürler. Bu fosfolipid kitleler daha sonra ya diğer hücreler tarafından fagosit edilir veya yağ asitlerine parçalanır. Yağ asitlerinin kalsifikasyonu ile Ca^{2+} sabunları oluşur (37,38).

Hücre içine kalsiyum girişiyle kalsiyumdaki net artış hücrenin iyonik dengesini bozar. Bundan sonra kalsiyum mitokondri içine sızmaya başlar. Mitokondrinin kalsiyumla yüklenmesi sonucu hücre membranındaki proteazlar ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipazların aktivasyonu, serbest yağ asidi ve lizofosfolipidlerin salınımına bağlı olarak hücre membranında toksik etkiler oluşur. Proteazların aktivasyonu, hücre iskeletinin parçalanmasına neden olur.

Hücre içi proteinlerin parçalanmış hücre membranından periferik dolaşıma sızması, kan serum örneklerinde dokuya özgül hücre zedelenmesi ve ölümünü göstermeyi sağladığından değerli bir işarettir. Genel dolaşımda bu gibi artmış protein seviyeleri ile dokularda irreversible zedelenme görülür (39,40).

Geri dönüşümsüz zedelenmenin mekanizmasını iki olay tanımlar; birincisi mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun geri döndürülememesi, membran fonksiyonlarının ileri derecede bozukluğudur.

İrreversible hücre zedelenmesinin patogenezisinde hücre membran hasarını ana faktör olarak destekleyen hatırı sayılır derecede çok kanıt vardır. Hacim regülasyonunun kaybı, hücre dışı moleküllere karşı permeabilite artışı ve ultrastrüktürel olarak gösterilebilen plazma membran defektleri irreversible zedelenmenin en erken evrelerinde bile meydana gelir (41, 42).

İrreversible hasarının mekanizması iskelemeyle ilgili hücre içi Ca^{+} artışı nedeni ile membran fosfolipidlerinde azalma, hücre içi fosfolipaz enziminin aktive olması ve buna bağlı ortaya çıkan lipid yıkım ürünlerinin membran üzerinde parçalayıcı etki göstermesi proteazların membran proteinlerini parçalaması ve hücre iskelet proteinleri üzerini parçalaması, ATP'azların hücrenin enerji kaynağı olan ATP tüketimini hızlandırması ve endonükleazların çekirdek yapıları hasarlaması gibi sebeplerle açıklanır. Renal hiler klempaj

sıcak iskekiye yol aarak iskemik renal hasara zemin hazırlamaktadır. İskekiye; renal vazokonstriksiyon, tübüler obstrüksiyon, filtratın geri akımı ve azalmış ultrafiltrasyon katsayısı ile akut renal yetmezliğe neden olabilmektedir. Renal vasküler oklüzyon sonrası yukarıda sayılan mekanizmalarla iskekiye bağıli irreversible hücre ölümü gerçekleşir (40,43).

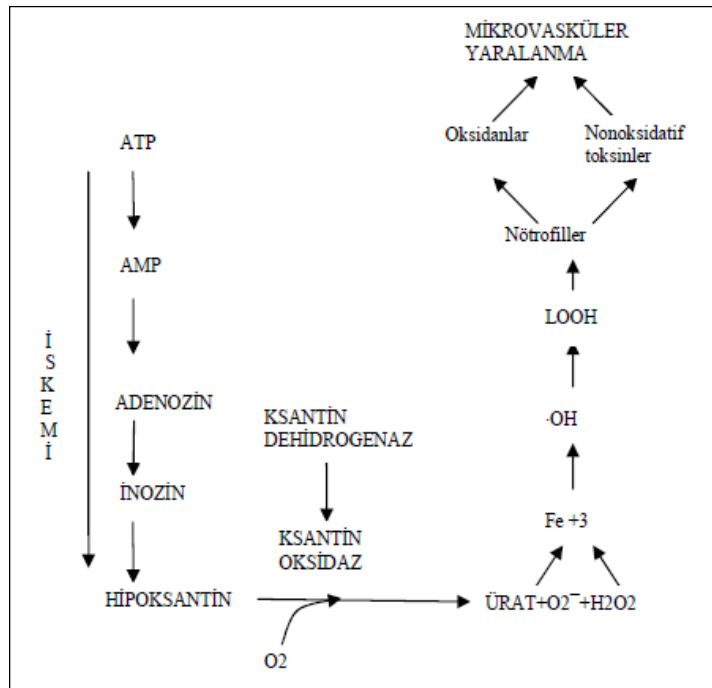
Hücreesel fonksiyonlar hücre ölümünden önce kaybolur. Hücrenin zedelenmesi sonucu hücre membran bütünlüğü, aerobik solunum, protein sentezi, genetik yapısı gibi, 4 ana sistem etkilenir. Bu sistemlerin bozulmasından sonra hücrede morfolojik değışiklikler görülür. Hücre ölümünün morfolojik bulgularının ışık mikroskobunda görülme süresi, geri dönüşümlü hasarın görülmesine göre kısadır. Örneğın ışık mikroskobunda miyokard dokusunun geri dönüşümsüz hasar bulguları iskemiden 20-60 dakika sonra görülürken, hücre ölümünün ışık mikroskobu bulguları 10-12 saat sonra görülür. Işık mikroskobunda geri dönüşümsüz zedelenme morfololojik olarak hücrelerde şiddetli şişme, plazma membranında aşırı hasar ve lizozomda şişme, mitokondri matriksinde büyük, kümelenmiş amorf dansiteler, lizozomal membranlarda hasar şeklinde görülür. Hücre ölümünden sonra ise ışık mikroskobunda hücre komponentlerinin ilerleyici olarak parçalandığı, fagosite edildiğı veya yağ asitlerine parçalandığı bu yağ asitlerinin kalsifikasyonu ile Ca^{2+} sabunları görülebilir (44,45).

2.5.3. Reperfüzyon

Hücre içine kalsiyum girişıyle kalsiyumdaki net artış hücrenin iyonik dengesini bozar. Bundan sonra kalsiyum mitokondri içine sızmaya başlar. Mitokondrinin kalsiyumla yüklenmesi sonucu hücredeki enzim sisteminde değışikimler meydana gelir ve araşidonik asit metabolizması başlatılarak, reperfüzyon sırasında serbest oksijen radikalleri (SOR) üretilir. Membranındaki proteazlar ve fosfolipazlar aktive olur. Fosfolipazlar hücre membranında toksik etkiler oluşur; proteazların aktivasyonu, hücre iskeletinin parçalanmasına neden olur ayrıca reperfüzyon sırasında SOR'i oluşur. İskekiye sırasında oluşın hasarların, reperfüzyon hasarları için başlangıç teşkil ettiğı saptanmıştır. Kısaca özetlersek; hipoksi oksidatif fosforilasyonu etkileyerek hayati onemi olan ATP yapımını durdurur. İskemide ATP, ADP, AMP, inozin'e ve hipoksantin'e yıkılır. Normalde hipoksantin ksantinoksidaz ile ksantin ve ürik aside okside olur. Bu birikim hipoksantin oksijenizasyonu için substrat fazlalığı yaratmaktadır. Reperfüzyonda ani ve fazla miktarda O_2 sağlandığından, hipoksantin ksantine oksidasyonu, superoksid radikallerinin ortaya çıkmasına neden olur (46,47,48)

Reperfüzyonda;

- 1- Ksantin oksidaz kaynaklı serbest radikallerin oluşumu
- 2- Hasarlı endotele notrofil yapışmasında artma
- 3- Enerji kaybı olan organa reperfüzyon sırasında Ca^{+2} taşınması
- 4- Post iskemik dönemde adenin nukleotid sağlanmasındaki yetersizlik, hücrede enerji açığı (49, 50, 51).



Şekil 23:İskemi-reperfüzyon hasarının mekanizması .

Reperfüzyon sırasında süperoksit anyonu (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi SOR'ların yanında kalsiyum artar ve sarkolemmal fosfolipidlerin kaybı meydana gelir. Reperfüzyon hasarı; mikrovasküler hasar, hücre nekrozu ve hemoraji olarak üç çeşittir ve bu hasarda en önemli rolü PMNL'ler oynar. Polimorfonükleer hücreler, endotel lökosit adezyon molekülü (ELAM-1), intersellüler adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM-1), L-selektin gibi adezyon moleküllerine tutunarak iskemik dokuya yerleşirler ve iskemik dokuya yerleşen polimorfonükleer hücreler birçok yoldan etki ederek iskemik dokuyu tahrip ederler. İskemik dokudaki polimorfonükleer hücre bağımlı yıkımda ayrıca fosfolipaz ürünleri tromboksan-A₂, prostoglandin E₂, lökotrien C₄, D₄, B₄ ve platelet

aktive edici faktör (PAF) üretilir. Bunlar da çeşitli yollardan doku hasarını artırır (52,53,54,55).

2.6. İSKEMİK AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİ

İskemik ABY, ani olarak renal kan akımının azalmasına bağlı ortaya çıkar. İskemi prerenal nedenlere ortaya çıkar ya da intrarenal mikrovasküler obstrüksiyondan dolayı ortaya çıkar. İskemi-reperfüzyon hasarı öncelikle böbreğin hipoksiye duyarlı olan kısmı renal medulladan başlar çünkü böbreğe gelen kan akımının büyük kısmı renal korteksten geçer ve renal medullaya çok az kan gider; bu durum renal medüllerin hipoksiye daha duyarlı hale gelmesine neden olur (56,57,58).

İskemik akut böbrek yetmezliği, böbreklerde vazokonstrüksiyon, glomeruler filtrasyon hızında düşme, tubul tıkanıklığı ve glomerüler filtratın tubüllere geri sızması ile karakterizedir. Akut böbrek yetmezliğinin en sık nedeni akut tubuler nekrozdur. Post-iskemik hasar iskemi döneminde ve reperfüzyon döneminde olmak üzere olmak üzere iki basamakta gelişir. İskemik dönemde kan akımı ve ATP azalır, reperfüzyon döneminde ise serbest oksijen metabolitlerince hasar oluşur (58,59).

Proksimal tubul hücreleri, oksidan hasardan distal tübul hücrelerinden daha fazla etkilenir. Hücre hasarı ilk olarak ATP seviyelerinin düşmesi ve son olarak da hücre lizisi ile karakterizedir. İskemik hasar tübul hücrelerinden Na^+ kaybına ve Na^+ atılımının artmasına neden olur bu durum glomerüler vazokonstrüksiyona ve glomerüler filtrasyonda azalmaya sebep olur. Medüllerdeki hücrelerde de ise hipoksik hasar oluşur (57,58).

İskemik ABY’de hipoperfüzyona bağlı, böbrek hasarı ortaya çıkar. İskemik ABY kardiyovasküler cerrahilerde, transplantasyonda, travma, sepsis gibi kan volümü kaybı ile giden durumlarda ortaya çıkar. Renal hasar öncelikle tübülüslerde oluşur ve reperfüzyon sağlandıktan 1-2 hafta sonra iyileşir, fakat tam iyileşme 4 haftada olur. İskeminin böbrekte yapabileceği en büyük hasar bilateral renal kortikal nekroz ve kronik böbrek yetmezliğidir. İskemik ABY klinik olarak 3 fazda seyreder (58,59).

Başlangıç fazı: İskemik hasar saatler ve günler içinde gelişir. Hipoperfüzyon nedeni ile intrarenal vazokonstrüksiyon, azalmış glomerüler permeabilite, hücresel artıkların tübüler obstrüksiyonu ve glomerüler filtratın hasarlı tübül epitelinin geri sızması ve GFR azalmaya başlar.

Gelişim fazı: Epitel hücre hasarının oturduğu fazdır. 1-2 hafta sürer. GFR 5-10 ml/dk'da sabitlenir, idrar çıkışı azalmıştır ve üremik komplikasyonlar ortaya çıkar.

İyileşme fazı: Tübülüs hücrelerinin rejenere olduğu ve GFR'in gittikçe düzeldiği fazdır. Bu dönemde izlenen poliüri, durumu komplike hale getirebilir (59,60).

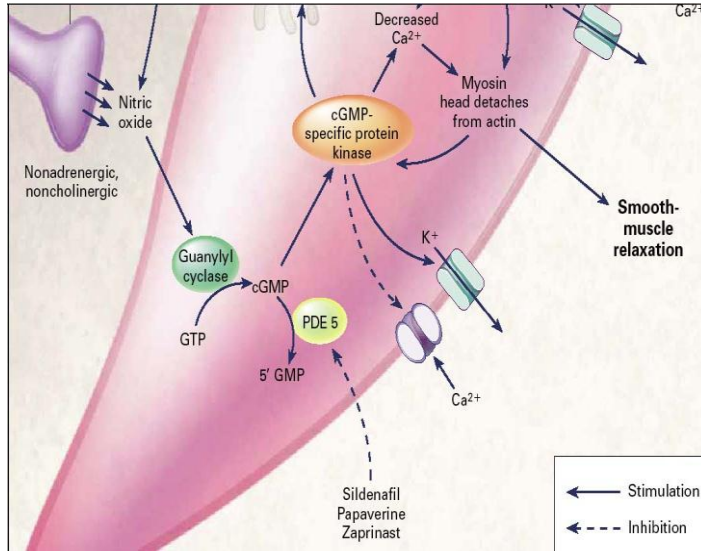
2.7 PDE İNHİBİSYONU VE TADALAFİL:

Bilinen PDE reseptörleri 1, 2, 3, 4 ,5, 6, 7, 8, 9 ve 10 dur. Bunlardan PDE1, PDE2, PDE3— ve PDE4 cAMP nin parçalanmasından sorumlu iken geri kalanlar cGMP nin parçalanmasından sorumludurlar. Bunlar genel olarak damar endoteli, retina, akciğer bronş epiteli, myokard endoteli, trombositler, ve çoğu düz kasta bulunur. Özellikle PDE 3 damar endotelinde, PDE5 düz kasta, PDE6 retinada, PDE4 bronşlarda bulunur. İn vitro çalışmalar, tadalafilin, PDE5'in seçici bir inhibitörü olduğunu göstermiştir. PDE5, korpus kavernozum düz kasında, damarlara ve iç organlara ait düz kaslarda, çizgili kaslarda, trombositlerde, böbreklerde, akciğerde ve beyincikte bulunan bir enzimdir.

PDE-1 (Kalsiyum-kalmodüline bağımlı PDE): cAMP'yi daha çok da cGMP'yi parçalar. İnhibitörü vinpocetine'dir. PDE-2 (cGMP ile uyarılan PDE): cAMP ve cGMP'yi parçalar. İnhibitörü EHNA'dır. PDE-3 (cGMP ile inhibe edilen PDE): Daha çok cAMP'yi olmak üzere, hem cAMP hem de cGMP'yi parçalar. İnhibitörleri amrinone, milrinone, enoximone, piroximone, trequinsin'dir. PDE-4 (cAMP'ye özgü PDE): cAMP'yi parçalar. İnhibitörü rolipram'dır. PDE-5 (cGMP'ye özgü PDE): cGMP'yi parçalar. İnhibitörü:

zaprinast, dipiridamol, sildenafil’dir. PDE-6 (Retinal PDE): cGMP’yi parçalar İnhibitörü: dipiridamol .(62,63,64,65,66)

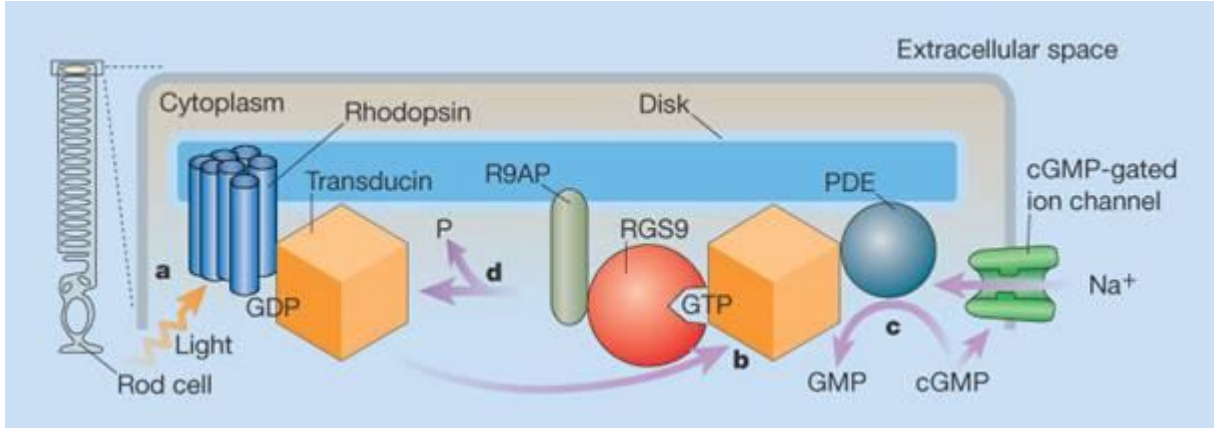
TADALAFİL: Siklik guanozin monofosfat (cGMP)’a spesifik fosfodiesteraz tip 5 (PDE5)’in seçici ve geri-dönüştürücü inhibitörüdür. Tadalafil, PDE5 üzerinde diğer fosfodiesterazlara göre daha etkilidir. Tadalafilin PDE5 üzerine etkisi, kalp, beyin, kan damarları, karaciğer ve diğer organlarda bulunan PDE1, PDE2 ve PDE4 enzimlerine kıyasla 10,000 kattan daha fazladır. Tadalafilin PDE5 üzerine etkisi, kalp ve kan damarlarında bulunan bir enzim olan PDE3’ten 10,000 kattan daha fazladır. PDE3’e kıyasla, PDE5’in seçiciliği önemlidir çünkü PDE3, kardiyak kontraktilite ile ilgili bir enzimdir. Buna ilave olarak tadalafilin PDE5 üzerine etkisi, retina da bulunan ve fototransdüksiyondan sorumlu olan bir enzim olan PDE6’dan yaklaşık 700 kat daha fazladır. Tadalafil aynı zamanda, PDE5 üzerine PDE7’den PDE10’a kadar olan enzimlerden yaklaşık 10,000 kattan daha fazla etkilidir.



ŞEKİL 4:PDE-5 İn. Etki mekanizması

Karşılaştırma yapılırsa tadalafilin afinitesi ve potensi PDE5>PDE6>PDE3>PDE4,7,8,9,10 şeklinde sıralanabilir. Bu aynı zamanda tadalafil kullanımı sırasında görülen advers etkileri ve bunların sıklığı konusunda da fikir verir.

Görme bulanıklığı ve görme kaybı>hipotansiyon, aritmi, flushing>nefes darlığı>konvulsiyon.

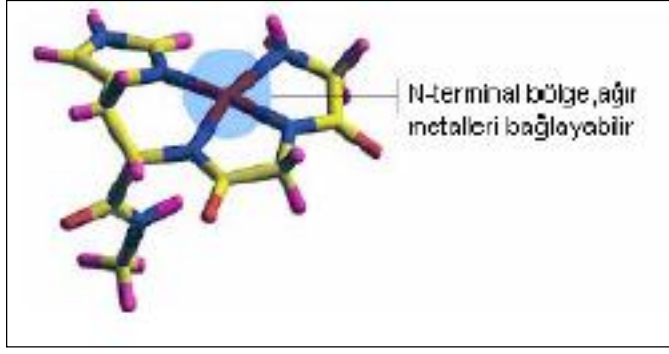


ŞEKİL 5 PDE-5 Gözdeki etkileri

Ayrıca özellikle PDE4 enzimi inhibisyonu belirgin antinflamatuar ve sitoprotektif etki gösterdiği birçok çalışmada ortaya konmuştur.(67,68)

Bizim düşüncemize göre nefron koruyucu cerrahi esnasında nefroprotektif etkiden pde5 in yanısıra pde 4 ün ve pde 3 inhibisyonuda muhtemelen etkili oluyordur.

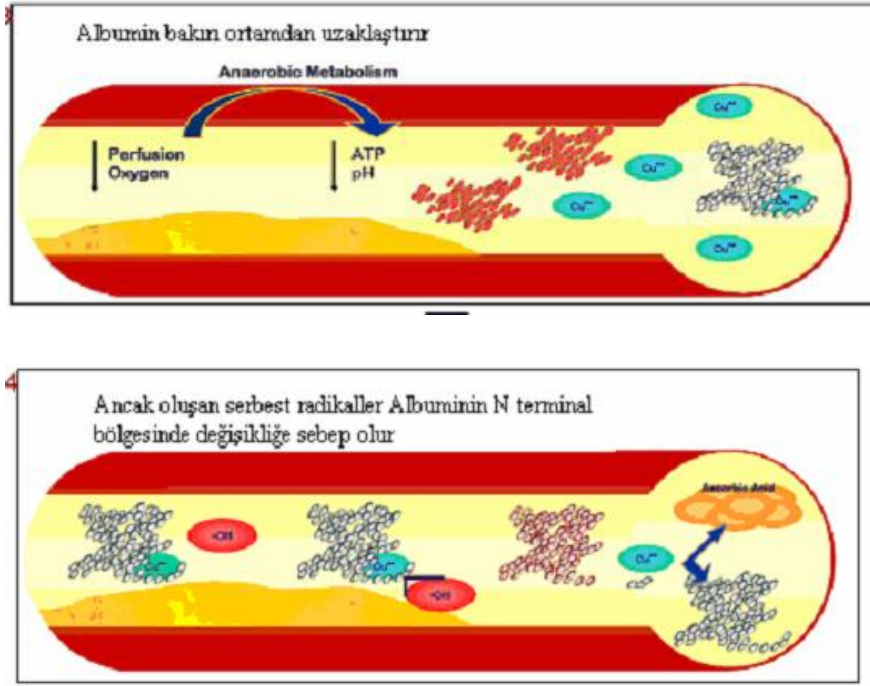
2.8 İSKEMİ MODİFİYE ALBUMİN (İMA): İnsan serum albumini (İSA) 585 aminoasit içerir ve 66,500 Dalton ağırlığındadır. Albuminin görevi ozmotik basıncı sağlamak, bir takım metabolitlerin kanda taşınmasının sağlamak, kan pH'ını düzenlemek, lipid metabolizmasını düzenlemek ve serbest oksijen radikallerini düzenlemek, organik veya inorganik birçok maddenin taşınmasında görev almak. Albüminin serumdaki konsantrasyonu 3.5–5.3 g/dL dir, plazma proteinlerinin % 60'ını oluşturur. Albümin karaciğerde sentezlenir İSA sadece insanlarda bulunan amino grup terminali ile Cobalt, Bakır ve Nikel gibi metallere doğrudan bağlanabilir (69,70,71).



Şekil 6:İskemi modifiye albüminin yapısı.

İskemi esnasında asidoz, sodyum-kalsiyum pompasının bozulması gibi nedenler ile albüminin N-terminal bölgesindeki N-Asp-Ala-His-lys dizisindeki değişiklikler meydana gelir ve albüminin kobalt, nikel gibi bazı ağır metalleri bağlama kapasitesi düşer. Yapısında değişiklik meydana gelmiş bu yeni albumine “iskemi modifiye albumin” (IMA) denir ve koroner iskemi ve akut koroner sendromların tanısında kullanılır (72,73,74,75).

Bakır ve demir; intrasellüler ortamda veya dolaşımında transferrin, albümin, seruloplasmin gibi taşıyıcı proteinlere bağlı olarak bulunurlar. Vücudun herhangi bir bölgesinde iskeminin başlamasından kısa bir süre sonra bakır ve demirler dolaşıma salınır ve kanda bu metallerin serbest konsantrasyonlarında artma meydana gelir. Bu aktif metal iyonlarının ortamdaki oksijene olan etkileri sonucunda reaktif oksijen zararlı ürünleri oluşur. İskemi durumunda Cu^{+2} , Cu^{+1} ya indirgenir ve dolaşıma salınır. İndirgenmiş bakırlar ortamdaki oksijenlerin süperoksit radikallerine dönüşmesine neden olur. Normalde süperoksitler süperoksit dismutaz enzimi ile hidrojen peroksit H_2O_2 ve oksijene çeviren bir enzimdir. H_2O_2 ise normal şartlarda katalaz enzimi ile su ve oksijene çevrilerek zararsızlaştırılır fakat dolaşımda demir ve bakır gibi redoks aktif metaller varlığında süperoksit/ metal/ H_2O_2 arasında meydana gelen Fenton reaksiyonları sonucunda ortamda serbest OH^- radikalleri ve okside metal iyonları artar. Oluşan bu serbest OH^- radikalleri albüminin metal bağlayan kısmı olan N terminal bölgesinde biyokimyasal değişimler görülür. Yeni oluşan molekül iskemi modifiye albumin (İMA) olarak isimlendirilir. İskemi modifiye albümin (İMA) oluşabilmesi için reaktif oksijen türlerinin (H_2O_2 , OH^- , O_2^-) bulunması gereklidir fakat İMA oluşmasında daha çok OH^- (Hidroksil) serbest radikalinin etkisi olduğu tahmin edilmektedir.(76,77,78)



Şekil 7: Serbest radikal oluşumu .

Yapılan çalışmalarda albüminin N terminal bölgesinin serbest metaller ile bağlanmaya spesifik aminoasit dizisinin aspartik asit, alanin, histidin ve lizin olduğu gösterilmiştir. Özellikle 3. sıradaki Histidinin bakırın bağlanmasında en önemli aminoasit olduğu gösterilmiştir. IMA' nın insan serum albümininin aksine serbest metalleri bağlama kapasitesi çok düşüktür (79, 80).

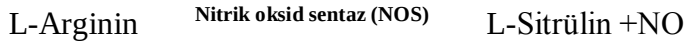
Koroner anjioplasti ile geçici iskemi meydana gelen hastaların kanlarında IMA konsantrasyonunun birkaç dakikada artmaya başladığı, reperfüzyon sağlandıktan 6 saat sonra IMA kan konsantrasyonlarının iskemisi olmayan kişilerdeki düzeylerine düştüğü tespit edilmiştir. İskemi modifiye albümin iskemide serumda birkaç dakika içinde tespit edilmektedir. IMA, FDA (Food and Drug Administration) tarafından miyokardiyal iskeminin biyomarkırı olarak kabul edilmiştir. Göğüs ağrısı sebebiyle acil servislere başvuran hastalarda çok çabuk tanıya gidilmesini sağlayabilir. IMA düzeyinin, iskemi sürecinin başlangıcından sadece birkaç dakika sonra artar. IMA, hücresel nekrozun gelişmesinden önce iskeminin erkenden belirlenmesini sağlar. İskemi modifiye albümin, iskeminin erken belirleyicisidir ve iskeminin şiddetini dahi gösterebilir (81,82,83,84).

IMA'nın yükselmesine neden olan olan sebepler koroner arter hastalığı, son dönem böbrek hastalığı, karaciğer yetmezliği serebrovasküler hastalıklar, travmalar, neoplastik hastalıklar, ciddi enfeksiyonlardır. Akut iskeminin varlığını ortaya çıkarabilen hızlı bir kan testi özelliğindeki IMA ile hastaların tanı ve tedavi süreleri kısalmaktadır. Hastalara uygulanan erken tedavi ile hastaların yaşam kalitesi artacaktır (85).

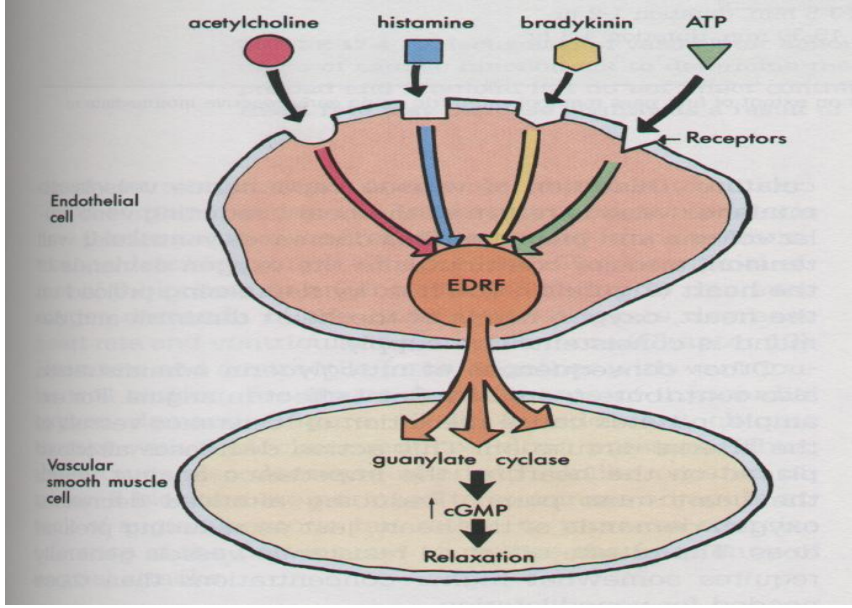
2.9 NİTRİK OKSİT (NO)

NO, ilk kez endotelyumdan salıverilen gevşetici madde olarak tanımlanmıştır. Çok dayanıksız bir gaz olduğu düşünülen NO'nın yarılanma ömrü 3-5 saniye arasında değişmektedir.

NO'ın sentezi: NO, yarı esansiyel bir amino asit olan L-arginin aminoasidinden sentezlenir.



Sentezde L-arginin, NADPH ve O₂ ortak sübstrat olarak kullanılırken BH₄, kalmodulin, Ca²⁺, FAD ve FMN ko-faktör olarak kullanılır. Memeli hücrelerinde NOS izoenzimlerini kodlayan en az 3 gen bulunmaktadır



ŞEKİL 8 Vasküler yatakta cGMP ve EDRF etkileri

NOS enziminin de 3 farklı izoformu vardır.

1. Sinir ve bazı dokularda (akciğer, pankreas, mide ve uterus) bulunan nöronal NOS (**nNOS**)
2. İmmünolojik uyarılarla indüklenen ve bütün çekirdekli hücrelerde bulunan indüklenabilir NOS (iNOS)
3. Endotel hücrelerde bulunan endotelial NOS (eNOS) nNOS ve eNOS'a yapısal NOS yNOSadı verilmektedir

ÖZELLİKLER	yNOS	iNOS
Hücresel Kaynaklar	Endotel, bazı beyin hücreleri ve nitroerjik sinirler	Makrofajlar, kupfer ve damar düz kas hücreleri
Aktivatörler	Asetilkolin, anjiotensin histamin, trombin, P maddesi, serotonin, bradikinin,, endotelin	Glutamat, kan akışı ve makaslama (shear) stresi
İndükleyiciler	Fiziksel egzersiz	LPS, interferon γ , IL-1
Salıverilen miktar	Az ve aralıklı (pmol)	Bol ve uzun süreli (nmol)
İnhibitörler	L-arjinin analogları	L-arjinin analogları ve glukokortikoidler
Vücuttaki görevi	Fizyolojik düzenleme	Yabancı mikroorganizmalara karşı savunma

Tablo 1 NOS tipleri ve özellikleri

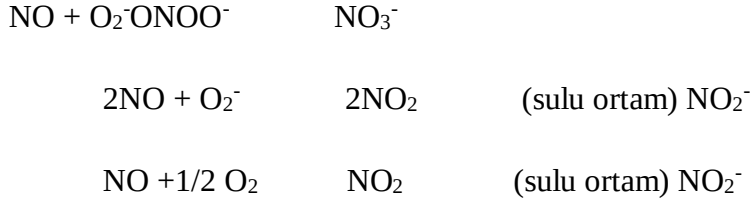
NO, atipik bir mediyatördür. Basit bir gaz olarak üretilip salıverildiği düşünülmektedir; nitrik oksid kimyaca NO şeklinde depo edilmez. Ancak proteinlere bağlı olarak S-nitrozo (S-NO) bileşikler halinde depolanabilir (86)

Biyolojik membranları hızla geçer (26 cm/sn hızıyla). Düz kaslarda ve diğer hücrelerde bulunan guanilil siklazı, Fe^{2+} grubuna bağlanarak aktive eder. Bunun sonucu olarak sGMP düzeyini artırır. sGMP miyozin hafif zincirinin defosforilasyonuna neden olarak düz kas gevşemesi yapar.

NO'nin antitrombotik, antimitojenik, sitotoksik vd etkilerine sGMP'nin aracılık ettiği anlaşılmıştır.

Diğer taraftan NO, ETZ'nin son kompleksi olan sitokrom oksidazı (kompleks IV), fizyolojik konsantrasyonlarda, inhibe eder(87)

Ayrıca NO, K^+ kanallarını da açarak hiperpolarizasyona neden olabilir. NO, sonuç olarak intrasellüler Ca^{2+} düzeyini düşürür. NO' nun metabolizması genellikle ortamda bulunan süperoksid (O_2^-) anyonları tarafından düzenlenir.(88)



NO, tiyollü (-SH) bileşiklere bağlanabilir. Nitekim S-nitrotoziyollerin NO'nun hücrel depoları olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca kanda NO, albumin proteinindeki tiyollü aminoasitlere bağlanarak bir yerden başka bir yere taşınabilir.

NO'nun Fizyolojisi, Patofizyolojisi ve Farmakolojisi

1. Kardiyovasküler Sistem

a- Kan Damarları: Özellikle pulmoner yatakta vasodilatasyonda öneli rol alır.

b- Trombositler: Trombosit adhezyonunun inhibisyonunda rolü mevcut.

c- Kalp: antioksidan özelliklerinden dolayı myokardın korunma mekanizması ve endokardın korunmasına olan katkıları.

2. İmmün Sistem

Endotelyal NO, lökositlerin adezyonunu ve onların serbest radikal üretmelerini engeller. Nötrofil lökositler tarafından üretilen süperoksid radikalleri NO'u etkisizleştirebilir. İnsanlarda diyare ve ateşli hastalıklarda idrarla atılan nitrat miktarının arttığının fark edilmesi bu patolojik durumlarda NO yapımının artabileceği düşüncesini akla getirmiştir. Sıçanlara LPS verilmesi ateşle beraber üriner *nitrat* itrahını artırır.

NO bakteri, protozoa, fungus, virus, helmint, tümör hücresi ve diğer bir takım yabancı hücrelere karşı non spesifiksitotoksik veya sitostatik etki gösterir (89)

3- Santral Sinir Sistemi

NOS enzimini serebellum, hipotalamus, orta beyin, striatum ve hipokampusta yüksek düzeyde bulunurken medulla oblongatada düşük düzeyde bulunduğu saptanmıştır. NOS'un kaynağı nöron ve endotel hücrelerdir.

NO'nun öğrenme ve bellekte önemli rol oynayan LTP (long tem potentiation) (hipokampusta) ve LTD (long term depression) (serebellum)'ye neden oluşu gösterilmiştir. Glutamat, NMDA reseptörlerini aktive ederek öğrenme ve belleğin temeli olan LTP'yi NO üreterek oluşturur. Ancak glutamat reseptörlerin aşırı stimülasyonu sonucunda fazla miktarda oluşturulan NO'nun nörodejenaratif hasarlanmalara neden olduğu ileri sürülmektedir(90)

4- Diğer Sistemler

- NO, nitrejik nörotransmisyonunda rol oynar. Gastrointestinal kanal düz kaslarının gevşemesi ve GIK epitel hücrelerin salgılama fonksiyonlarına aracılık eder.
- Bazı pürnatif ilaçlar (antrakınon glikozidleri, risinoleik asid ve MgSO₄) NO açığa çıkararak diyare yapar.
- NO penis ereksiyonuna aracılık eder. Eretil disfonksiyonda (Örn. diyabette) penisteki (korpus kavernosumdaki) NO sentezi bozulmuştur. Sildenafil (Viagra), tadalafil vb fosfodiesteraz inhbitörleri, NO etkisini güçlendirerek eretil disfonksiyonu düzeltir. (91)

NO' nun Azlığının ya da Fazlalığının Neden Olduğu Patolojik Durumlar:

Esansiyel hipertansiyon, pulmoner hipertansiyon ateroskleroz, preeklampsi, diyabet, hiperlipidemi, iskemi reperfüzyon hasarı, bazı kardiyomyopatiler, septik şok, priapizm,

Nitrovazodilatörler

- NO gazı, pulmoner hipertansiyonda kullanılabilir. Sadece lokal etki yapar; sistemik dolaşıma geçmez (Hb'den dolayı) ancak rebound pulmoner hipertansiyona neden olabilir.
- Sigara dumanındaki NO, eNOS'da down-regulation yaparak damar hastalıklarını hızlandırabilir.
- Erektile disfonkiyon: Sildenafil, PDE tipV enzim inhibitörü

Son yıllarda yapılan incelemelerde vücutta endojen olarak bulunan bir NOS inhibitörünün varlığı gösterilmiştir. Bu madde ADMA (asimetrik dimetil arginin) dir. ADMA düzeyinin yaşlanma, hiperkolesterolemi, hipertansiyon, preeklamps, ateroskleroz ve diyabette yükseldiği saptanmıştır (92)

2.10 MALONİLDİALDEHİT (MDA):Lipid yıkım son ürünü olarak oksidatif hasarın belirteci olarak kullanımı kabul gören bir belirteçtir. Ancak kullanımı çok yaygın olmayan belirteçtir.(93)

2.11 PARŞİYEL NEFREKTOMİ

Böbrek tümörleri A.B.D. verilerine göre tüm kanserlerin %3'unu ve kanser olumlerinin %2'sini oluşturur. Bin dokuz yuz yetmişli yıllardan beri böbrek tumoru insidansındayılada %3,7 oranında sabit bir hızda artış görölmektedir. Bunda çeşitli faktörlerin yanı sıra yeni ve gelişmiş non-invaziv tanı araçlarının yaygın kullanımının önemli rolü vardır. Yeni tanımlanan böbrek tümörlerinin yarısından fazlası, ürolojik olmayan yakınmalar nedeniyle yapılan çeşitli tetkiklerde saptanan insidental kitlelerdir ve bunların önemli kısmı küçük (< 4 cm), erken evre ve düşük metastaz potansiyelindeki tümörlerdir .(94)

Böbrek tümörü tedavisinde son yıllarda çeşitli gelişmeler olmasına karşın, cerrahi tedavi ilk sıradaki yerini korumaktadır. Radikal nefrektomi, 1950'lerden beri tek ve en etkin tedavi olarak kendini kanıtlamış bir yöntemken, parsiyel nefrektomi uzun yıllar oldukça kısıtlı uygulama alanı bulmuştur. Son yıllarda insidental tumor tanısındaki artışla birlikte nefron koruyucu cerrahiye ilgi artmış ve orta-uzun dönemde RN'ye eşit onkolojik sonuçlarla birlikte, böbrek fonksiyonlarının daha iyi korunduğu ve yaşam kalitesinin olumlu etkilendiği gösterilmiştir (95). Bu bilgilerin ışığında günümüzde küçük böbrek tümörlerinin tedavisinde açık parsiyel nefrektomi tercih edilen yöntem haline gelmiştir.

2.11.TEKNİK

2.11.1 Açık Parsiyel Nefrektomi:

Genellikle 11-12. kot arasından yapılanekstraperitoneal insizyon tercih edilir.

BöbrekGerota fasyası içinde mobilize edilir vetumor üzerindeki perirenal yağ dokusu korunur. Görüntüleme sırasında saptanamayan küçük lezyonlar için tüm böbrek yüzeyi gözden geçirilir, bu amaçla ultrasonografi de kullanılabilir. Takiben renal pedikül serbestleştirilir. _Böbreğin retrograd perfuzyonla kanlanması postoperatif akut tubuler nekroz olasılığını azalttığı için sadece renal arterin klemplenmesi tercih edilir. Sadece hiler tumorlerde pedikülün tamamının klemplenmesi önerilir. Pedikül kontrolünde Satinsky, bulldog klempler veya Rumelturkiesi kullanılabilir. Küçük ve periferik tumorlerde pedikül klemplenmeyebilir. Pedikül klemplenmesini takiben hipotermi uygulanır ve 10 dakika içinde böbrek ısısının15-20 C'a inmesi sağlanır. Bu amaçla buz eriyiği veya renal arterin soğuk perfuzyonukullanılabilir. Tumor eksizyonu genellikle soğuk bıçak/makasla yapılır. Eksizyon; basit enukleasyon, polar rezeksiyon, segmenter nefrektomi, kama şeklinde rezeksiyonveya transvers rezeksiyon şeklinde uygulanabilir. Eksizyon sırasında uygun bir cerrahi sınır sağlandığından emin olunmalıdır. Bu amaçla tumor yatağından frozenkesit için biyopsi gönderilebilir ancak bunun rutin kullanımı tartışmalıdır. Eksizyonsonrası, toplayıcı sistem

acıklığı oluşmuşsa, absorbe olan dikişlerle onarılır. Büyük birdefekt onarılmışsa ureteral stent yerleştirilmesi önerilir. Arteriyel ve venöz kanamalardikişle kontrol edilir. Parankimdeki defekt bir hemostatik destek üzerinden absorbeolan matris dikişlerle onarılır.(96)

2.11.2 Laparoskopik Parsiyel Nefrektomi

Transperitoneal veya retroperitoneal yaklaşım kullanılabilir. Karar daha çok cerrahın tercihinine bağlı olmasına karşın, genelde tomografide renal hilustan lateralde en konveks noktaya çizilen hattın anteriorunda kalan tumorlere transperitoneal, posteriorundaki tumorlere retroperitoneal yaklaşım önerilir. Transperitoneal olarak önce kolon mobilize edilir, bubreğ ve ureter ortaya konularak, bubreğ serbestlenir ve hiler damarlar dikkatlice disseke edilir. Retroperitoneal yaklaşımda önce renal damarlara ulaşıp takiben bubreğ Gerota içinde serbestleştirilir. Tumor üzerindeki perirenal yağ dokusunun korunmasına dikkat edilmelidir. Laparoskopik prob yardımıyla intraoperatif ultrasonografi yapılabilir. LPN’de damarların kontrolü çok önemlidir. Bu, laparoskopik Satinsky veya bulldog klempleri ya da Rumel turnikesiyle sağlanabilir. Çok periferik yerleşimli küçük tumorlerde damar kontrolü yapılmadan da LPN uygulanabilir. LPN’de bubreğ endoskopik torba içine alınıp çevresine buz eriyiği verilerek ya da renal arter kateterize edilip buradan soğutulmuş Ringer laktat perfüze edilerek veya trans-ureteral soğuk serum perfüzyonuyla bubreğ soğutulması tanımlanmıştır, ancak yaygın kullanımı yoktur ve operasyon genelde sıcak iske mi koşulları altında yapılır. LPN’de arter ve ven birlikte ya da ayrı ayrı klemlendikten sonra, tumor forseps veya aspirator yardımıyla ekarte edilirken, laparoskopik soğuk makas yardımıyla eksize edilir. Tumorle normal bubreğ dokusu arasındaki doğru cerrahi planın saptanmasında termal etkiden dolayı sorun yaratan koagülatif aletlerin (harmonik bıçak, lazer, elektrokoter, vb.) eksizyon için kullanılmaması tavsiye edilir. Endokamera sisteminin magnifiye edici etkisi nedeniyle, tumor ve normal doku arasındaki doğru cerrahi sınırı, toplayıcı sistemi ve küçük damarları görmek açık cerrahiye göre çok daha kolaydır. Böylece uygun cerrahi sınır oluşturulabilir ve kanama kontrolü bipolar forsepslerle sağlanabilir. Daha sonraki onarma aşaması da göz önünde bulundurularak, eksizyonun mümkün olduğunca kayık şeklinde yapılması önerilir. Frozen kesit için taban biyopsileri sadece şüpheli duyulan vakalarda önerilir. Gereksiz yapılan biyopsilerin, kanama olasılığını artırdığı ve sıcak iske mi süresini uzattığı belirtilmektedir. Eksizyon sonrası spesmen endoskopik torbaya

konulur ve işlemin sonuna kadar batın içinde bırakılır.

Ameliyatın başlangıcında, özellikle toplayıcı sistemin acılma olasılığı yüksek hastalara ureter kateteri konulması önerilir ve buradan yapılacak metilen mavisi irrigasyonlarıyla acıklıkların saptanması mümkündür. Deneyim arttıkça, bu işleme gerek kalmadan da toplayıcı sistem acıklıkları kolayca saptanabilir.

Buyuk defektlerde internal ureter stenti (JJstent) iyileşme surecini kısaltıp, postoperatif komplikasyon olasılığını azaltmada yararlıdır. Renal parankimin düzgün ve mümkün olan en kısa surede onarılması, komplikasyonlar ve sıcak iske mi suresi açısından çok önemlidir. Toplayıcı sistem onarılıp, belirgin kanamalar bipolar koterle kontrol edildikten sonra, renal medulla absorbe olan dikişle kontinü olarak onarılır ve absorbe olan klipe (Lapra-Ty) kilitlenir. Parankim kenarları, hemostatik bir destek yastığı üzerinde absorbeolan dikişle kontinü olarak, her dikişin absorbe olmayan kliplerle (Hem-o-lok) kilitlenmesi şeklinde onarılır. Duğumleme yerine- bu kliplerin kullanılması, hem sıcak iske misuresini kısaltır, hem de klipin geniş yüzeyi sayesinde iyi bir hemostaz sağlanıp dikişlerin parankimi yırtması önlenmiş olur. Kanama kontrolunu daha da artırmak için dikiş hattına ayrıca hemostatik doku yapıştırıcıları uygulanabilir, ancak bunlardan sadece jelatin matriks trombin yapıştırıcının (FloSeal) postoperatif kanamaları azaltmada olumlu etkisi gösterilmiştir (97,98)

2.11.3 Özel endikasyonlar

Soliter Böbrek

İki bin yılından önceki yayınlar incelendiğinde (1980-2000), APN'nin elektif kullanılmadığı ve dolayısıyla çoğunlukla soliter böbrekteki kitlelere uygulandığı görülür. Bu konuda yayınlanan en geniş seri olan Cleveland Clinic'in 400 olguluk APN deneyiminde, tumorlerin %43'unun 4 cm'den büyük olduğu, olguların %61'inde renal hipotermi uygulandığı, %13 erken komplikasyon geliştiği ve 10 yıllık kansere özgü sağkalımın %82 olduğu bildirilmiştir. (99,100,101,102)

2.11.4 İSKEMİ SÜRESİ:

Klasik olarak bobrekte kalıcı hasar yapmadan çalışılabilecek maksimum sıcak iskemizamanı 30 dakika olarak bildirilmektedir. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar bu sürenin maksimum 20 dakika olması gerektiğini bildirmekte, bu sürenin altında dahi olsa herbir iskemik dakikanın zarar verici olduğu vurgulanmaktadır. Aynı şekilde soğuk iskemi süresinin ise maksimum 120 dk yı geçmemesi önerilmektedir.(103,104)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, deneysel bir çalışma olup, Etik Kurul onayı, T. C. Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Temmuz/2013 tarihli kararı ile alındı ve Adnan Menderes Üniversitesi dekanlık binasındaki Deney Hayvanları Laboratuvarında, Helsinki Bildirisi Hayvan Çalışması Etik Kurallarına uyularak gerçekleştirildi. Çalışmamız laboratuvar etiketleme hatasından kaynaklanan bir nedenden dolayı tekrarlanmıştır. Önceki çalışmamızdaki tüm aşamalar yeniden tekrarlanmıştır.

Çalışma için, ağırlıkları 150 – 280 gram arasında değişen 24 adet sağlıklı genç Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney öncesinde tüm sıçanlar, 1 ay boyunca aynı laboratuvar ortamında standart sıçan yemi ve su ile beslendi. Hayvanlar işlem öncesi 12 saat aç bırakıldı. Her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde hayvanlar 3 gruba rastgele ayrıldı.

Tablo 2: Gruplar ve Denek Dağılımı

Gruplar	Grup Türü	Adet
Grup 1	Sham	8
Grup 2	60 dakika renal iskemi	8
Grup 3	Tadalafil_ + 60 dk renal iskemi	8
Toplam		24

3.1. İşlem

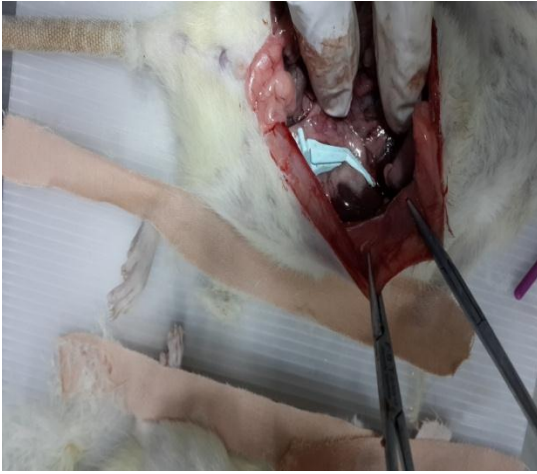
Tüm sıçanlara işlem öncesi anestezi amacıyla 50 mg/kg ketamin hidroklorid ve 7.5 mg/kg xylazine kombinasyonu intraperitoneal olarak uygulandı. Tadalafil verilen gruba (Grup 3) işlemden 24 saat önce kilo başına 5 mg Tadalafil orogastrik tüp yardımı ile verildi. Bu süreç içerisinde hayvanlara yem ve suyla ilgili herhangi bir kısıtlama yapılmadı. Karın derisi tıraş edilip, povidon iyot ile silinerek aseptik şartlar oluşturuldu. Cerrahi işlemler için standart cerrahi aletler kullanıldı. Sham grubunda anestezi sonrası 3 cm'lik orta hat insizyonunu takiben toraks açılarak intrakardiyak ortalama 3 cc kan örneği alındı. Diğer iskemi gruplarında ise anestezi sonrası 3 cm'lik orta hat insizyonunu takiben, sol renal pedikül -künt ve keskin disseksiyonla çevre dokulardan ayrıldı, renal pedikül -ortaya konuldu. Sonrasında pediküle bulldog klemp konularak Grup 2 ve 3'e 60 dakika iskemi uygulandı. Sonrasında renal pedikül klempini açılarak 60 dk reperfüzyon oluşması için beklendi. Bu esnada oda sıcaklığında izotonik ile ıslatılmış spançlar, açık olan batın üstüne örtüldü. Sonra tüm guruplarda toraks açılarak intrakardiyak ortalama 3 cc kan örneği alındı ve bilateral nefrektomi uygulandı.



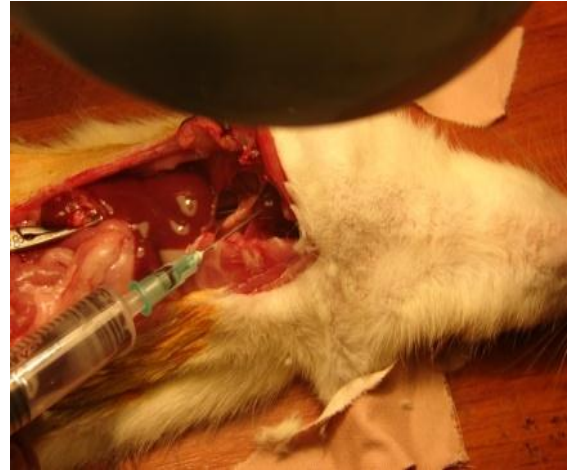
Resim 1: ratların hazırlanması



Resim 2: pedikülün bulunması



Resim 3 :pediküle klemp konması



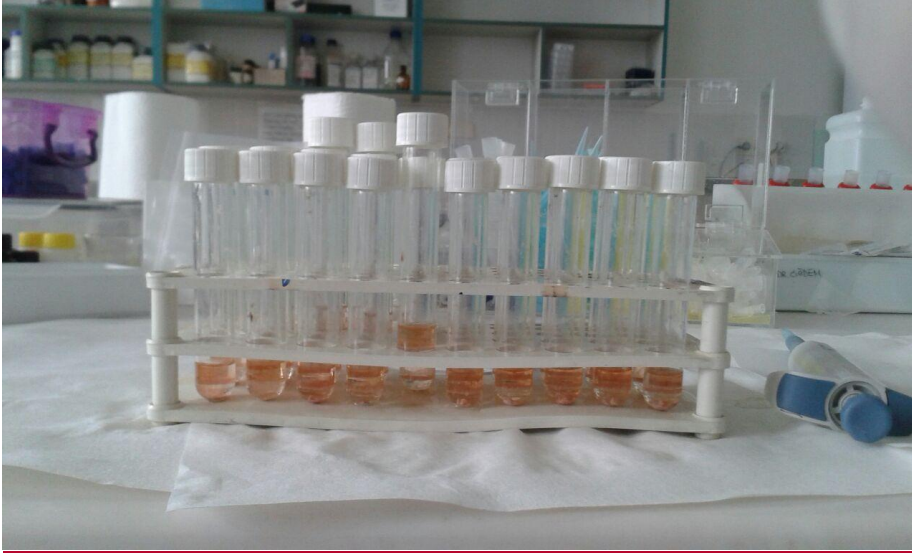
Resim 4: intrakardiyak kan alınması

Böbrek doku örnekleri % 10'luk formaldehit içinde tespit edilerek patolojik inceleme öncesi saklandı. Tüm denekler, anestezi altında intrakardiyak kan alınarak, Helsinki Sözleşmesine uygun şekilde dekapitasyon ile kurban edildi.

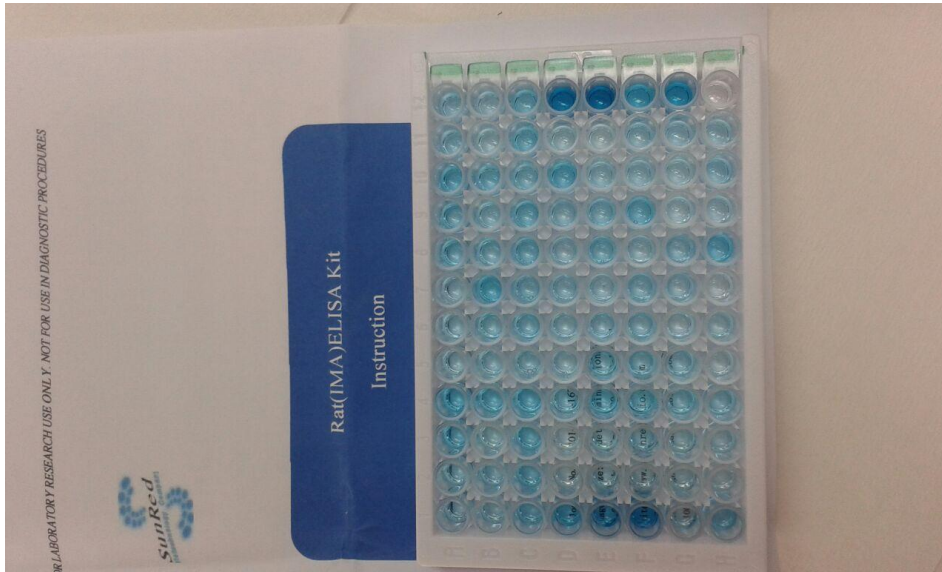
3.2. İMA NO VE MDA Ölçümü

Kan örnekleri koruyucu içermeyen tüplere alındı. 30-60 dakika kadar pıhtı oluşumuna izin verildikten sonra -serumların ayrılması için kan örnekleri 4000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve -80 C de saklanarak 1 hafta içinde işleme alındı. Bu çalışmada serum İMA düzeyi ölçümü ELISA yöntemi ile yapıldı.

Bunun için Cusabio Biotech marka Rat ischemia modified albumin (IMA) ELISA kiti kullanıldı. Sonuçlar ünite/mililitre (U/ml) olarak rapor edildi.



Resim 5:serum örnekleri



Resim 6:IMA kiti

RatNitrik oksit (NO) ölçümü, kadmiyum indirgenme yöntemi ile çalışıldı. Örnekler mikropalak üzerinden spektrofotometrik olarak ölçüldü ve sonuçlar potasyum permanganat eğrisine göre neticelendirildi. Veriler Umol/L olarak hesaplandı.

Malonyldialdehit (MDA) ölçümü 532 nm dalgaboyunda tiobarbitürik asit varlığında absorbans oluştuğunda renkli kompleks oluşum esasına dayanan Okhowa yöntemi ile ölçüldü. Sonuçlar Umol/L olarak hesaplandı.

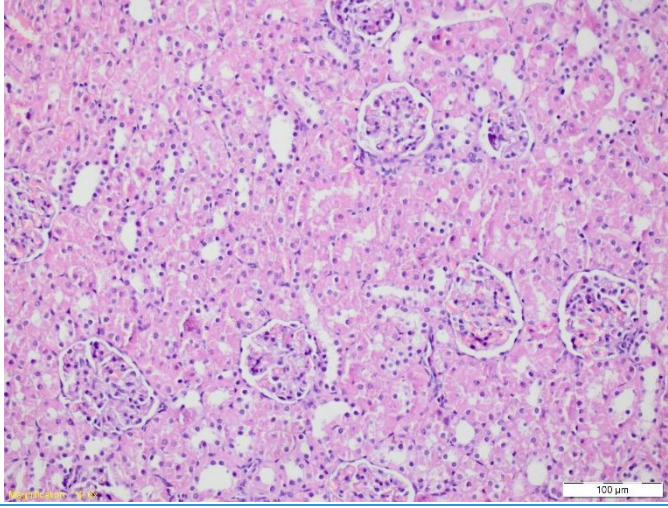
3.3. Histopatolojik Değerlendirme

Histolojik değerlendirme için böbrekler formaldehit içinde tesbit edilip parafine gömüldü, ince kesitler yapıp hematoksilien-eozin ile boyandı. Kesitler tek kör olarak incelendi. Tübüler hasarı değerlendirmede, proksimal tübüldeki fırçamsı kenar kaybı, tübüler hücre şişmesi, intertisyel ödem, tübüler dilatasyon, lümende hyalin birikmesi ve özellikle epitelial hücre nekroz derecesi kullanıldı. Sonuçlar hasarlı tübül yüzdesi olarak Tablo 3'deki şekilde skorlandı.

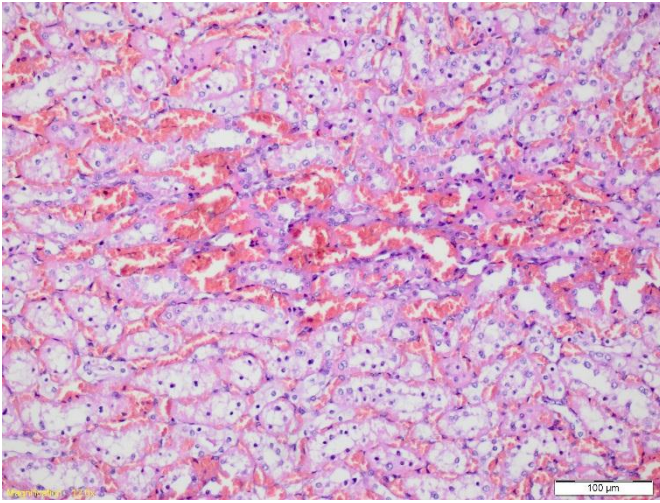
-

Tablo 3: Renal Hasarın Histopatolojik Skorlaması

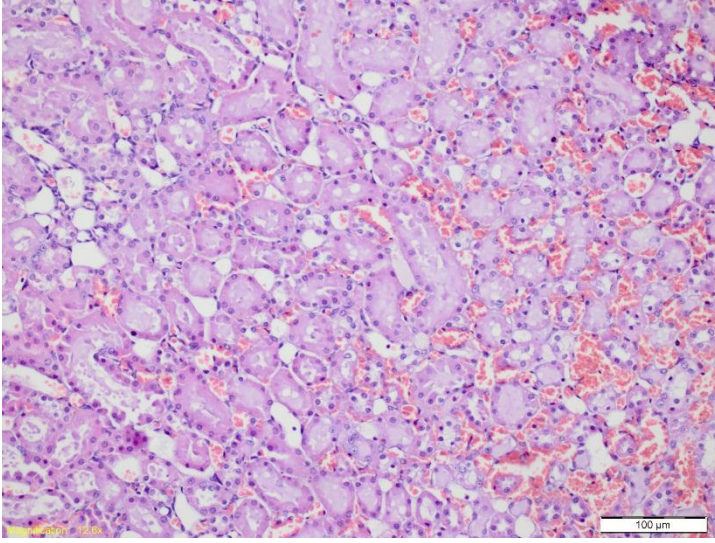
	Renal Hasarın Histopatolojik Skorlaması
Grade 0	Hasar yok
Grade 1	Tübüler hasar alanı %25' den az
Grade 2	Tübüler hasar alanı %25-%50
Grade 3	Tübüler hasar alanı %50'den fazla
Grade 4	Ciddi nekroz



Resim 7: Sham grubu böbrek kesit örneği; herhangi bir hasar yok



Resim 8: İskemi grubu böbrek kesit örneği tübüler hasarın olduğu hemorajik alanlar dikkat çekiyor.



Resim 9: Tadalafil verilen iskem grubu böbrek kesiti yer yer tübüler hasar alanları görülüyor

(3.4) Verilerin Analizi

Verilerin analizinde SPSS istatistik programı kullanıldı. Patoloji sonuçlarının değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı ve gruplara düşen birim sayısı az olduğundan ki-kare testinde monte carlo yöntemi kullanıldı. Gruplar arasında laboratuvar değerleri açısından fark olup olmadığı, Kruskal Wallis Varyans Analizi testi ile araştırıldı. Gruplar arasında farkı yaratan grubu bulmak için gruplar ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analiz edildi.

5 . BULGULAR:

5.1 Histopatolojik Bulgular:

Hayvanların tümünün klemp konmayan sağ böbreklerinde hiç hasar bulunamadı. Sham grubunun sol böbreklerine iskemi-reperfüzyon uygulanmadığı için sol böbreklerinde de hiç hasar saptanmadı. Sadece iskemi uygulanıp tadalafil verilemeyen grupta üç hayvanın sol böbreklerinde ikinci dereceden hasar bulundu ve geriye kalan beş hayvanda ise birinci dereceden hasar bulundu. Tadalafil verilen grupta bir hayvanda ikinci dereceden hasar vardı, yine aynı grupta bir hayvanda hiç hasar bulunmadı ve geriye kalan altı hayvanda birinci dereceden hasar vardı.(TABLO 4)

Tablo 4 : patolojik hasar oranları

GRUPLAR	HASAR YOK	1. Derece hasar	2. Derece hasar	TOPLAM
SHAM GRUBU	8 (%100)	0(%0)	0(%0)	8(%100)
İSKEMİ- REPERFÜZYON GRUBU	0(%0)	5(%62,5)	3(%37,5)	8(%100)
TADALAFİL VERİLEN GRUP	1(%12,5)	6(%12,5)	1(%75)	8(%100)

Histopatolojik bulgular Ki-kare testinde Monte Carlo yöntemi ile analiz edildiğinde üç grup arasında histopatolojik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($X^2= 21,803$, $p= 0,000$). Farkı yaratan grup analiz edildiğinde ise Sham grubunun histopatolojik bulgu açısından gerek iskemi gerekse de tadalafil + iskemi grubundan farklı olduğu; ancak iskemi ve tadalafil + iskemi grubu arasında bu açıdan istatistiksel bir fark bulunmadığı anlaşıldı. Tadalafil verilen ve verilmeyen gruplardaki patolojik hasar oranı sham grubuna göre anlamlı olarak daha fazla bulundu. Ancak sham grubu dışındaki grupların kendi arasındaki karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.

Tablo 5 :Tüm Grupların Sol Böbrek Patoloji Sonuçları

GRUPLAR	0.DERECEDEN HASAR	1.DERECEDEN HASAR	2.DERECEDEN HASAR	TOPLAM
SHAM	8	0 (% 0)	0 (% 0)	8
İSKEMİ	0 (% 0)	5 (%62.5)	3 (%37.5)	8
TADALAFİL+İSKEMİ	1 (% 12.5)	6 (%75)	1 (%12.5)	8
TOPLAM	9	11	4	24

5.2 Biyokimyasal Bulgular:

İskemi Modifiye Albümin Düzeyleri

Sham grubu İMA değerleri 19.83 $\pm$ 7.8 u/ml Tadalafil verilmeyen iskemi grubunda İMA değerleri 22.26 $\pm$ 7.14 u/ml, tadalafil verilen grupta ise 19.87 $\pm$ 7.77 u/ml bulundu. Bu veriler Kruskal Wallis Varyans Analiz testi ile analiz edildi fark oluşturan grubun tespiti ise Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. Analiz sonuçlarında sham grubu ve Tadalafil verilen grupların değerlerinin birbirine çok yakın olmasına ve her iki grubun değerlerinin Tadalafil verilmeyen gruba göre daha düşük olmasına rağmen istatistiksel açıdan bir fark olmadığı bulundu.(K-W : 0.98 P=0.613)

Tablo 6: Grupların İMA düzeyleri

GRUPLAR	Medyan Değer	Ortalama değer	Standart sapma	Maksimum değer	Minimum değer
Sham	16.9	19.83	7.81	30.9	11.6
İskemi	19.6	22.26	7.14	36.1	15.3
Tadalafil+iskemi	15.7	19.82	7.77	30.6	11.8

Nitrik Oksit Düzeyleri :Sham grubu NO değerleri 18.76 $\pm$ 5.7 uMol/L, iskemi-reperfüzyon grubunun değerleri 12.28 $\pm$ 5.7 uMol/L ve Tadalafil verilen iskemi grubunun değerleri 13.304-4.71 uMol/L bulundu . Gruplar arasında laboratuvar değerleri açısından fark olup olmadığı, Kruskal Wallis Varyans Analizi testi ile araştırıldı. Buna göre: Sadece NO değerleri açısından üç grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulundu (K-W= 6,02, p=0,049). Farkı yaratan grubu bulmak için gruplar ikili olarak Mann-Whitney U testi ile analiz edildiğinde fark yaratan grubun Sham grubu olduğu ve iskemi grubu ile tadalafil+iskemi grubu arasında NO değerleri açısından istatistiksel bir fark olmadığı tespit edildi (M-W U=29, p=0,753).

Tablo 7:Nitrik Oksit Değerleri

GRUPLAR	Medyan değer	Ortalama değer	Standart sapma	Maksimum değer	Minimum değer
Sham	17.3	18.76	4.58	26.9	14.1
İskemi	11.8	12.28	5.7	18.9	5
Tadalafil+iskemi	13.7	13.30	4.71	21.8	6.9

Malonil Dialdehit Düzeyleri: Sham grubu 3.96+-1.04 uMol/L , iskemi grubu 3.98+-0.615 uMol/L , Tadalafil verilen iskemi grubunun değerleri 4.18 +-0.541 uMol/L bulundu . Kruskal Wallis Varyans Analiz testine göre gruplar arasında istatistiksel anlamda fark olmadığı görüldü. (K-W=0.412 P=0.814).

Tablo 8:Malonil Dialdehit Düzeyleri

GRUPLAR	Medyan değer	Ortalama değer	Standart sapma	Maksimum değer	Minimum değer
Sham	3.8	3.96	1.04	5.5	2.4
İskemi	4.2	3.98	0.615	4.6	2.7
Tadalafi+iskemi	4.15	4.18	0.541	4.8	3.5

İstatiksel olarak analiz edildiğinde MDA düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı.
(K-W=0.412 , P=0.814)

Tablo 9: Tüm Grupların Sonuçları

Gruplar	Median ıma	Ortalama ıma	Median no	Ortalama no	Median mda	Ortalama mda	Patoloji 0	Patoloji 1.derece	Patoloji 2. derece
Sham	16.9	19.83	17.3	18.76	3.8	3.96	8	0	0
İskemi	19.6	22.2	11.8	12.28	4.2	3.98	0	5	3
Tadalafil + iskemi	15.7	19.82	13.7	13.3	4.15	4.18	1	6	1
İstatistik Analiz sonucu		KW:0.98 P=0.98		KW:6.02 P=0.049		KW:0.412 P=0.813			X ² =21,80 p= 0,000

6. TARTIŞMA

Son yıllarda görüntüleme yöntemlerinin yaygın olarak kullanılması böbrek hastalıklarının erken tanınmasına olanak sağlamış ve nefron koruyucu yöntemlerin önemi vurgulanmıştır (105).

Operasyon öncesi serum kreatinin değerleri normal olan hastalara, tek taraflı böbrek tümörü nedeniyle uygulanan radikal nefrektomi sonrası altta yatan sistemik hastalıklar ve hiperfiltrasyon nedeniyle kalan böbreğin fonksiyonunun bozulmasına neden olduğu gösterilmiştir (106).

Bundan dolayı önceleri sadece tek böbrek, böbrek yetmezliği, iki taraflı böbrek tümörleri, von Hippel-Lindau hastalığı ve böbrek işlevini bozan sistemik hastalıkları olan hastalara nefron koruyucu cerrahi uygulanırken, küçük böbrek tümörlerinin tedavisinde radikal nefrektomi uygulanmaktaydı. Parsiyel nefrektominin uzun dönem sonuçlarının radikal nefrektomiye eşit olduğunun gösterilmesi ile parsiyel nefrektomi yaygınlaşmıştır (107).

Parsiyel nefrektomi ve bazı böbrek operasyonlarında renal arterin klemplenmesi renal sıcak iske mi süresinin önemini ortaya koymuştur. Böbrek tümörlerinin neden olduğu böbrek hasarı komorbidite için yüksek risk gibi görünmektedir. Nefron koruyucu cerrahide amaçlardan biride böbrek fonksiyon kaybını önlemektir. Bu süre için objektif bir değer belirlenmese de böbrek kanserinde tümörün 20 dakikalık sıcak, 120 dakika soğuk iske mi süresi içerisinde eksize edilmesi önerilmektedir ve Fergany ve arkadaşları nefron koruyucu cerrahi sonrası renal fonksiyonları, iske mi süresi, yüze yel hipotermi, çıkarılan parankim miktarına ve yaşa bağlamışlardır. Soliter böbrek tümörlü olgularda açık parsiyel nefrektominin güvenle uygulanabileceğini renal fonksiyonun korunmasıyla birlikte, uzun süreli kansersiz yaşamın bu olguların çoğunda beklendiği belirtilmişlerdir.

Bizim çalışmamızda Tadalafil verilen gruptaki IMA düzeyleri sham grubuna çok yakın bulundu. Ayrıca tadalafil verilmeyen ve iskemi uygulanan grubun değerleri hem sham grubundan hem Tadalafil verilen gruptan daha yüksek bulundu . Ancak istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunamadı. İstatistiksel açıdan bu farkın anlamlı olmamasının sebebi gruplardaki birey sayısının azlığı olduğu düşünüldü. Ayrıca nispeten yeni bir biyomarker olmasından dolayı IMA bazal düzeyinin kaç olması gerektiğiyle ilgili yaygın görüş yoktur. Literatürde benzer çalışmalar incelendiğinde sham grubu ratlarda IMA düzeyi genellikle 27 ile 35 u/MI arasında bulunmuş. Bu değer bizim sham grubunda ortalama 16.9 U/MI bulundu(108,109,110).

Bizim çalışmamızda İskemi modifiye albumin düzeylerinin düşük olduğu tadalafil verilen grup ve sham grubunda NO düzeylerinin sadece iskemi uygulanan gruba göre daha yüksek olması Tadalafilin iskemi reperfüzyon hasasından koruyucu etkisinin NO ile ilişkili bir yollağıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Güney koreden Dae eun choi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu etkinin İ-NOS ve E-NOS artışının yanı sıra bax/bcl-2 oranının azalmasıyla alakalı olduğunu savunmuşlardır(111) . Bu NO in oksijen radikallerini temizleme etkisi ve antioksidan etkisine işaret etmektedir. Ayrıca enrique lieldo ve arkadaşlarının ispanyada yaptıkları çalışmada bu koruyucu etkinin doz bağımlı olduğunu destekleyen bulgulara ulaşmışlardır ancak optimal dozun ne olacağı ile ilgili net bir sınır koyulamamıştır(112). Bu konuda literatür araştırılması yapıldığında bu etkilerin hemen tüm PDE-5 inhibitörleri ile ortaya çıktığını ancak hangi pde-5 inhibitörünün daha etkili olduğunun henüz bilinmediğini ortaya koymaktadır.

7. SONUÇ

İskemi reperfüzyon hasarının engellenmesi açısından parsiyel nefrektomi, böbrek transplantasyonu, kardiyopulmoner, by-pass ve radyoopak verilecek hastlara işlem öncesinde PDE-5 inhibitörlerinin verilmesinin koruyucu etkisi olabilir. (113) Verilecek PDE-5 inhibitörlerinden hangisinin daha etkili olduğu doz düzeyinin ne olduğu , ilacın girişimden ne kadar önce verilmesi gerektiği noktalarında daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu aşıkardır. Ancak yakın gelecekte PDE-5 inhibitörlerinin bu endikasyonda kullanılabileceğini düşünüyoruz.

ÖZET

AMAÇ: Tadalafil kullanımının IMA (iskemi modifiye albümin) düzeyi çalışılarak iskemideki etkisinin ortaya konması ve Nefron koruyucu cerrahi uygulayacağımız hastalarda iskemik reperfüzyon hasarını azaltmak ve güvenli iskemi süresini uzatmak açısından PDE-5 inhibitörlerinden Tadalafil incelemek. Yanı sıra nitrik oksit (NO) ve malonildialdehit (MDA) düzeylerinin iskemi ile korelasyonunu incelemek.

MATERYAL VE METOD: Çalışmamızda ağırlıkları 150 – 280 gram arasında değişen 24 adet sağlıklı genç Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Deney öncesinde tüm sıçanlar, 1 ay boyunca aynı laboratuvar ortamında standart sıçan yemi ve su ile beslendi. Hayvanlar işlem öncesi 12 saat aç bırakıldı. Her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde hayvanlar 3 gruba rastgele ayrıldı verildi. Sonrasında hayvanlardan 3 cc kan intrakardiyak alındı ve bilateral nefrektomi yapıldı. Böbrekler %10 formaldehit solüsyonuna alındı kanlar ise koruyucu içermeyen tüplere alınarak laboratuara yollandı.

BULGULAR: Ortanca IMA düzeyleri sırasıyla, 1. Grup:16.9, 2.grup:19.7, 3.grup 15.7, U/ml şeklinde bulundu. Sham grubu ve Tadalafil verilen 3. gruptaki IMA düzeyleri öteki gruptan daha düşük bulundu. Nitrik oksit değerleri sham ve Tadalafil verilen gruplarda anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Ancak bu farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Malonildialdehit düzeyi gruplara arasında farklılık göstermedi. Patolojik inceleme sonuçlarına göre iskemi grubundaki hasar oranı Tadalafil verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ancak sham grubuna göre her iki gruptaki değerler istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha ileri derecede hasarlı bulundu.

SONUÇ: İskemi modifiye albümin renal reperfüzyon hasarında nonspesifik erken belirteç olarak kullanılabilir. Tadalafil iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu rol alabilir. Bunu desteklemek için daha fazla sayıda denekle daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

The protective effect of tadalafil on IMA (Ischemia Modified Albumin) levels in experimental renal ischemia-reperfusion injury

Introduction & Objectives: To investigate the effect of tadalafil a selective phosphodiesterase-5 inhibitor in experimental renal ischemia-reperfusion injury and to evaluate these changes using biochemical parameters such as IMA (nonselective early marker of ischemia), NO and MDA levels.

Materials& methods:

Results: Median IMA levels , respectively Group 1: 16.9, Group 2 : 19.7 , Group 3 15.7 U / ml. The sham group was determined to level 3 in the tadalafil group was significantly lower than the other groups. Nitric oxide values sham and tadalafil were significantly higher in the group. However, this difference was not found statistically significant . MDA levels did not differ between the groups. The loss ratio in the ischemia groups according to pathological examination was not statistically significant compared to the group treated with tadalafil . However, values in both groups compared to the sham group was statistically significantly damaged more severely

.

Conclusion: IMA can be used as a nonselective biomarker for renal IR injury before ischemic changes occur. NO is inversely correlated with IMA and tadalafil may have a protective role in renal IR injury.

KAYNAKLAR:

1. Kazanis K, Dalamaga M, Nounopoulos C, Manolis AS, Sakellaris N, Jullien G, et al. Ischemia modified albumin, high-sensitivity C-reactive protein and natriuretic peptide in patients with coronary atherosclerosis. Clin Chim Acta 2009; 408: 65-9. [CrossRef]
2. Cho DK, Choi JO, Kim SH, et al. Ischemia-modified albumin is a highly sensitive serum marker of transient myocardial ischemia induced by coronary vasospasm. Coron Artery Dis. 2007; 18:83–7
3. Serum Ischemia-modified Albumin Levels in an Experimental Acute Mesenteric Ischemia Model Zerrin Defne Dundar, MD, Basar Cander, Mehmet Gul, Keziban Ucar Karabulut, and Sadik Girisgin 2010 by the Society for Academic Emergency Medicine
4. Sildenafil as a Protecting Drug for Warm Ischemic Kidney Transplants: Experimental Results Enrique Lledó-García, David Subirá-Ríos, Daniel Rodríguez-Martínez, Elena Dulín, Emilio Alvarez-Fernández, Carlos Hernández-Fernández and Juan Francisco del Cañizo-López
5. Preventive effect of phosphodiesterase 5 inhibitor Tadalafil on experimental post-pyelonephritic renal injury in rats
Chun-Yan Zhu, MD, Min Liu, MD, PhD, Yong-zhen Liu, MD, Wei Li, MD, Wei Zhai, MD, PhD, Jian-ping Che, MD, Yang Yan, MD, Guang-chun Wang, MD, and Jun-hua Zheng, MD, PhD
6. Guyton AC. The kidneys and body fluids. In: Guyton AC (eds). Textbook of Medical Physiology. WB Saunders Company, Philadelphia 1991; pp 273–353.

7. Anafarta K, Baykara M, Baydınç C, Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. İn: Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N(eds). Temel Üroloji. Güneş Kitapevi, Ankara 1998, ss 1-27.
8. Abdominal Ultrasonoğrafi , Kuray P. 2000, ss 100-120.
9. Elhan A, Arıncı K. Anatomi(3.baskı). Güneş Kitapevi, Ankara. 2001, ss 311-315
10. Kabalin JN. Surgical anatomy of the retroperitoneum, kidneys and ureters. In: Walsch PC, Retic AB, Vaughan ED, Wein AJ.(eds), Campbell's Urology. Philadelphia. 2002, pp 3-40
11. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO: Urinary System: Basic Histology. Yedinci baskı. Appleton & Lange, Lebanon 1992, S.371-393.
12. Madox DA, Brenner BM: Glomeruler ultrafiltration. in: Brenner BM(eds). The Kidney. WB Saunders Company, Philadelphia 1996; pp 286-334.
13. Bullock J, Boyle J, Wang BM. NMS Physiology 4th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Pennsylvania 2001;289-96.
14. Guyton AC, Hall JE:The kidneys and body fluids. Textbook of Medical Physiology, WB Saunders Company, Philadelphia,1996:315-365.
15. Kelalis PP, King LR, Belman AB: Renal physiology and function: Clinical pediatric urology, W.B Saunders Company, Philadelphia, volume two, third edicion(25) 1992:1106-1117.
16. Başaklar AC. Böbrek ve üreterin konjenital malformasyonları. İçinde:Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları II.cilt, I.baskı:Palme Yayınları 2007;1205-1215.
17. Kon VI. Glomeruler filtration in: Massry SG, Glassock RJ (eds). Text book of nephrology. Wiliams and Wilkins, Baltimore 1995; pp 54-60.
18. Ergüder T. Renal fonksiyonlar http://www.edicine.ankara.edu.tr/temel_tip/biyokimya/files/Renal%20Fonksiyonlar.doc (Son erişim 02/09/2007).

19. Costanzo LS. Physiology 3rd edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2003;182-93.
20. Guyton AC. Textbook of Medical Physiology 10th edition. WB Saunders Company, Philadelphia 1996; 279-312, 295-312.asdEQ31”.
21. Valesquez H, Ellison DH, Wright FS: Chloride-dependent potasyum secretion in early and late distal tubules. Am J Physiol 1987;253:F555-F562.
22. Maddox DA, Brenner BM: Glomerüler ultrafiltration. In Brenner BM (ed): Brenner and Rector’s The Kidney,6th ed. Philadelphia, WB Saunders, 2000,pp 319-374.
23. Navar LG, Carmines PK, Mitchell KD. Renal circulation in: Massry SG, Glassock RJ (eds). Text book of nephrology. Wiliams and Wilkins Baltimore, 1995; pp 41–54.
24. Lance DD, Brenner BM. The renal circulation in: Brenner BM (eds). The Kidney. WB Saunders Company, Phiadelphia 1996; pp 247–286.
25. Navar LG. Renal autoregulation: Perspectives from whole kidney and single nephron studies. Am J Physiol1978; 234: F357.
26. Braam B, Mitchell KD, Koomans HA, Navar LG. Relevance of the tubuloglomeruler feedback mechanism in pathophysiology. J Am Soc Nephrol 1993; 4:1275.
27. Donna L. Carden,D. Neil Granger. Pathophysiology of ischeamia-reperfusion injury. J Pathol 2000; 190:255-266.
28. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA Ischemia/reperfusion injury. J Surg Res. 2002 , 15;105(2):248-58.
29. Cuzzocrea, S., Salvemini, D., 2007, Molecular mechanisms involved in the reciprocal regulation of cyclooxygenase and nitric oxide synthase enzymes, Kidney International, 71:290-297.
30. Siesjö BK. Mechanisms of ischemic brain damage.Crit. Care Med 1988;16:954-63.

31. Lehninger AL. Generation of ATP in anaerobic cell. In: Bioenergetics. ed 2 Menlo park, Calif: WA Benjamin 1971:53-71.
32. Newmeyer DD, Ferguson-Miller S. Mitochondria: releasing power for life and unleashing the machineries of death. Cell. 2003;21;112(4):481-90.
33. Vinas, L., J., Sola, A., Genesca, M., Alfaro, V., Pi, F., Hotter, G., 2006, NO and NOS isoforms in the development of apoptosis in renal ischemiareperfusion, Free Radical Biology & Medicine 40:992-1003.
34. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins pathologic basis of disease. 4 Th Ed Philadelphia. W.B. Saunders Company 1995; 3–12.
35. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA Ischemia/reperfusion injury. J Surg Res. 2002 , 15;105(2):248-58.
36. ArIMA S, Ren ArIMA S, Ren Y, Juncos A, Carretero A: Glomerular prostaglandins modulate vascular reactivity of downstream efferent arterioles. Kidney Int 1994; 45: 650–658.
37. Lehninger AL. Generation of ATP in anaerobic cell. In: Bioenergetics. ed 2 Menlo park, Calif: WA Benjamin 1971:53-71.
38. McDougal, W. S. The diagnosis, management, and pathophysiology of acute renal failure in surgical patients. 1985; A.U.A. Update Series, vol. IV: lesson 7.
39. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th edition. Philadelphia, Saunders, 2004 .
40. Hensley K, Robinson KA, Gabbita SP, Salsman S, Floyd RA. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury. Free Radic Biol Med. 2000; 15;28(10):1456-62.
41. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. British Journal of Surgery 1994; Volume 81, Issue 5, Pages: 637–647.
42. Orrenius S, Zhivotovsky B, Nicotera P. Regulation of cell death: the calcium-apoptosis link. Nat Rev Mol Cell Biol. 2003 ;4(7):552-65.

43. Chien KR, Abrams J, Serroni A, Martin JT, Farber JL. Accelerated phospholipid degradation and associated membrane dysfunction in irreversible, ischemic liver celi injury. *J Biol Chem* 1978; 253: 4809.
44. Brady HR, Brenner BM, Liebarthus W: Acute renal failure. *The Kidney*. WB Saunders Company, Philadelphia 1996; pp 1200–1252.
45. Shires GT; Cunningham JN, Backer CRF, Reeder SF, Illner H, Wagner Y, Maher J. Alterations in cellular membrane function during hemorrhagic shock in prIMAtes. *Ann Surg* 1972; 176: 288.
46. Vetterlein F, Petho A, Schmidt G. Distribution of capillary blood flow in rat kidney during postischemic renal failure. *Am J Physiol* 1986; 251: 510.
47. Hinnen R, Miyamoto H, Racker E. Calcium translocation in Ehrlich ascites tumor cells. *J Membr Biol* 1979; 49: 309.
48. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer Suppl.* 1987, 8: 66 -73.
49. Chatterjee K, Brown A, Cuzzocrea S et. al. Calpain Inhibitor -1 Reduces Renal Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat Kid. *Int.* 2001; 59: 2073 -2083.
50. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993, 49(3): 481 -493.
51. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 1156.
52. Arnold PE, LumlertgulD, BurkeTJ, Schrier RW. in vitro versus in vivo mitochondrial calcium loading in ischemic acute renal failure. *Amer J Physiol* 1985; 248: F845.
53. Bonventre JV, Zuk A: Ischemic acute renal failure: An inflammatory disease?. *Kidney Int* 66: 480-485, 2004.
54. Brezis M, Rosen S: Hypoxia of the renal medulla-its implication for disease. *N Engl J Med* 332: 647-655, 1995.

55. Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV: Acute renal failure. *N Engl J Med* 334: 1448-1460, 1996.
56. Lameire N, Biesen WV, Vanholder R: Acute renal failure. *The Lancet* 365: 417-430, 2005.
57. Sheridan AM, Bonventre JV: Pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *Contrib Nephrol* 132: 7-21, 2001.
58. Robert K. Plasma proteins. In: John Dolan (eds), *Harper' s Biochemistry*. Middle East Edition, California 1993. pp 665–687.
59. S.Sugio, A. KashIMA, S. Mochizuki, M. Noda and K. Kobayashi. Crystal structure of human serum albumin at 2.5 Å resolution. *Medicine PEDS*. 1999; 12, 6: 439-446.
60. Carter D.C. and Ho,J.X. *Adv. Protein Chem.* 1994; 45: 153-203.
61. Kiraz A. Diabetik ve nondiyabetik yetmezlikli hastalarda iskemi-modifiye albümin düzeyleri (Yüksek Lisans Tezi) ,Konya,2010.
62. Lugnier C (March 2006). "Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) superfamily: a new target for the development of specific therapeutic agents". *Pharmacol. Ther.* 109 (3): 366–98
63. Matsumoto T, Kobayashi T, Kamata K (August 2003). "Phosphodiesterases in the vascular system". *J Smooth Muscle Reseptors*
64. Effects of phosphodiesterase 10 inhibition on striatal cyclic AMP and peripheral physiology in rats An Torremans, Abdellah Ahnaou, An Van Hemelrijck, Roel Straetemans, Helena Geys, Greet Vanhoof, Theo F. Meert, and Wilhelmus H. Drinkenburg
65. Papaverine - induced inhibition of phosphodiesterase activity in various mammalian tissuesG. Pösch, W.R. Kukovetz
66. eon Y, Heo Y, Kim C, Hyun Y, Lee T, Ro S, Cho J (2005). "Phosphodiesterase: overview of protein structures, potential therapeutic applications and recent progress in drug development". *Cell Mol Life Sci* 62 (11): 1198–220
- 67.trophy tj,barnette mc,underwood dc,pulmoner pharmacology and therapeutics.1999

68. Sounes JE, Aldous D. PDE tip 4 inhibitors, immunopharmacology

69. Kiraz A. Diabetik ve nondiyabetik yetmezlikli hastalarda iskemi-modifiye albümin düzeyleri (Yüksek Lisans Tezi) ,Konya,2010.

70. Roy D, Quiles J, Sharma R, Sinha M, Avanzas P, Gaze D, Kaski JC. Ischemia modified albumin concentrations in patients with peripheral vascular disease and exercise-induced skeletal muscle ischemia. *Clinical Chemistry*.2004; 50: 1656–60.

71. Bar-Or D, Lau E, Winkler JV. A novel assay for cobalt-albumin binding and its potential as a marker for myocardial ischemia-a preliminary report. *J Emerg Med*. 2000; 19: 311–315.

72. Smi A, Othani W, Kobayashi K, Ohmura T, Yokoyama K, Nishida M, Suyama T. *Biotechnol. Blood Proteins*.1993; 227: 293-8.

73. Lippi G, Montagnana M, Guidi GC. Albumin cobalt binding and ischemia modified albumin generation: an endogenous response to ischemia? *Int J Cardiol*.2006; 108: 410-

74. Marx G, Chevion M: Site-specific modification of albumin by free radicals. *Biochem J*. 1985; 236: 397–400.

75. Wardman P, Candeias LP. Fenton Centennial Symposium. Fenton Chemistry: An Introduction. *Radiation Research*. 2006; 145: 523–31.

76. Lassac JP, Sakar B: Characterization of the copper (II) and nickel(II) transport site of human serum albumin. Studies of copper (II) and nickel (II) binding to peptide 1-24 of human serum albumin by ^{13}C and ^1H NMR spectroscopy. *Biochemistry*. 1984; 23: 2831–2838.

77. Sharma R, Gaze D. Ischemia modified albumin and troponin predicts in haemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*.2006; 47:493–502.

78. Sokolowska M, Krezel A, Dyba M, Szewczuk Z, Bal W. Short peptides are not reliable models of thermodynamic and kinetic properties of the N-terminal metal binding site in serum albumin. *Eur J Biochem*.2002; 269: 1323-31.

79. Bal W, Christodoulou J, Sadler P, Tucker A. Multi-metal binding site of serum albumin. *J Inorganic Biochem*. 1998; 70: 33-9.

80. Chevion M, Jiang Y, Har-El R, Berenshtein E, Uretzky G, Kitrossky N. Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: Possible predictive criteria for tissue injury. *Proc Natl Acad Sci* 1993;90:1102–6.
81. Pollack CV, Peacock WF, Summers RW, Fesmire FM, Holroyd BR, Kirk JD, Mannion TM. Ischemia-modified albumin (IMA) is useful in risk stratification of emergency department chest pain patients. *Acad Emerg Med*. 2003; 10: 555–6.
82. Dusek J, Stasek J, Tichy M, Josef Bis J, Gregor J, Vojacek J, Masin V, Polansky P, Brtko M, Cernohorsky D. Prognostic significance of ischemia modified albumin after percutaneous coronary intervention. *Clin Chim Acta*. 2006; 367 (1–2); 77– 80.
83. Bar-Or D, Winkler JV, Vanbenthuyzen K. Reduced albumin-cobalt binding with transient myocardial ischemia after elective percutaneous transluminal coronary angioplasty: A preliminary comparison to creatine kinase-MB, myoglobin, and troponin I. *Am Heart J*. 2001; 141: 985–91.
84. Kalay N, Çetinkaya Y, Gül G, Yılmaz Y, Kayaaltı F, Özdoğru G, Duran M, Bağar E, Eryol NK, Oğuzhan A, Ergin A. Koroner arter hastalığı tanısında efor testi ve iskemi-modifiye albuminin birlikte kullanımı, Erciyes Üniversitesi Kardiyoloji ABD, Kayseri, 2006. Erişim Tarihi: 30.10.2009.
85. Wu AHB. The ischemia-modified albumin biomarker for myocardial ischemia. *Medical Laboratory Observer*. 2003;12:36–40.
86. Dawson TM, Dawson ML, toksikology and pharmaseutics NO in CNS
87. Bran DW, Bhat GK, transmitter and neuroendocrine regulaion
88. Paakari I, Lindsberg P. NO in the CNS
89. Synder SH, Bredt T, Biologycal roles of NO
90. Rao WLR, Butterworth R. NO synthase and encephalopatya
91. Zweier JL, Wang P. Enzyme independent formation of NO effects in tissues

92. Eroğlu L. Nitrik oksit genel özellikleri aknem 1999
93. Kurt N. Çukorova Üniv. Kimya bölümü yüksek lisans tezi
94. Luciani LG, Cestar R, Tallarigo C. Incidental renal cell carcinoma- age and stage characterization and clinical implications : study of 1092 patients. Urology. 2000; 56: 58-62
95. Fergany AF, Hafez KS, Novick AC. Long term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. J Urol. 2000; 163: 442-5
96. Uzzo RG, Novick AC. Nephron sparing surgery for renal tumors: indications, techniques and outcomes. J Urol. 2001; 166: 6-18
97. Janetschek G. Laparoscopic partial nephrectomy: how far have we gone? Curr Opin Urol. 2007; 17: 316-21
98. Berger A, Crouzet S, Canes D, et al. Minimally invasive nephron-sparing surgery. Curr Opin Urol. 2008; 18: 462-6
99. Fergany AF, Saad IR, Woo L, Novick AC. Open partial nephrectomy for tumor in a solitary kidney: experience with 400 cases. J Urol. 2006; 175: 1630-3
100. Gill IS, Kavoussi LR, Lane BR, et al. Comparison of 1800 laparoscopic and open partial nephrectomies for single tumors. J Urol. 2007; 178: 41-46
101. Lane BR, Novick AC, Babineau D, et al. Comparison of laparoscopic and open partial nephrectomy for tumor in a solitary kidney. J Urol. 2008; 179: 847-52
102. Venkatesh R, Weld K, Ames CD, et al. Laparoscopic partial nephrectomy for renal masses: effect of tumor location. Urology. 2006; 67: 1169-74
103. Aron M, Gill IS. Minimally invasive nephron sparing surgery (MINSS) for renal tumours

part I: laparoscopic partial nephrectomy. Eur Urol. 2007; 51: 37-47

104. Andonian S, Janetschek G, Lee BR. Laparoscopic partial nephrectomy: an update on contemporary issues. Urol Clin N Am. 2008; 35: 385-96

105. Ljungberg B, Campbell SC, Cho HY, et al. The Epidemiology of Renal Cell Carcinoma Euro Urol 2011;60(4):615–62.

106. Kaplan C, Pasternack B, Shah H, Gallo G. Age-related incidence of sclerotic glomeruli in human kidneys. Am J Pathol 1975;80:227-34

107. Fergany AF, Hafez KS, Novick AC. Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. J Urol 2000;163:442-5.

108. Effects of Acrylamide Treatment on Oxidant and Antioxidant Levels in Rats. Fatma Hümeýra Yerlikaya Aysun Toker Yeşim Yener. Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi 2013-19-4 shf:607-612

109. The effect of bosentan on plasma ischemia modified albumin levels in acute mesenteric ischemia. Kamil Gülpınar, Süleyman Özdemir, Erpulat Özi , Sinan Aydın, Atilla Korkmaz. Nobel Med 2013; 9(2): 96-99

110. Ischemia Modified Albumin Levels Following Mild Closed Head Trauma in the Rat Tuncay Çolak, Can Duman, Belgin Bamaç, Adem Aydın, Aydın Özbek, Kürşat Yıldız, Ümit Biçer. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2010;30(4):1171-6

111. Retreatment of sildenafil attenuates ischemia-reperfusion renal injury in rats

Dae Eun Choi , Jin Young Jeong , Beom Jin Lim , Sarah Chung , Yoon Kyung Chang , Sang Ju Lee , Ki Ryang Na , Seok Young Kim , Young Tai Shin , Kang Wook Lee
American Journal of Physiology - Renal Physiology
Published 1 August 2009

112. Intravenous Sildenafil as a Preconditioning Drug Against Hemodynamic Consequences of Warm Ischemia-Reperfusion on the Kidney

Enrique Lledo-Garcia,* David Subira-Rios, Gabriel Ogaya-Pinies, Alberto Tejedor-Jorge,* Juan Francisco Del Cañizo-Lopez* and Carlos Hernandez-Fernandez

113. Phosphodiesterase-5 inhibition attenuates early renal ischemia-reperfusion-induced acute

kidney injury: assessment by quantitative measurement of urinary NGAL and KIM-1

RIMA Sohotnik, Omri Nativ, Abeer Abbasi, Hoda Awad, Victor Frajewicki, Bishara

Bishara, Igor Sukhotnik, Zaher Armaly, Doron Aronson, Samuel N. Heyman, Ofer Nativ, and

Zaid Abassi. Am J Physiol Renal Physiol 304: F1099–F1104, 2013.

GÖRSEL KAYNAKLAR

I. McGraw Hill Human Anatomy third edition 2006 p. 486

II. Madox DA, Brenner BM: Glomerular ultrafiltration. in: Brenner BM(eds). The Kidney.

WB Saunders Company, Philadelphia 1996; pp 286–334.

III. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. Br Med Bull.

1993, 49(3): 481 -493

IV. Mechanism of action of PDE-5 inh. The New England journal of medicine 2002 – 342

p:1812-1813

V. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology B-for biological signal pathway of

cGMP 2013- p :10

VI. Smi A, Othani W, Kobayashi K, Ohmura T, Yokoyama K, Nishida M, Suyama T.

Biotechnol. Blood Proteins. 1993; 227: 293-8.

VII.Chevion M, Jiang Y, Har-El R, Berenshtein E, Uretzky G, Kitrossky N. Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: Possible predictive criteria for tissue injury. Proc Natl Acad Sci 1993;90:1102–6.

VIII.Lippincott's illustrated reviews pharmacology 2000 p:189

