T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Tez Yöneticisi
Doç. Dr. Ümit Nusret BAŞARAN

HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ UYGULANAN TEK TARAFLI ÜRETER OBSTRÜKSİYONU OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA NİTRİK OKSİTİN ROLÜ

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Zafer DÖRTDOĞAN

EDİRNE-2010

TEŞEKKÜR

Cerrahi sanatını bana öğreten Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı hocam, Sayın Prof. Dr. Mehmet PUL'a, bölümümdeki diğer hocalarım Doç. Dr. Mustafa İNAN'a ve Sayın Doç. Dr. Burhan AKSU'ya, tez yazımımın her aşamasında bilgi ve deneyimini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ümit Nusret BAŞARAN'a, yardımlarından dolayı Prof. Dr. Mehmet KANTER ve Biolog Mustafa ERBOĞA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ AMAÇ 1

GENEL BİLGİLER 3

- **ÜST ÜRİNER SİSTEM EMBRİYOLOJİSİ** 3
- **ÜST ÜRİNER SİSTEM ANATOMİSİ** 4
- **ÜST ÜRİNER SİSTEM HİSTOLOJİSİ** 6
- **OBSTRÜKTİF NEFROPATİ** 8
- **SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ** 10
- **NİTRİK OKSİT** 10
- **NÜKLEER FAKTÖR KAPPA-B** 13
- **HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ** 14

GEREÇ VE YÖNTEMLER 18

BULGULAR 25

TARTIŞMA 36

SONUÇLAR 40

ÖZET 41

SUMMARY 43

KAYNAKLAR 45

EKLER

SİMGE VE KISALTMALAR

ATA : Atmosphere absolute

ECHM : European committee of hyperbaric medicine

eNOS : Endotelial nitrik oksit sentaz

HBO : Hiperbarik oksijen

HE : Hematoksilen-eozin

iNOS : İndüklenebilir nitrik oksit sentaz

MDA : Malondialdehit

NF-kB : Nükleer faktör kappa B

NO : Nitrik oksit

NOS : Nitrik oksit sentaz

UHMS : Undersea and hyperbaric medicine

ÜPB : Üreteropelvik bileşke

GİRİŞ VE AMAÇ

Yenidoğanlarda ve çocuklarda saptanan üriner sistem obstrüksiyonlarının en sık sebebi üreteropelvik bileşke (ÜPB) darlığı olup uzun süre asemptomatik seyreder (1). ÜPB darlığı düzeltilmediği takdirde erken dönemde böbrek pelvisinde hidrostatik dilatasyona, geç dönemde de böbreklerde parankim hasarına ve kalıcı fonksiyon bozukluklarına neden olmaktadır (1). Renal parankimal hasarın en sık sebebi de tedavi edilmemiş üriner sistem obstrüksiyonlarıdır (2). Obstrüksiyon sonrasında ilk 1-2 saat içinde oluşan vazodilatasyon ve renal kan akımında artış prostaglandinler üzerinden olmaktadır (3). Obstrüksiyonun ilk 48-72 saatinde papillalarda düzleşme, distal ve proksimal nefronda dilatasyon ve atrofiye yöneliş olur. Birinci hafta sonunda dilate kollektör tubulde atrofi ve nekroz gelişir. İkinci hafta sonunda distal tubulde dilatasyon artar, proksimal tubul epitelinde atrofi gözlenir. Üçüncü hafta ve sonrasında medullar kalınlıkta %50 azalma oluşur. Korteks incelir ve proksimal tubul atrofisi belirginleşir, glomerüllerde ve tubullerde fibrozis meydana gelir (4,5). İlk aşamada artan üreteral basıncın etkisiyle böbrek hasarı başlarken, doku iskemisi, hücresel atrofi ve nekroz artan basıncın etkisiyle ortaya çıkan böbrek kan akımındaki azalmanın sonucudur. Oluşan iskemi sonucu hemodinamik ve metabolik bozukluklar meydana gelir. Bu bozukluklara eklenen T-Lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu böbrek parankimindeki ileri dönemde gelişen inflamasyonun bir bulgusudur (4-6). Serbest oksijen radikallerinin dokulara etkisi ile oluşan ve lipid peroksidasyonu esnasında bir dizi reaksiyon sonucu meydana gelen son ürün malondialdehit (MDA) oluşan serbest oksijen radikallerinin iyi bir göstergesidir. MDA'nın yükselmesi artmış lipid peroksidasyonunu gösterir (7). Nitrik oksit (NO); vasküler düz kas hücresi kontraksiyonunun ve inflamasyon öncüsü aktivitelerin endojen inhibitörüdür. Vasküler hasar sonucu endotel hücresi zedelenmesi ile NO kaybı gelişir (8). NO, konstitutif nitrik oksit sentaz izoenzimi olarak bilinen endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS), nöronal

nitrik oksit sentaz enzimleri ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi tarafından sentezlenebilen serbest radikaldir. İlk iki NOS formu fizyolojik seviyede NO'yu sentezler ve vazorelaksasyonda ve nörotransmisyonda rol oynar. iNOS ise çok miktarda NO sentezlenmesini sağlayarak sitotoksik, bakterisidal ve tümörisidal etki yapar. Konstitütif olarak sentezlenen NO intrasellüler ve/veya ekstrasellüler messenger olarak görev yaparken, yüksek konsantrasyonlarda sentezlenmesi ise hücre için toksik etki yaparak deoksiribonukleikasit replikasyonunun inhibisyonuna ve lipid peroksidasyonuna yol açar (9). Hiperbarik oksijen (HBO) tedavisi, izole bir basınç odasında hastaya deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan (1 ATA = "atmosphere absolute" = 760 mmHg) 2-3 kat daha fazla bir basınçta %100 oksijen solutulması ile uygulanan bir tedavi şeklidir (10). Maske, başlık veya endotrakeal tüp ile uygulanan HBO ile arteryel oksijen basıncı 2000 mmHg'ya, doku oksijen basıncı da 400 mmHg'ya kadar çıkabilir. Bu basınçla yapılan oksijen uygulaması biyokimyasal, sellüler ve fizyolojik birçok yarar sağlar (11). HBO tedavisinin iskemi-reperfüzyon hasarının yol açtığı doku tahribatlarında iyileştirici etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (12). Ancak literatürde obstrüksiyon varlığında HBO uygulanmasının böbrekte oluşturabileceği olası etkilerde NO'nun rolünü araştıran bir çalışma yoktur. Ratlarda iyi düzenlenmiş üreter obstrüksiyon modelleri ile oluşturulan deneysel çalışmaların, insanda oluşan obstrüktif üropatiyi iyi düzeyde modellediği görülmüştür (13,14). Biz de bu çalışmamızda, hiberbarik oksijen tedavisi uygulanan tek taraflı üreter obstrüksiyonu oluşturulmuş sıçanlarda NO'nun uyarımına ve blokajına bağlı rolünün araştırılması için alınan dokuları immunohistokimyasal metodlarla değerlendirmeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

ÜST ÜRİNER SİSTEM EMBRİYOLOJİSİ

İnsanda böbrekler ile idrar atılımını sağlayan üreter, mesane ve üretranın gelişimi farklıdır (15). Böbrek embriyolojik oluşum sırasına göre pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olarak adlandırılır. İlk iki oluşum uterus içinde kaybolur ve üçüncüsü kalıcı böbrek haline gelir (16). Birbiri ardına gelişen pronefroz, mesonefroz ve metanefrozun üropoetik kısmına ait gelişimi aynıdır ve somitleri yan plaklara bağlayan dar ve boru şeklindeki somit saplarından yani mezoderme ait olan ürogenital plaktan kaynaklanırlar. İnsanda intrauterin yaşamın 5. haftası civarında üreteral tomurcuk, sefalik pozisyonda metanefrik blasteme penetre olur. Arkasından dallara ayrılarak renal pelvis, majör ve minör kaliks kollektör tüpler ve üreteri oluşturur. Kollektör tubuller, pelvis renalis ve üreter, Wolf kanalının yaptığı üreter tomurcuğundan orijin alırken, idrarı hazırlayan kısımlar yani Bowman kapsülü, tubuli kontorti, henle kulpu ve nefronlar ise mezonefroz blastemin devamı olan metanefrojen dokudan gelişirler (17). Üreter tomurcuğunun son kısmı genişleyerek propelvisi oluştururken diğer kısmı ise sap gibi uzayarak üreter taslağını yapar. Propelvisten; pelvis renalis, kaliksler ve kollektor tubuliler meydana gelir. Bütün bu embriyolojik gelişim süreciyle birlikte ÜPB'nin etkilenmesi özellikle şu aşamalarda olmaktadır. Üreterik tomurcuğun ya da metanefrozun anormal farklılaşması beraberinde çeşitli konjenital renal ve kollektör sistem anomalilerine neden olur (18). Üreter 6. gestasyon haftasında solid doku formundadır ve midüreteral segment ile başlayan kanalizasyon genişleyerek devam eder. ÜPB ve üreterovezikal bileşke son kanalize olan segmentlerdir. Bunların kanalizasyonu sırasında gelişen membranların kaybolmasının geçikmesi hidronefroza veya hidroüreteronefroza yol açabilirler (19). Fetal üreter relatif olarak uzun ve tortuoz yapıdadır.

Vücut büyümesiyle ve üst retroperitoneal bölümde böbreğin yükselişi ile geç olsa da düzleşir. Fetal kıvrımların ve tortuozitenin devam etmesi sonucu olan konjenital üreteral obstrüksiyon Ostling valv ile açıklanabilir (20).

ÜST ÜRİNER SİSTEM ANATOMİSİ

Böbrek

a. Makroskopik anatomi: Böbrekler retroperitoneal korunan bilateral yerleşimli solid organlardır. Kalp kan atımının 1/5 ini alırlar. Yenidoğanda böbrekler ve adrenal glandlar vücut ağırlığının 1/80'dir. Çocuklarda vücut boyuna göre relatif büyük olan böbrekler doğumda multipl fetal lobulasyonlardan dolayı makroskopik olarak irregüler görülürler. Bu lobulasyon yaşamın ilk yılı içinde tipik olarak kaybolur. Her iki böbreğin medial yüzündeki basık alana renal hilum denir. Bu bölüm renal sinüse açılır, böbreğin santralinde bulunur ve renal parankimle çevrilmiştir. Üriner kollektör yapılar ve renal damarlar renal sinüste toplanarak renal hilumdan böbreği terk ederler (15).

b. Mikroskopik Anatomi: Renal parankim korteks ve medulla olarak iki bölüme ayrılır. Renal korteks periferde devamlılık gösterir, ayrıca renal sinüse uzanan piramidlerin arasında da olmak üzere piramidleri örter. Korteksin bu interpiramidal uzantıları renal kolumna adını alır ve burası renal damarların böbrek parankimine giriş ve çıkış yeridir. Renal lob, bir medüller piramid ve birlikte çevrili korteks olarak tanımlanır (15). Medulla, renal piramid adını alan multipl konikal segmental bölgelerden oluşur ve devamlılık göstermez. Renal piramidlerin tabanı böbreğin dış konturuna parelel seyreder, tepesi ise renal papillada yuvarlaklaşır ve her biri minör kaliks yoluyla kollektör sisteme açılır. Renal piramid sayısı kadar minör kaliks bulunur (18). Mikroskopik olarak böbreğin en küçük anatomik ve fonksiyonel ünitesi, her bir böbrekte sayısı yaklaşık 2 milyon kadar bulunan nefrondur (15).

c. Renal papilla, kaliksler ve pelvis renalis: Medulla ortalama 8 (4-18) adet çizgili görünümlü piramidden oluşur. Piramidlerin tabanı kortekse bakar tepeleri papilla adını alır ve minör kalikslere açılır. Minör kaliksler renal kollektör sistemin ilk büyük yapılarıdır. Renal piramid kesit yüzü birbirine parelel seyreden henle kolları, kollektör kanallar ve vaza rektalar nedeniyle çizgili görünümdedir. Pelvis, 2-3 ana major kalikse bunlarda papillalarda sonlanan bir çok minör kalikse ayrılırlar. Pelvis küçük olabilir ve tümüyle böbrek sinüsünün içinde

veya kalikslerin uzun olması nedeniyle tümüyle böbrek dışında olabilir. Pelvis, üreter ile devamlılık gösterir, birleşim yerine ise ÜPB denir (15).

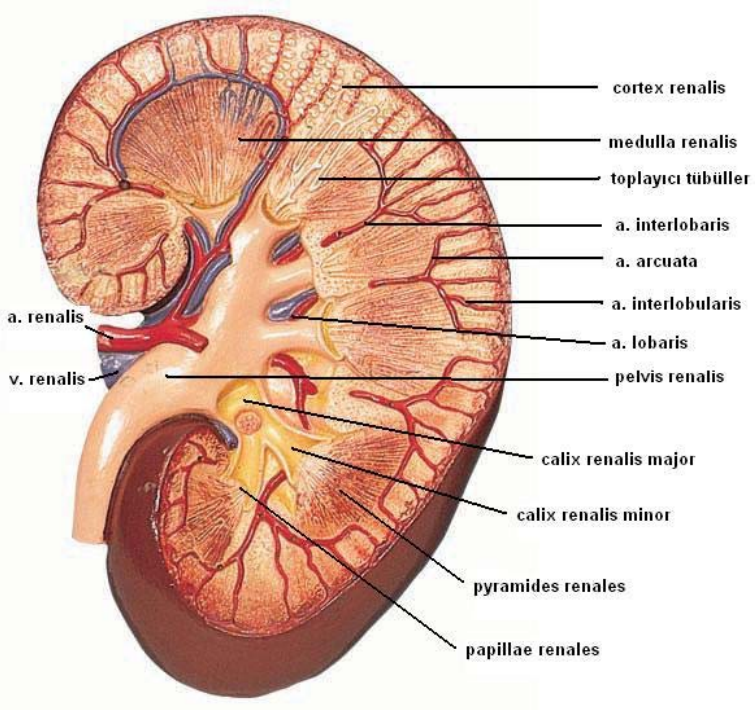
d. Vasküler yapı: Böbreğin vasküler pedikülü, klasik olarak renal hilumun mediali yoluyla böbreğe giren kalın bir ven ve tek arter (%70) ile tanımlanır. Böbreğin anatomik yapısı ve damarları Şekil 1'de gösterilmiştir. Hilusa giren yapılar anteriordan posteriora doğru olmak üzere sırasıyla ven, arter ve renal pelvistir (15).

e. Arteryel yapı: Sağ renal arter sola göre daha yukarıda olmak üzere renal arterler aortadan çıkmaktadır. Sağ renal arter, sola göre daha uzundur. Renal arterin küçük superior kolu adrenal glandı, küçük inferior kolu da pelvis ve üst üreteri besler. Minik arteriel dalları ise renal kapsül ve perinefritik yağlı dokuyu besler. Renal arter tipik olarak 4 veya daha fazla segmenter damara ayrılır. Genellikle renal hiluma girmeden önce renal arterden ayrılarak posteriorda pelvis ve böbreğin posterior segmentinin büyük kısmını besleyen dal, en değişmez bölüm olan posterior segmenter arterdir. Bu segmenter dağılım böbreğin posterolateral bölümünde avasküler bir çizgi olan Brödel hattını oluşturur. Bu çizgi dış yüzde pelvisin alt giriş noktasına döner ve Gilvernet'in genişletilmiş pyelonefrotomi girişimi bu bölgeden yapılan insizyonla gerçekleştirilir. Segmenter arteri takip eden multipl kollardaki arterler son arterlerdir. Anastomoz veya kollateral dolaşımları olmadığı için bu damarların oklüzyonu ile iskemi ve infarktlar oluşur (15).

f. Venöz Yapı: Postglomerüler kapillerler sonunda interlobular venlere drene olur, bunlar da sırasıyla arkuat, interlober ve segmental venlere drene olurlar. Genellikle 3 geniş venöz trunkus bulunur. Bu üç venöz trunkus ana renal ven olarak genellikle renal sinüsun dışında birleşir. Bu geniş segmental venöz trunkusun ÜPB ile yakın ilişkisi bulunur. Parankimal venler arterlerden farklı olarak özellikle arkuat damarlar seviyesinde ve çoğu kaliksin infindibulumu çevresinde serbestçe anastomoz yaparlar. İnterlobular venler birleşerek subkapsüler venöz pleksusu oluştururlar ve perinefritik yağlı dokuyu drene ederler. Sağ renal ven 2-4 cm ile soldan daha kısadır ve başka venöz dallar almaksızın *vena cava inferior'*a sağ lateral yüzden direkt olarak girer. Sol renal ven genellikle sağdan 2-3 kat daha uzundur. Aortanın anteriorunu çaprazlar ve *vena cava inferior'*a sol lateral yüzden girer. Sol renal venin vena kava inferiora giriş yeri sağa göre daha yukarıda ve anterolateraldedir, sağ renal ven ise daha posteriolateral pozisyonda *vena cava inferior'*a açılır. Sol renal vene üstten

sol adrenal ven, posteriordan lomber ven ve inferiordan gonadal ven dökülür. İki vende genelikle birlikte oldukları arterlerin anteriorunda bulunurlar (15).

g. İnnervasyon: Böbrekler T12 - L2 seviyesinden gelen renal pleksusdan innerve olmaktadır. Bu pleksusa çöliak ve aortikorenal ganglionlardan ve alt torasik sinirler ile aorta ve alt splanknik sinirlerden dallar gelmektedir. Böbrek korteksi ve kapsül civarından çıkan afferent lifler ise sempatik liflerle T11 - L2 düzeyine ulaşırken çok az bir bölümü de vagus yoluyla aynı yolu izler. Böbreğin otonomik afferent lifleri inguinal ve femoral bölgeden gelen somatik lifler ile aynı yerden spinal korda girdiklerinden, ağrı sıklıkla subkostal bölge ve alt karın bölgesine yayılır (15).



Şekil 1. Böbreğin anatomik yapısı ve damarları

ÜST ÜRİNER SİSTEM HİSTOLOJİSİ

Böbrek

Longutidinal kesitinde 3 farklı yapı gözlenir: Fibroz kapsül, korteks ve medulla. Böbrek yüzeyi konnektif doku olan kapsül ile kaplanmıştır. 2 tabakası vardır: Fibroblastlar ve kollojen lifler dıştaki tabakayı, miyofibroblastlar iç tabakayı oluşturur. Miyofibroblastların kontraksiyonu basınç ve hacim değişikliklerine karşı koymaya yardımcı olur (21). Böbrek'in

hem sekretuvar, hem de boşaltım fonksiyonları olan ve bir tubulü içeren fonksiyonel birimine nefron denir. Her bir böbrekte yaklaşık iki milyon kadar olduğu tahmin edilmektedir. Sekretuvar segmentin büyük bir bölümü korteks içinde bulunur. Böbrek cisimciği; Böbrek tubulünün salgılayıcı kısmından ibarettir ve medulla içindedir. Böbrek cisimciği proksimal *tubuli kontorti* epiteli ile devam eden Bowman kapsülü içine uzanan vasküler glomerülden oluşur. Böbrek tubulünün sekretuar bölümü proksimal *tubuli kontorti*, henle kanalı ve distal *tubuli kontorti'*den oluşmuştur. Nefronun başlangıcı renal korpusküldür. Glomerüllerin kapillerlerinden geçen kan glomerüler filtrasyonu oluşturur. Bowman kapsülü paryetal epitelyal hücre içerir ve tek katlı squamöz epiteldir. Renal korpuskül mezengial hücreler içerir. Fagositoz, yapısal destek ve sekresyon gibi fonksiyonları mevcuttur. Primer fonksiyonu glomerülobazal membranı temizlemektir. Nefronun boşaltım bölümünü *tubuli kontorti'*nin çıkan kolonunun distal ucuyla devam eden toplayıcı tubul oluşturur. Toplayıcı tubul içeriğini piramidin ucundan minör kalikslere boşaltır. Böbrek stroması gevşek bağ dokusundan ibarettir. Kan damarları, kapilerler, sinirler ve lenfatikleri içerir (21).

Üreterler

Üreterler, pelvis renalisin tubüler uzantısı olup uzunluğu yaş ve vücudun durumuna göre değişmektedir. Üreter anatomik olarak abdominal ve pelvik, radyolojik olarak üst, orta ve alt segmentlere ayrılabilir. Normal şartlar altında üriner içerik pasif drene olmaz, renal pelvisten mesaneye doğru üreteral kasların peristaltik etkisi ile aktif olarak ilerler (15).

Fizyolojik darlıkları: Üreterin üç yerinde darlık vardır. Bunlar ÜPB, iliak çapraz seviyesi ve intramural bölgedir (15).

Kanlanması: Retroperitoneumda üreter renal arterden, gonadal arterden, abdominal aortadan ve ana iliak arterden dallar alabilir. Pelvise açıldıktan sonra internal iliak arterden kaynaklanan küçük arterial dallar distal üretere eklenebilir ya da özellikle vezikal ve uterin arterler, orta rektal veya vaginal arterlerden de dal alabilir. Arterial dallar üst üreterde medial doğrultuda, pelviste lateral doğrultuda bulunur. Üreterin venöz drenajı genellikle arterlere paralellik gösterir. Lenfatikler ise üstte böbrek, ortada lateral aortik ve altta internal - birleşik iliak lenf nodlarına drene olurlar. Karında; sol üreterin primer lenf drenajı, sol paraaortik nodlara olurken, sağ üreterin ki parakaval ve interaortakaval nodlara olur. Üst üreterin ve pelvisin lenf drenajı böbrek lenfatikleri ile birleşerek ipsilateral böbreğe olur (15).

İnnervasyon: Üreterin üst bölümü aortikorenal pleksustan, orta bölümü superior hipogastrik, alt bölüm ise inferior hipogastrik pleksustan gelen lifler ve hipogastrik sinirden innerve olur. Parasempatik uyarısı ise S2-4 ile olur. Ağrı ve refleks kas spazmı tipik olarak subkostal iliohipogastrik, ilioinguinal ve genitofemoral sinirlerle dağıtılır (15).

Histoloji: Üreter dışta fibröz ince katlı, yaygın kan damarları pleksusu ve üretere paralel seyreden lenfatikleri içeren adventisya tabakasıyla sarılmıştır. Bu tabaka sinüste böbrek fibröz kapsülü ile altta mesanenin üstünü kaplayan ince fibröz dokuyla devam eder. Üreterin müsküler tabakasında; içte longitudinal, dışta sirküler ve oblik kas lifleri bulunur. Sirküler lifler papilla çevresinde yoğunlaşır; ancak gerçek bir sfinkter oluşturmaz. Longitudinal lifler ise intramural üreter kısmında belirginleşir. Mukoza transizyonel epitelden oluşur, mesane içinde de devam eder, böbrekte papillalar üzerinde kübik şekil alır (15)

OBSTRÜKTİF NEFROPATİ

Üriner sistemin herhangi bir yerinde idrar akımının engellenmesi üriner obstrüksiyonu ve bunu takiben gelişen böbrek pelvis ve kalikslerinin anormal genişlemesi hidronefroz olarak tanımlanır (4,5). Üriner obstrüksiyon sonucunda üriner sistemde oluşan değişiklikler obstrüktif üropati, böbrekte oluşan değişiklikler ise obstrüktif nefropati olarak tanımlanır. Progresif dilatasyon, hidronefroz ve böbrek parankim harabiyeti ile sonuçlanmaktadır (4). Hidronefroz basit, minimal renal pelvis dilatasyonundan en ağır pelvis ve kaliks dilatasyonlarına kadar çeşitli derecelerde görülebilir (22,23). Basınç yükselmesi böbreklerde önce kaliksleri etkiler. Kalikslerin konkav görüntüsü bozulur, forniksler küntleşir veya yuvarlaklaşır, intrapelvik basınç yüksekliği devam ettikçe papilla yassılaşır, konkav durumdan konveks bir görüntüye girer (4,5). İleri devrelerde ise kaliksler 3-4 cm'lik hidronefrotik poşlar haline gelir. Kaliks içerisindeki basınç artımı ve genişlemeler ile oluşan iskemi papilla atrofisi ve kaliks genişlemeleri ile sonuçlanır. Genellikle kalikslerdeki genişleme ile parankimal atrofi doğru orantılıdır ve intrapelvik basıncın artması sonucu böbrek parankimi renal kapsül ile kaliksler arasına sıkıştığından parankimal atrofi başlar (4,5). Obstrüktif üropati uzun dönemde renal hasar ile renal fonksiyon kaybına ve renal replasman tedavi gereksinimine yol açarak ciddi morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır (24). Temel olarak doğumsal bir anomali olmakla birlikte olguların ancak %25' inde tanı yaşamın ilk yılında, %50'sinde ise 5 yaştan önce konulabilmektedir. Günümüzde prenatal sonografinin gelişmesi ile üst üriner sistemin dilatasyon ve kistik değişikliklere neden olan konjenital üropatilerin tanımlanması mümkün olmuştur. Modern sonografik donanıma

rağmen doğum öncesi hidronefroza yol açan spesifik hastalığın tanısı doğuma kadar belirlenemez (25). Hidronefrozun sınıflandırılmasında "Society For Fetal Urology" sınıflaması günümüzde en yaygın kullanılan yöntem olarak değerini korumaktadır (26). Bu sınıflamaya göre; evre 0 normal, 1. evre renal pelviste hafif genişleme, 2. evre renal pelvis ve kalikslerde belirgin genişleme, 3. evre renal pelvis ve kalikslerde ileri genişleme ve 4. evre ise böbrek parankim kaybı ile birlikte böbrek pelvisinde ve kalikslerinde ileri genişleme olarak tanımlanmaktadır. Hidronefrozun derecesi ile düzelme potansiyeli birbiri ile korelasyon gösterir. Evre 1 de düzelme % 50 hastada görülürken bu oran evre 2, 3, 4 de sırayla %36, %16 ve %3' tür (27). Vakaların çoğu tek taraflıdır ancak %17-30 oranında hidronefroz iki taraflı olabilir. İki taraflı hidronefroz, altta yatan üriner sistem obstrüksiyonunu tespit etmek ve renal fonksiyonları korumak açısından dikkatli bir yaklaşım gerektirir (28). Obstrüktif nefropati konjenital ve diğer nedenleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Doğum sonrası görüntülemede doğum öncesi tespit edilen hidronefrozların % 48 i devamlılık gösterir ve bunların %15'i obstrüksiyonsuz genişlemiş pelvis, %11'i ÜPB darlığı, %9'u vezikoüreteral reflü, %4'ü megaüreter, %2'si multikistik displastik böbrek, %2'si üreterosel, %2'si renal kist, %1'i posterior üretral valve bağlıdır (29).

Tablo 1. Obstrüktif nefropati nedenleri

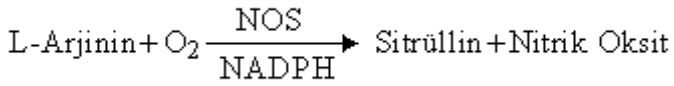
	Renal	**Üreter**	**Mesane - Üretra**
Konjenital	Renal kist Peripelvik kist Polikistik böbrek Üreteropelvik bileşkede fibröz obstrüksiyon-aberran damar Obstrüksiyonsuz genişlemiş pelvis	Striktür Üreterosel Megaüreter Üreteral valf Ektopik böbrek Retrokaval Üreter Üreterovezikal reflü Prune-belly sendromu	Fimozis Üretral Striktür Epispadias Hipospadias Posterior üretral valv
Neoplastik	Wilms tümörü Renal hücreli karsinom Multipl myelom Renal pelvisin transizyonel hücreli karsinomu	Üreterin primer karsinomu Metastatik karsinom	Mesane karsinomu Prostat karsinomu Üretra karsinomu Penis karsinomu
İnflamatuvar	Tüberküloz Ekinokok	Tüberküloz Şistozomiyazis Apse Üreteritis sistika Endometriyozis	Prostatit, Paraüretral abse
Metabolik ve diğer	Taş Travma Papiller nekroz Renal arter anevrizması	Retroperitoneal fibrozis Pelvik lipomatozis Aortik anevrizma Radyoterapi Lenfosel Travma Ürinom	Benign prostat hipertrofisi Nörojenik mesane

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Böbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tubuler nekroz ve böbrek damarlarında direnç artışıyla karakterizedir (30). İskemi sırasında küçük oranda serbest radikal oluşmaktaysa da, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikal oluşmakta ve bunlar da lipit peroksidasyona yol açarak hasarı arttırırlar (31). Lipid peroksidasyonu; hücre membranının akışkanlığının ve geçirgenliğinin değişimine neden olur. Sonuçta membran proteinleri de degrade olur ve tüm bu süreç reperfüzyon hasarı sonucunda oluşan hücre ölümüne yol açan önemli etkenlerden sayılmaktadır (32). Lipid peroksidasyonunun doku ve plazmadaki son ürünü MDA'dır ve yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda lipid peroksidasyonunun belirteci olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (10,33). Günümüzde iskemi-reperfüzyon hasarının azaltılmasına yönelik çalışmaların çoğu, serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi üzerine yoğunlaşmaktadır (34).

NİTRİK OKSİT

Nitrik oksit çok yönlü bir biyolojik haberci ve farklı biyolojik etkilere sahip kimyasal bir moleküldür. Başlangıçta güçlü bir vazodilatatör ve nörotransmitter ajan olarak tanımlanan NO'nun, yapılan çalışmalarla intraselüler ve ektraselüler olaylarda vücudun birçok organında farklı fonksiyonlarının olduğu ortaya çıkarılmıştır (35). NO Şekil 2'de gösterilen kimyasal olarak canlılarda sitokrom P–450 redüktaz homoloğu olan nitrik oksit sentetaz denilen enzim grubu tarafından organizmanın birçok hücresinde bulunan ve bir aminoasit olan L-arjininden sitrüllin oluşumu esnasında L-arjinin'in guanidin nitrojen grubunun hidroksilasyonu sonucu oluşan bir ara üründür (36,37).



Şekil 2. L arjinin nitrik oksit yolu

Nitrik Oksit'in Fizyolojik ve Patolojik Etkileri

Nitrik oksit'in etkisinin fizyolojik veya patolojik olmasının, sentezlenen ya da ortamda bulunan NO miktarı ve/veya sentez süresine bağlı olduğu bildirilmiştir (37). NO'nun

vazodilatasyon, nörotransmisyon, antitrombotik, antiinflamatuar, antioksidan, immunomodülasyon, damar geçirgenliğinin kontrolü, penil ereksiyon, barsak ve böbreklerde tuz ve su emilimi, iştah ve besin alımı, yara iyileşmesi, hafıza oluşumu, sinirsel aktivite, ağrının hafifletilmesi, hafıza ve öğrenme fonksiyonları, koku alma, görme, mide ve sindirim sistemi sfinkterlerinin gevşemesi gibi birçok olayda fizyolojik etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (37-39). NO serbest bir radikal olduğu için hücre membranlarını serbestçe geçebilmekte ve hücreler arası iletişimi sağlamaktadır. Diğer hücrelerarası haberci moleküllerden farklı olarak reseptörlere bağlanmaz, yarılanma ömrü kısa, etkileri geçici ve lokaldir (38). NO hücre içinde guanilat siklaz enzimini aktive ederek, kas kasılmasını sağlayan siklik guanozin monofosfat miktarını artırır. Böylece düz kas kasılması, kan akışı, damar genişlemesi, sinapslardan uyarı geçişi, trombositlerin yapışmasının engellenmesi, iyon kanallarının açılması ve kapanması gibi olaylar gerçekleşir (35). Normal fizyolojik olayların düzenlenmesinde görev alan NO'nun çeşitli yangısal olaylar ve hastalıklarda sentezi artmakta ve sonuçta doku hasarına neden olmaktadır. NO bu patolojik etkilerini, reaktif türlerin enzim inhibisyonlarına, deoksiribonukleikasit parçalanmalarına, zar lipidlerinin oksidatif yıkılmalarına ve hücresel antioksidanların tüketimine neden olarak oluşturur (39). NO'nun birçok doku ve organda mevcut olan düzenleyici etkileri: Platelet agregasyonunun inhibisyonu, renal ve intestinal görevleri, düz kasların gevşemesi, hücre adhezyonunun kontrolü, damar geçirgenliğindeki etkileri, immun sistemdeki fonksiyonlarıdır. Koruyucu etkileri: Antioksidan fonksiyonu, anti inflamatuvar etkileri, TNF toksisitesine karşı etkileridir. Zararlı etkileri ise antioksidanları tüketmesi, enzim inhibisyonu, deoksiribonukleikasit hasarları, lipid peroksidasyonu ve diğer toksik etkenlere duyarlılığı artırmasıdır (40).

Nitrik Oksit Sentetaz Enzimleri ve Özellikleri

NO sentezini katalizleyen nitrik oksit sentetaz enzimlerinin yapısal veya konstitütif NOS ve iNOS olmak üzere iki temel izoenzimi bulunmaktadır (38).

Konstitütif nitrik oksit sentaz: Bu izoenzim özellikle damar endotel hücreleri, idrar yolu hücreleri, santral ve periferal sinir sistemi hücreleri, endokard, miyokard, trombosit, mast hücreleri ve nötrofillerde bulunmaktadır. Aktif hale gelebilmesi için kalsiyuma ihtiyaç duyar. Enzimin kalsiyum-kalmodulin ile aktive olması nedeniyle kalsiyuma bağımlı NOS veya konstitütif NOS olarak adlandırılır (39).

Endotelial nitrik oksit sentaz: Kalsiyum bağımlı izoenzimdir**.** Nitrik oksit sentezi damarlarda başlıca "shear stres" ile tetiklenir. Bu fenomen, kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endoteli yüzeyinde oluşturduğu mekanik etki olarak ifade edilebilir. Endotel hücreleri bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanırken hücre iskeleti aracılığı ile hücre içine sinyaller gönderir. Bunun sonucunda Protein Kinaz G aktive edilerek eNOS'u fosforile eder. Fosforilasyon, bu enzimin aktivasyonuna neden olur. Sonuçta, endotel hücresinden sürekli NO üretilir. İlginç olarak bu şekilde NO üretimi için Ca^{2+}'a gerek yoktur, eNOS'un fosforile edilerek aktive edilmesi yeterlidir. Diğer taraftan hücre içi Ca^{2+} düzeylerini arttıran bileşikler de vasküler endotelyumda fosfolipaz C enzimi üzerinden Ca^{2+}'a bağımlı bir enzim olan eNOS enzimini aktive ederler (40).

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz: iNOS enzimi özellikle makrofaj, nötrofil, hepatosit, monosit, damar endotel ile düz kas hücreleri, kalp kası hücreleri, nöronlar ve mikroglial hücrelerden sentezlenmektedir. Diğerlerinin aksine hücre içinde bulunmayan iNOS, endotoksin ve çeşitli sitokinlerden interlökin-1, tümör nekrozis faktör alfa, interferon alfa tarafından indüklenen ve indüklendiğinde daha uzun sürede ve büyük miktarlarda NO üreten, kalsiyumdan bağımsız bir enzimdir. Enzim bu özelliklerden dolayı indüklenebilir veya kalsiyumdan bağımsız nitrik oksit sentaz olarak adlandırılır. iNOS kofaktör olarak kalmodulin yerine tetrahidrobiopterine gereksinim duyar (39). Southan ve ark. (41) nitrik oksit sentaz inhibitörlerini temsil eden yeni bir sınıfı tarihe rapor etmiştir. Tiyoüre türevleri son derece güçlü NO sentaz inhibitörleri olarak tespit edilmiştir. Bu sınıfın etil-tiyoüre, izopropil-tiyoüre eNOS için güçlü inhibitör, iNOS izoforma hafif seçici inhibitör iken SMT ve aminoetil-tiyoüre iNOS aktivitesinin oldukça seçici inhibitörleridir. Bu bileşiklerin SMT gibi bazıları ile iNOS selektif inhibisyonu da in vitro olarak gösterilmiştir. Bu son ajanlar çeşitli hastalık modellerinde iNOS rolünü incelemek için faydalı bir araç olabilir. Septik şok, dolaşımsal şok ya da kanser gibi iNOS indüksiyonu ile ilişkili hastalıkların tedavisinde yararlı olabilir (41).

Nitrik Oksit ve Böbrekler

Nitrik oksit'in böbrek dokusunda önemli görevlere sahip olduğu bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde arjinin aminoasidinden sentezlenen NO'nun böbrek fizyolojisi ve patolojisinde önemli rolleri olduğu ortaya çıkarılmıştır (40,42,43). Yapılan hücresel çalışmalarda NO'nun mitokondrial solunum, membran transportu ve

hücresel enerji basamaklarında görevli olduğu, glomerüler hemodinamiğin düzenlenmesi, tubuler transport ve tubuloglomerüler geri emilimde rol oynadığı bildirilmiştir (43). Ayrıca NO'nun böbrek otoregülasyonu, tubuloglomerüler feedback, renin salınması, basınca bağlı sodyum geri çıkarılması, afferent ve efferent arterlerin tonusunun düzenlenmesi, tubul işlevlerinin düzenlenmesi, tubullerde elektrolit ve su transportu, böbrekte kan basıncının düzenlenmesi, proksimal tubullerde sodyum, bikarbonat ve suyun geri emiliminin uyarılması ve idrar hacmi üzerine etki yaptığı bildirilmiştir (44). Böbrek NO miktarlarında meydana gelen azalmaların renal hasarın ilerlemesinde önemli etkilerinin olduğu, NOS inhibisyonunun ise hipertansiyon ve sodyum retansiyonuna yol açtığı bildirilmektedir (43). NO böbrek dokusunda vazodilatasyona yol açarak renal kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını artırır, nefron boyunca sodyum transportunu azaltır, jukstaglomerüler apparatus ve tubuloglomerüler feedback yoluyla renin salınmasını düzenler. NO'nun afferent arterioller üzerindeki güçlü vazodilatatör etkisini anjiotensin II'nin vazokonstruktif etkilerini antagonize ederek oluşturduğu belirtilmektedir (37,44). Yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda böbrekte nitrik oksit sentetaz izoenzimlerinin her üç formunun da bulunduğu ortaya çıkarılmıştır. Bunlardan eNOS renal damarlarda, glomerüler endotelyal hücrelerde, proksimal tubuler hücrelerinde, henle kulpunun çıkan kalın kolunda ve toplayıcı kanallarda, nöronal nitrik oksit sentaz'ın ise makula densa, toplayıcı kanalın prinsipal hücreleri ve renal pelvik sinirlerde bulunduğu tespit edilmiştir. iNOS ise proksimal tubullerde, distal tubullerde ve toplayıcı kanallardaki hücrelerde, kısaca makula densa ve damarlar hariç genel olarak geniş bir alanda bulunmaktadır (37,45).

NÜKLEER FAKTÖR KAPPA-B

Nükleer faktör kappa B iNOS, siklooksijenaz 2 gibi inflamatuar genlerin üretiminden sorumlu olan redoks-duyarlı transkripsiyon faktörüdür (46). Makrofajlar, T hücreleri ve diğer hücreler tarafından üretilen proinflamatuar sitokinler hedef hücreler üzerindeki etkilerini NF-kB'nin aktivasyonu ile gösterirler (47,48). Lökosit, vasküler endotel ve düz kas hücreleri, kardiyomyositler ve fibroblast gibi hücreler proinflamatuar sitokinlere NF-kB aktivasyonu ile yanıt verirler (48,49). NF-kB yolağı patolojik süreçlerde rol alır ve hücre ölüm yolaklarını aktive etmektedir. Endotoksemide akut ve güçlü NF-kB aktivasyonu gerçekten permeabilite bozukluğu ve dissemine koagülasyon ile geniş endotelial hücre hasarına yol açmaktadır (50). Tümör nekrozis faktör-α apopitozise neden olur ve bu NF-kB aktivasyonu ile sıklıkla paralel seyreder (51). İlginç olarak NF-kB inhibisyonu bu deneysel modellerde hücre ölümünü

azaltmamış bilakis arttırmıştır (52). NF-kB'nin sağ kalım etkisi antiapopitotik faktörlerin indüklenmesi ile olmaktadır (53,54). Farklı deney modelleri ile yapılan çalışmalar NF-kB'nin hücreleri ölümden koruduğunu desteklemektedir. Örneğin; NF-kB'nin alt ünitelerinden birinin kaybı iskemi-reperfüzyon modelinde hücre ölümünü azaltmaktadır (55). NF-kB neden hem sağ kalım hem de ölüm yolaklarını/moleküllerini indüklemektedir. İnflamatuar programa aracılık eden NF-kB aktivasyonu toksik molekülleri açığa çıkarmakta ve bu toksik moleküller konakçı hücreye zarar vermeden invaziv mikroorganizmaların ölümüne yol açmaktadırlar. NF-kB tarafından indüklenen potansiyel olarak tehlikeli enzimlerden metalloproteinaz–9 ve NO sentetazın sitokinlere yanıt veren hücrelerde koruma sağladıkları gösterilmiştir (56,57). Ek olarak iNOS'un NF-kB aracılı ekspresyonu masif miktarlarda NO salıverilmesine bağlı olarak inhibitör kappa kinaz ekspresyonunda artışa neden olmakta (58), bu da sağ kalımda olduğu gibi ölümde de yer alan sitokin programlarını durdurmaktadır (59).

HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ

Medikal bir tedavi yöntemi olan HBO Tedavisi, kapalı bir sistem içinde deniz seviyesindeki atmosferik basınçtan (1 ATA [atmosphere absolute] = 760 mmHg) daha fazla bir basınçta, aralıklı %100 oksijen solutulması ile uygulanan bir tedavi seklidir (60).

Tarihçe

Hiperbarik tedavi ilk kez 1662 yılında Henshaw tarafından yapılan ilk basınç tankının yapılması ile uygulanmıştır. 1887 yılına kadar basınç tankları bilimsel bir dayanağı olmasa da pek çok hastalığın tedavisi amacı ile kullanılmıştır (61,62). Brezilya'da 1930'lu yıllarda çalışmalar yapan De Almeida'nın radyoterapi ve gazlı gangren ile HBO ilişkisi üzerine çalışmaları bulunmaktadır. 1950'lerin sonlarında ise kan gaz analizi ve gaz değişimi fizyolojisinin daha iyi anlaşılmasıyla, HBO tedavisi modern klinik kullanıma girmiştir. 1961 yılında Boereme ve Brummelkamp'ın HBO'yu gazlı gangrenli bir hastada kullanmaları ile klinik uygulamaya geçmiş ve 1963 yılında Amsterdam'da ilk uluslararası HBO toplantısı yapılmıştır. 1970'lerin sonunda "Undersea and Hyperbaric Medical Society" (UHMS) HBO tedavisinin temel kural ve prensiplerini yayınlanmıştır. Tüm bunların sonucunda, HBO tedavisi'nin endikasyonları ve tıp alanındaki yeri daha kesin sınırlarla belirlenmiştir (63). Son 20-30 yıldır, çok çeşitli akut ya da kronik bozuklukların tedavisinde primer tedavi yöntemi veya diğer tedavilere yardımcı olarak kullanılmaktadır (64). Avrupa'da kurulan "European Committee of Hyperbaric Medicine" (ECHM) 1994'te ilk konsensus bildirisini yayınlamıştır.

Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Fizyolojik Temelleri

Hiperbarik oksijen tedavisinin temeli hiperoksinin fizyolojik ve biyokimyasal etkilerine ve gaz kanunlarına dayanır. Boyle-Mariotte yasasına göre, sabit bir ısıda, bir gazın hacim ve basıncı birbiriyle ters orantılıdır (65,66). Başka bir deyişle, belirli bir ısıdaki gazın basıncı ile hacminin çarpımı daima sabittir. Dalton kanunu, bir karışım içerisinde bulunan her gazın karışım içerisindeki miktarı oranında bir basınç meydana getireceğini ortaya koyar (67). Henry yasası ise; sabit bir ısıda, bir sıvı içinde ya da dokuda çözünmüş olan gaz miktarının, sıvının ya da dokunun temasta olduğu gazın parsiyel basıncıyla doğru orantılı olduğunu belirtir (68). Bu HBO tedavisi sırasında oluşan artmış doku oksijen düzeyinin nedenidir. Bununla birlikte bu kanun, basınç altında normal hava soluyan kişilerde oksijen dışındaki inert gazların özellikle de azotun kanda yüksek oranda çözünmesine neden olur. Basınç altında kanda çözünmüş halde bulunan bu nitrojen dekompresyon esnasında hava kabarcıkları oluşturarak hava embolilerine neden olur (67).

Kanda taşınan oksijenin büyük çoğunluğu hemoglobine bağlı olarak taşınır. Normal atmosfer şartlarında hemoglobin %97 oranında doymuş halde bulunur. Bununla birlikte bir miktar oksijen de plazmada çözünmüş olarak taşınır. HBO tedavisi esnasında çözünmüş halde bulunan bu oksijenin miktarı artarak doku oksijenlenmesinde artış sağlanır. Normal basınçlı hava solunduğunda, kandaki oksijen basıncı 100 mmHg, dokudaki oksijen basıncı ise 55 mmHg civarındadır. Üç ATA basınç altında %100 oksijen solunduğunda ise kan oksijen basıncı 2000 mmHg'ya, doku oksijen basıncı 500 mmHg'ya yükselir (68). Normal basınçta 1 litre kanda 3 ml oksijen taşınabilirken bu şartlarda 60 ml oksijen taşınabilir ve bu sayede istirahat halindeki dokulara hemoglobin ile yarışmaya girmeden oksijen ihtiyacını karşılama olanağı sağlar (69,70).

Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Endikasyonları

Ülkemizde HBO tedavisi endikasyonları İstanbul Tıp Fakültesi Sualtı Hekimliği ve Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı ve uzmanlık derneği olan Sualtı ve Hiperbarik Tıp Derneği'nin ortak çalışmaları ile UHMS ve ECHM endikasyon listeleri dikkate alınarak hazırlanmıştır. Aşağıda görülen bu liste Sağlık bakanlığı tarafından 2001 yılında yürürlüğe konulan "Hiperbarik Oksijen Tedavisi Uygulanan Özel Sağlık Kuruluşları Hakkında Yönetmelik" de yer almaktadır (71).

Türkiye'de hiberbarik oksijen tedavisi endikasyonları:

1. Dekompresyon hastalığı, hava ve gaz embolisi, karbonmonoksit, siyanid zehirlenmesi, duman inhalasyonu, istisnai kan kaybı (kan transfüzyonu yapılamıyor ise).

2. Gazlı gangren, yumuşak dokunun nekrotizan infeksiyonları (deri altı, kas, fasya).

3. Ezilme yaralanması, kompartman sendromu, akut travmatik periferik iskemiler.

4. Yara iyileşmesinin geciktiği arteriyel ve venöz yetmezlik yaraları, kronik refrakter osteomyelit, kafa kemikleri, sternum ve vertebraların akut osteomyelitleri.

5. Radyonekroz, riskli deri greft ve flepleri (operasyon öncesinde ve sonrasında).

6. Termal yanıklar (ikinci derece ve özellikle yüz, el ve ayaklardaki yanıklarda).

7. Beyin apsesi, anoksik ansefalopati, ani işitme ve görme kaybı (71).

"Undersea and hyperbaric medicine" tarafından belirlenen hiberbarik oksijen tedavisi endikasyon listesi:

1. Hava veya gaz embolisi, karbondioksit intoksikasyonu/ siyanür intoksikasyonu.

2. Gazlı gangren, akut travmatik iskemiler, dekompresyon hastalığı.

3. Seçilmiş problemli yaralarda yara iyileşmesine destek, aşırı kan kaybı (anemi).

4. İntrakranial abse, nekrotizan yumuşak doku infeksiyonları, osteomyelit (dirençli).

5. Geç radyasyon hasarı, tutması şüpheli greftler ve flepler, termal yanıklar (72).

Hiperbarik Oksijen Tedavisinin Kontrendikasyonları

Kesin Kontrendikasyon: Göğüs tüpü yerleştirilerek tedavi edilmemiş olan pnömotoraks (73).

Göreceli Kontrendikasyon: Üst solunum yolu enfeksiyonları, akciğer grafisinde asemptomatik pulmoner lezyonun varlığı, geçirilmiş göğüs veya kulak ameliyatı hikayesinin bulunması, bayılma ve bilinç kaybı nöbeti hikayesi ile gelen hastalar, malignite varlığı, hamilelik, optik nörit. Bu listede yer almayan konjestif kalp yetmezligi, herediter sferositoz gibi hastalıkların da rölatif kontrendikasyonlar içinde yer aldıkları düşünülmektedir (73).

Hiperbarik Oksijen Tedavisi Yan Etkileri

Hiperbarik oksijen tedavisinin en sık karşılaşılan komplikasyonu basınç artışı sırasında dış ortam basıncı ile iç basıncının eşitlenememesi sonucu oluşan barotravmadır. Bunların arasında da en sık orta kulak barotravması görülür. Barotravmadan korunma amacı ile hastalara eşitleme eğitimi verilmelidir. Yine benzer şekilde paranasal sinüs

barotravmaları, dolgu altında hava kalıp dental barotravmalar oluşabilir. Barotravmalar arasında sık görülmemesine rağmen en tehlikelisi pulmoner barotravmadır. Genel olarak bakıldığında en tehlikeli olabilecek yan etki ise oksijen toksisitesidir. Bunun da daha önce belirtildiği gibi, uygun basınç ve sürelerde tedavi uygulanarak önüne geçilebilir. Ayrıca geçici miyopi, kıllanmada artış gibi yan etkiler de görülebilir. Endotrakeal tüp ve buna benzer balonlu aletler iyi gözlenmeli ve balonlara hava yerine serum fizyolojik doldurulmalıdır (73).

GEREÇ VE YÖNTEM

HİDRONEFROZ MODELİ

Araştırmamızın yöntemi; HBO tedavisi uygulanan tek taraflı üreter obstrüksiyonu oluşturularak istenen hidronefroz modeli ile sıçanlarda NO'nun rolü'nün immunohistokimyasal metodlarla alınan dokularda; MDA miktarlarına bakılması, dokuların ışık mikroskobu incelemesi için HE ile boyanması, dokuların immunohistokimyasal metodlardan iNOS ve NF-kβ parametreleri üzerinden açıklamaktı.

Bu çalışmanın cerrahi işlemi, HBO tedavisi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarları'nda, Mikroskobik incelemeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD Laboratuvarı'nda, biyokimyasal doku MDA düzeyi Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD Laboratuvarı'nda yapıldı. Çalışmada kullanılan deney hayvanlarına uygulanan tüm işlemlerde etik kurallar dikkate alındı (Ek 1).

DENEY HAYVANLARI

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarları'nda üretilmiş; beş grupta, onar adet olmak üzere toplam 50 adet dişi Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. Her gruptaki 10 – 12 haftalık ratların ağırlıkları 140-190 gram arasında değişmekteydi. Deney hayvanları Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Birimi'nden sağlandı. Sıçanlar deney sonuna kadar 10'arlı kafeslerde, standart laboratuar koşullarında (22±1 °C ısı, %55 nem, 12 saat aydınlık/karanlık siklusu) Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarları'nda tutuldu.

Hayvanların beslenmesinde standart pellet yemi ve şehir içme suyu kullanıldı. Deney süresince sıçanlar kafeslerde bulunduruldu.

Gruplar

Sham grubu (Grup 1): Sol üreter mobilizasyonu, HBO tedavisi alan grup (n=10).

Hidronefroz grubu (Grup 2): Sol üreter obstrüksiyonu yapılan grup (n=10).

HBO grubu (Grup 3): Sol üreter obstrüksiyonu, HBO tedavisi alan grup. (n=10).

Arjinin grubu (Grup 4): Sol üreter obstrüksiyonu, L-arjinin ve HBO tedavisi alan grup (n=10).

SMT grubu (Grup 5): Sol üreter obstrüksiyonu, SMT ve HBO tedavisi alan grup (n=10).

ANESTEZİ

Gruptaki hayvanlara 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Türkiye), 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) kas içine verilerek genel anestezi sağlandı.

CERRAHİ İŞLEM

Sıçanlar tespit tahtalarına supine pozisyonunda yerleştirildi. Karın ön duvarı cildi önce PVD iyodin (Batticon st solüsyon Adeka-Samsun) ile sterilize edildikten sonra tıraşlandı. Cilt traşından sonra tekrar PVD iyodin ile sterilizasyon sağlandı. Yalnızca insizyon uygulanacak saha açık kalacak şekilde steril olarak örtülerek, steril aletler kullanılarak orta hat insizyonu ile laparatomi yapılarak karın boşluğuna girildi. Grup 1 dışındaki deneklerin sol üreterleri Şekil 1'de gösterildiği gibi askıya alınarak bağlandı. .

Gruplar

Grup 1: Sol Üreter bağlanmadan mobilize edilen ve HBO tedavisi alan grup. Laparatomi kesisi atravmatik 4/0 ipek dikişle kapatıldı. Deney süresince sıçanlar kafeslerde bulunduruldu.

Grup 2: Sadece sol üreter obstrüksiyonu yapılan grup: Sol üreter 4/0 serbest ipek ile bağlandı. Laparatomi kesisi atravmatik 4/0 ipek dikişle kapatıldı. Deney süresince sıçanlar kafeslerde bulunduruldu.

Grup 3: Sol üreter obstrüksiyonu ve HBO tedavisi alan grup: Sol üreter 4/0 serbest ipek ile bağlandı. Laparatomi kesisi atravmatik 4/0 ipek dikişle kapatıldı. Deney süresince sıçanlar kafeslerde bulunduruldu.

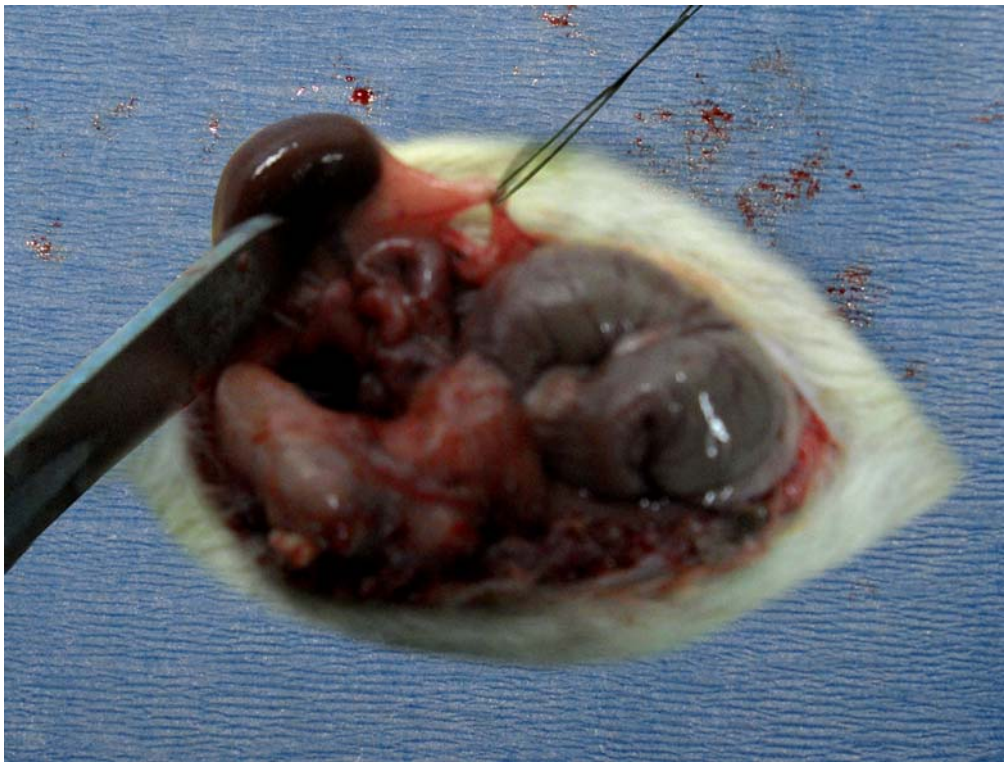
Grup 4: Sol üreter obstrüksiyonu, arjinin ve HBO tedavisi alan grup: Sol üreter 4/0 serbest ipek ile bağlandı. Laparatomi kesisi atravmatik 4/0 ipek dikişle kapatıldı. 21 gün boyunca arjinin monohidroklrorid 10 g/l içme suyuna konularak verildi. Deney süresince sıçanlar kafeslerde bulunduruldu.

Grup 5: Sol üreter obstrüksiyonu, SMT ve HBO tedavisi alan grup: Sol üreter 4/0 serbest ipek ile bağlandı. Laparatomi kesisi atravmatik 4/0 ipek dikişle kapatıldı. 21 gün boyunca SMT 20 mg/kg/doz intramuskuler yapıldı. Deney süresince sıçanlar kafeslerde bulunduruldu. Grup 1, grup 3, grup 4 ve grup 5 günde 1 kez olacak şekilde 21 gün HBO tedavisi uygulandı.

Deneyden sonra ki 21. günde sıçanlara 10 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer, Türkiye), 50 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) kas içine verilerek genel anestezi altında laparotomi ve sol nefrektomi yapıldı. Sol nefrektomi sonrasında ratların kan kaybından ölmesi sağlandı. Şekil 2'de gösterilen sağ normal sol hidronefrotik böbrekler serum fizyolojik ile yıkanarak yüzeyel temizlikleri yapıldı. Sol böbreklerden alınan doku örnekleri %10' luk formaldehit içinde tespit edilerek immunohistokimyasal incelemeler için saklandı. Sol böbreklerin geri kalan kısımları ise biyokimyasal tetkikler için aliminyum folyoya sarılarak -78 °C'de saklandı.

HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ

Tedavi, operasyonun hemen ardından 1. saatte başlatıldı. Grup 1, grup 3, grup 4 ve grup 5 günde 1 kez olacak şekilde 21 gün süre ile uygulandı. 21 seans sonunda tedavi sonlandırılarak hayvanlar sakrifiye edildi. Tedaviler 2.4 ATA basınçta ve her biri 60 dakika sürecek olan seanslar halinde uygulandı. Tedavi öncesinde kabin 5 dakika süre ile %100 oksijen ile yıkandı, ardından 5 dakikada istenen tedavi derinliğine ulaşıldı. 2.4 atmosfer basınçta 60 dakika süre ile tedavi uygulandı, dekompresyon ise 5 dakikada sağlandı. Toplam 70 dakikada tedavi sonlanmış oldu. HBO tedavisi deney hayvanları için özel olarak yapılmış Tablo 2'de teknik özellikleri verilmiş, Şekil 5'de modeli gösterilen Hipertech marka, ht an_01 model arge kabini içinde gerçekleştirildi.



Şekil 3. Askıya alınmış sol üreterin görünümü



Şekil 4. Normal sağ, hidronefrotik sol böbreğin makroskopik görünümü

Tablo 2. Hipertech marka, ht an_01 model arge kabini teknik özellikleri

Çalışma Basıncı	3,0 ATA
Test Basıncı	4,5 ATA
Akrilik	Yatay, Tamamı Akrilik Pencere
İç Çap	25 cm
Toplam Uzunluk	60 cm
Kapı	22.5 cm (Çap)
Çelik Malzeme	Sertifikalı Basınçlı Kap Çeliği
İhtiyaç Duyulan Kaynak Basıncı	3,5 - 10 Bar
Ventilasyon Oranı	0 – 10 Scfh
İç Taban	316 Paslanmaz Çelik
Çektirme Saplamaları	316 Paslanmaz Çelik
Çektirme Saplama Somunları	316 Paslanmaz Çelik
Sertifika	CE (opsiyonel)

Scfh: "Standard cubic feet per hour"; **CE:** "Conformite European"; **ATA:** "Atmosphere absolute".



Şekil 5. Basınç odası; hipertech marka, ht an_01 model arge kabini

IŞIK MİKROSKOPİK İNCELEME

Işık mikroskobik incelemeler için böbrek dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında işlemlendirildi. Bu amaçla böbrek dokuları Bouin fiksatöründe 4 gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Dokular 2 gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçildi. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) 1'er saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün böbrek dokuları yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak, bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak 6 μm (mikrometre) kalınlığındaki kesitler alındı. Böbrek dokusunun genel özelliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler HE ile boyandı.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

İmmünohistokimyasal inceleme için böbrek dokusundan 6 μm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrival içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatıldı. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler PBS ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Häen 24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit ile 20 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler Fosfat Buffer Solusyonu (PBS; pH 7.6) ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikorlar, tavşan polyclonal iNOS antikoru (iNOS antibody (ab15323), ABD) ve tavşan polyclonal NFkB p65 antikoru (NFkB p65 antibody - ChIP Grade (ab7970), ABD) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino 9 etil karbazol (AEC) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision,

TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alındı. Işık mikroskobunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek, bulguların fotoğrafları çekildi.

Tüm gruplar arasındaki iNOS ve NFkB p65 immunreaktivitelerinin yoğunluğu semikantitatif olarak saptandı (Tablo 3). Semikantitatif değerlendirme, aşağıdaki biçimde yapıldı; yok (-), zayıf (±), hafif (+), orta (++), güçlü (+++).

BİYOKİMYASAL İNCELEME

Malonildialdehid Düzey Ölçümü

Böbrek dokusu alındıktan sonra soğuk serum fizyolojikle yıkanmış ve inceleme gününe kadar – 70 ºC de derin dondurucuda saklanmıştır. Daha sonra 200 mg yaş doku ve 1.8 ml Phosphate Buffered Saline (PBS, pH 7.4) içinde (1/9; ağırlık/volüm) + 4 ºC'de teflon uçlu homojenizatör kullanılarak (IKA Ultra Turrax T 8, IKA Labortechnic, Staufen, Germany) 16 000 rpm'de 3 dakika homojenize edildi. Bu karışım 4000 g'de 20 dakika + 4 ºC de santrifüj edilmiştir. Süpernatant ayrılarak doku proteini MDA deneyi için kullanılmış, doku proteini Lowry metodu ile ölçülmüştür (74). Dokuda MDA düzeyi tiobarbitürik asit kaynatmalı metodu kullanılarak ölçülmüştür. Triklorasetik asit ile presipite edilen örneklere tiobarbitürik asit ve n-butanol eklenerek 532 nm'de spektrofotometrik olarak (Digilab Hitachi U-2800, Hitachi High-Technologies, Tokyo, Japan) analiz edilmiş, sonuçlar μmol MDA/mg yaş doku ağırlığı olarak verilmiştir (75).

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analizler SPSS 11.0 programı ile gerçekleştirildi. Tüm veriler ortalama (±) standart sapma (S.D.) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki sonuçların farklılıkları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p<0.05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

IŞIK MİKROSKOPİK BULGULAR

Hematoksilen-Eozin İle Yapılan Değerlendirme

Çalışmamızda; Grup 1'deki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubullerin normal yapıda olduğu gözlendi (Şekil 6).

Grup 2'deki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubullerde belirgin bir dilatasyon vardı. Aşırı genişleme sonucu bazı tubullerde hücrelerin normal şekillerini kaybettiği ve yassı hücre haline dönüştüğü izlendi. Proksimal tubul hücrelerinin sitoplazma yoğunluğunu kaybettiği, yer yer lümen içerisine döküldükleri, tubul duvarında kalanların ise fırçamsı kenar yapılarının bozulduğu gözlendi. Bu nedenle proksimal ve distal tubulusların ayırt edilemediği dikkati çekti. Bazı glomerüller normal yapısını korurken, bazılarında da büzüşme ile birlikte kayıplar mevcuttu. Ayrıca aşırı lökosit infiltrasyonu sonucu yer yer kümeler oluştuğu ve interstisyumda yoğun bağ dokusu artışı da görüldü (Şekil 7).

Grup 3'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; obstrüksiyon grubuna benzer özellikte bulgulara rastlandı. Ayrıca lökosit infiltrasyonundaki azalmaya rağmen nadiren de olsa lökosit kümeleri gözlendi (Şekil 8).

Grup 4'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; obstrüksiyon grubuna benzer özellikte bulgulara rastlandı. Ayrıca lökosit infiltrasyonundaki azalmayla birlikte lökosit kümelerinin büyük ölçüde kaybolduğu görüldü (Şekil 9).

Grup 5'teki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; obstrüksiyon grubuna benzer özellikte bulgulara rastlandı. Ayrıca lökosit infiltrasyonunda ise diğer gruplara göre belirgin bir azalış izlendi (Şekil 10, Tablo 3).

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR

İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz

Çalışmamızda; Grup 1'deki sıçanların böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubuller ve damarlar etrafında çok az sayıda iNOS pozitif hücreler görüldü (Şekil 11).

Grup 2'deki sıçanların böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubuller ve damarlar etrafında çok fazla sayıda iNOS pozitif hücrelerin kümeler meydana getirdiği gözlendi (Şekil 12).

Grup 3'teki sıçanların böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubuller ve damarlar etrafındaki iNOS pozitif hücrelerin sayısında belirgin bir azalma görüldü (Şekil 13).

Grup 4'teki sıçanların böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubuller ve damarlar etrafında deney grubundaki gibi çok fazla sayıda iNOS pozitif hücrelerin kümeler oluşturduğu gözlendi (Şekil 14).

Grup 5'teki sıçanların böbrek kesitleri ışık mikroskobunda incelendiğinde; tubuller ve damarlar etrafındaki iNOS pozitif hücrelerin sayısında deney ve diğer tedavi gruplarına göre belirgin bir azalmanın olduğu görüldü (Şekil 15, Tablo 3).

Nükleer Faktör Kappa B-p65

Grup 1'deki sıçanların böbrekler kesitlerinde yapılan incelemelerde; bazı tubul epitel hücrelerinin sitoplazmalarındaki NFkB p65 immünreaktivitesinin oldukça zayıf olduğu görüldü (Şekil 16).

Grup 2'deki sıçanların böbrekler kesitlerinde yapılan incelemelerde; bazı tubul epitel hücrelerinin sitoplazmalarındaki NFkB p65 immünreaktivitesinin oldukça belirgin olduğu saptandı (Şekil 17).

Grup 3'teki sıçanların böbrekler kesitlerinde yapılan incelemelerde; bazı tubul epitel hücrelerinin sitoplazmalarındaki NFkB p65 immünreaktivitesinin kontrol hidronefroz grubuna göre azaldığı tespit edildi (Şekil 18).

Grup 4'teki sıçanların böbrekler kesitlerinde yapılan incelemelerde; bazı tubul epitel hücrelerinin sitoplazmalarındaki NFkB p65 immünreaktivitesinin HBO grubuyla aynı olduğu görüldü (Şekil 19).

Grup 5'teki sıçanların böbrekler kesitlerinde yapılan incelemelerde; bazı tubul epitel hücrelerinin sitoplazmalarındaki NFkB p65 immünreaktivitesinde deney ve diğer tedavi gruplarına göre belirgin bir azalmanın olduğu gözlendi (Şekil 20 ve Tablo 3).

BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tüm grupların böbrek dokularında saptanan MDA düzeyleri Tablo 2'de görülmektedir. Grupların ortalama böbrek doku MDA değerleri şu şekilde ölçüldü: Grup 1; 1.41µmol/g protein, grup 2; 1.94 µmol/g protein, grup 3; 1.73 µmol/g protein, grup 4; 1.62 µmol/g protein, grup 5; 1.51 µmol/g protein olarak ölçüldü.

Gruplar böbrek doku MDA değerleri açısından karşılaştırıldığında; grup 2'de grup 1'e göre yükselme, grup 3, grup 4 ve grup 5'te grup 2'ye göre düşme, grup 1'e göre de yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4).

Tablo 3. Grup 1 ve diğer gruplar arasındaki lökosit infiltrasyonu, indüklenebilir nitrik oksit sentaz ve nükleer faktör kappa B immunreaktivitelerinin semikantitatif olarak değerlendirmesi

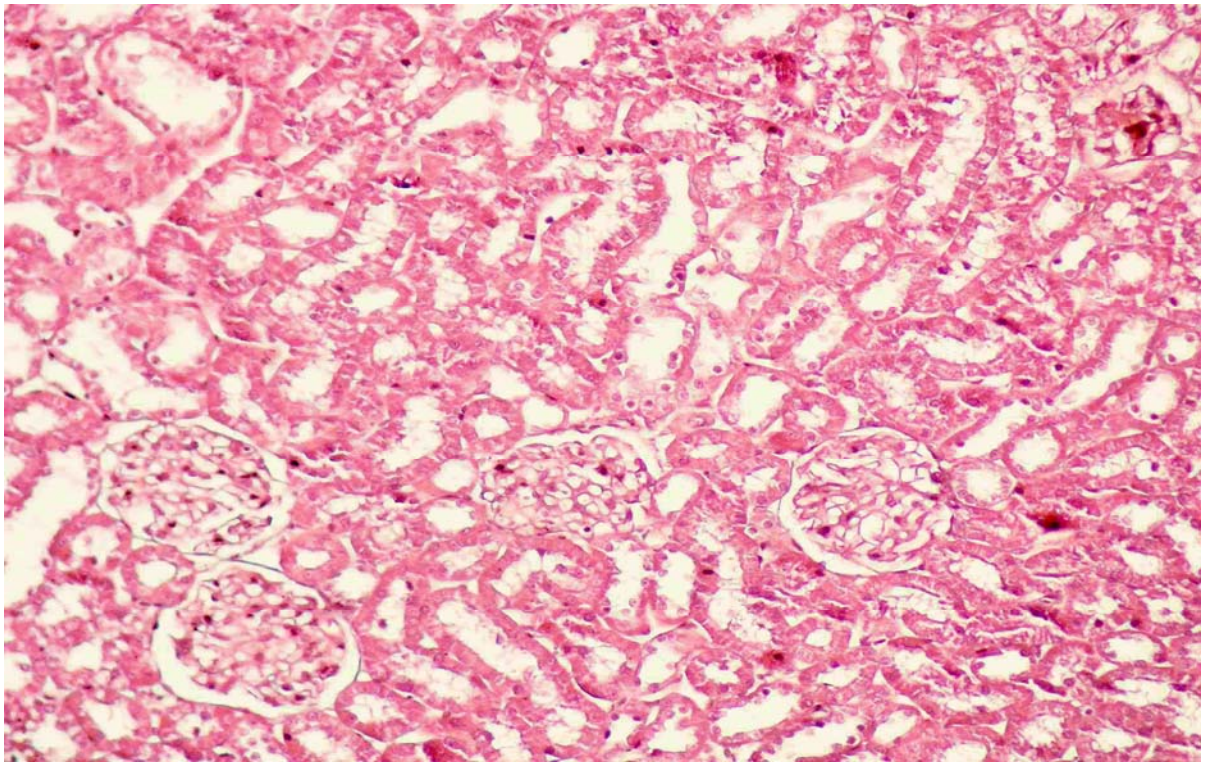
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
Lökosit İnfiltrasyonu	-	+++	++±	++	+
İnos	±	+++	++	+++	+
NFkB p65	±	+++	++	++	+

İnos: İndüklenebilir nitrik oksit sentaz; **NFkB p65:** Nükleer faktör kappa B.
Hücre sayısı: yok (-), nadir (±), az(+), orta (++), fazla (+++).

Tablo 4. Grup 1 ve diğer gruplar arasında böbrek doku malondialdehit düzeylerinin karşılaştırılması

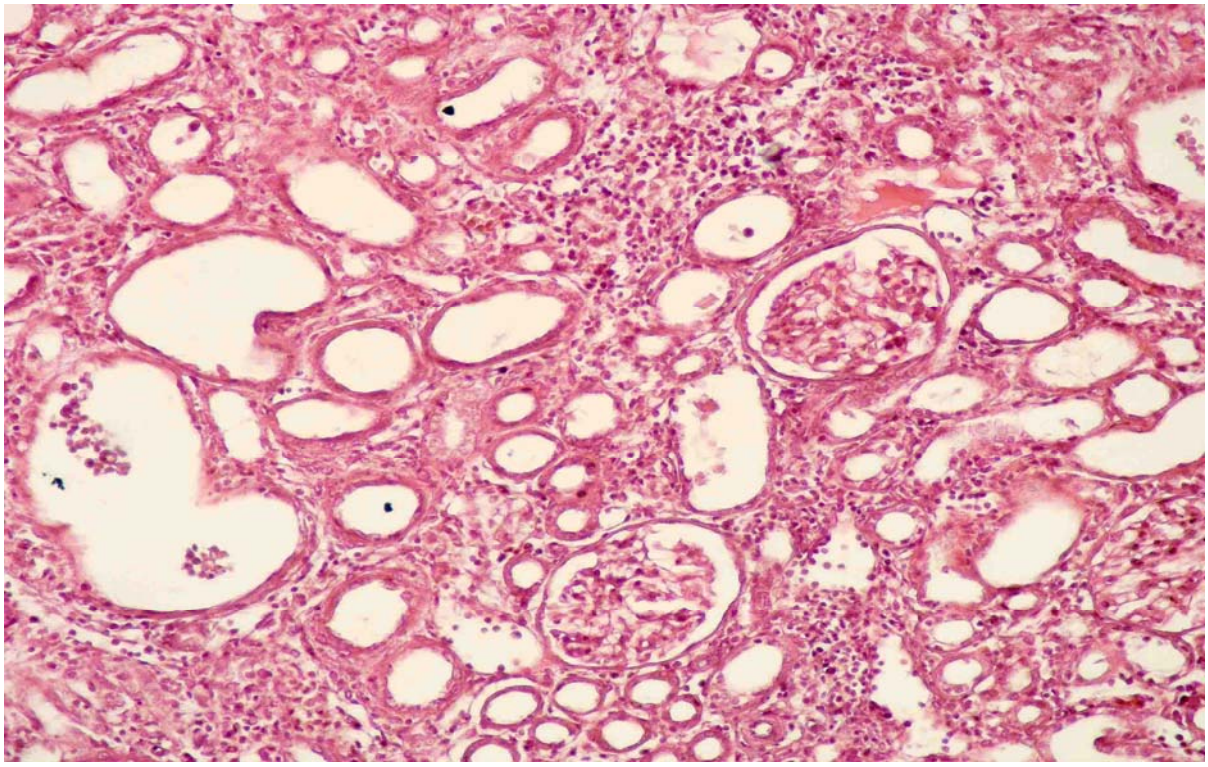
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5
MDA	1.41±0.07	1.94±0.016[a]	1.73±0.014[b]	1.62±0.013[c]	1.51±0.012[d]

MDA: Malondialdehit.
[a] $P \leq 0.0001$ grup 1 ile karşılaştırıldığında.
[b] $P \leq 0.001$ grup 1 ile karşılaştırıldığında, [b] $P \leq 0.01$ Grup 2 ile karşılaştırıldığında.
[c] $P \leq 0.01$ grup 1 ile karşılaştırıldığında, [c] $P \leq 0.001$ Grup 2 ile karşılaştırıldığında.
[d] $P \leq 0.05$ grup 1 ile karşılaştırıldığında, [d] $P \leq 0.0001$ Grup 2 ile karşılaştırıldığında.



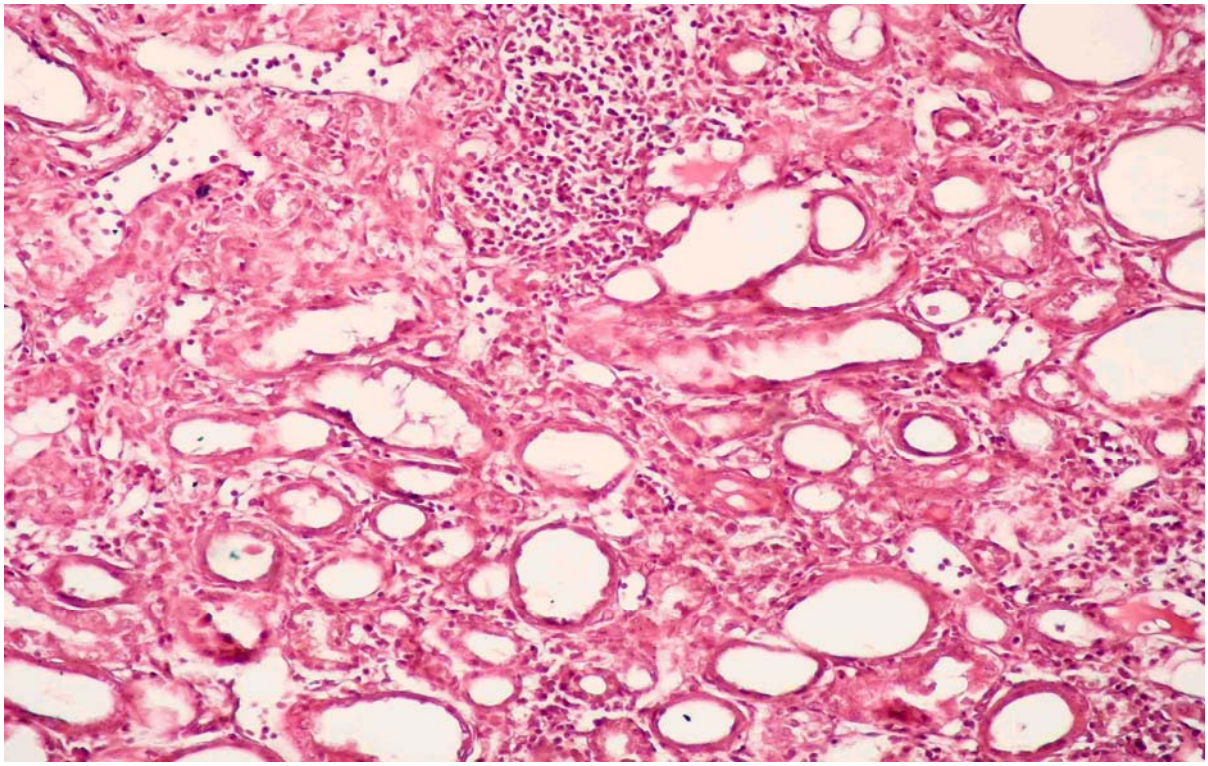
Hematoksilen-eozin X 400.

Şekil 6. Grup 1'e ait böbreğinin histolojik görünümü



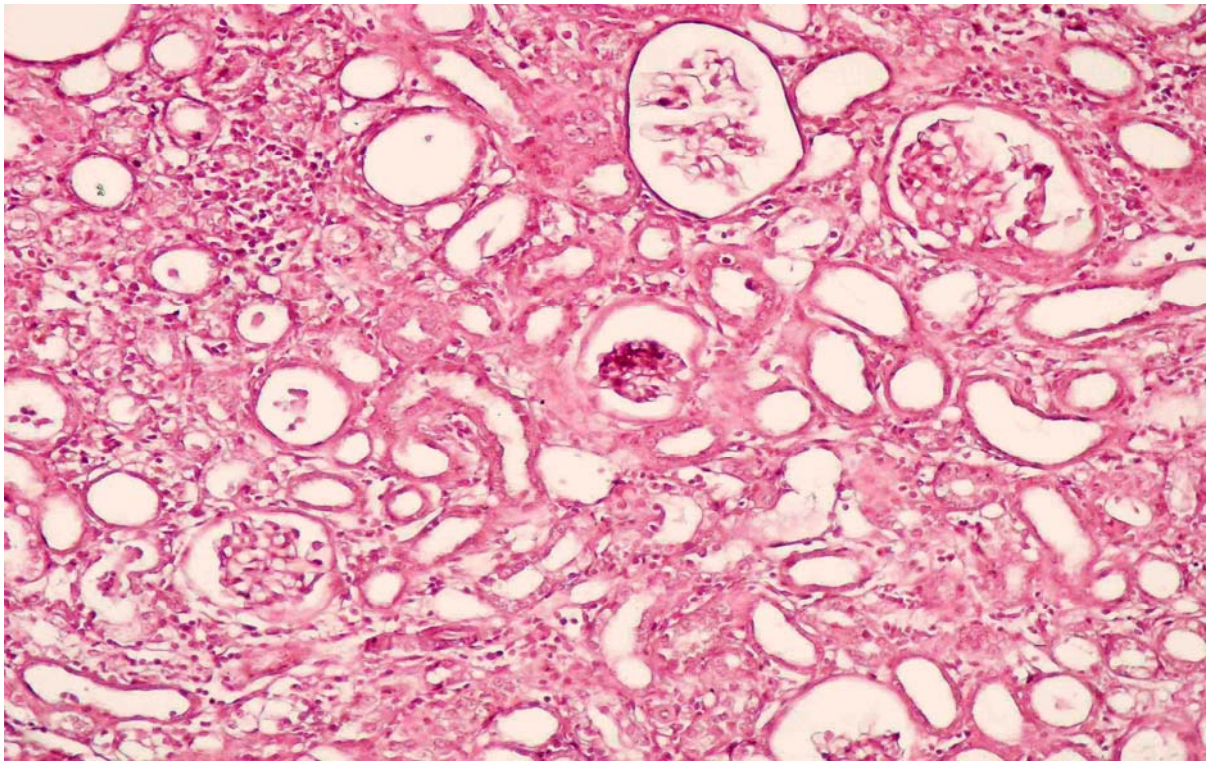
Hematoksilen-eozin X 400.

Şekil 7. Grup 2'ye ait böbreğinin histolojik görünümü



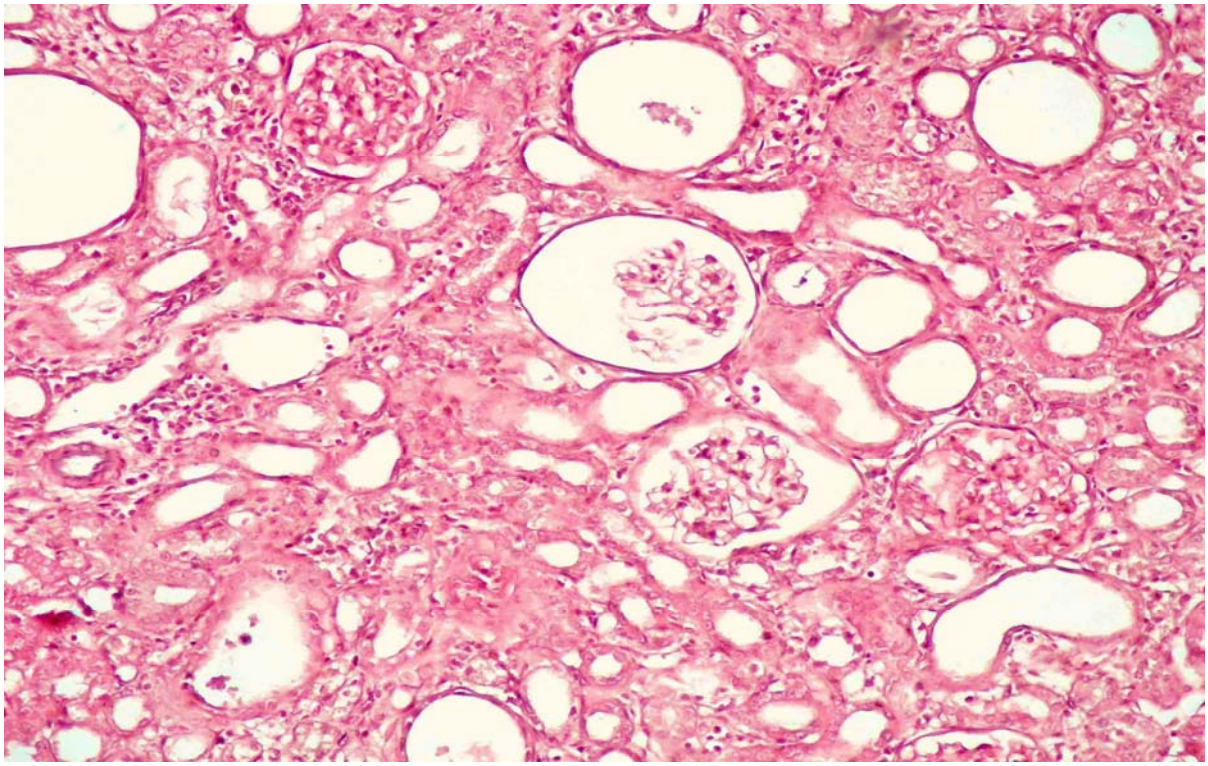
Hematoksilen-eozin X 400.

Şekil 8. Grup 3'e ait böbreğinin histolojik görünümü



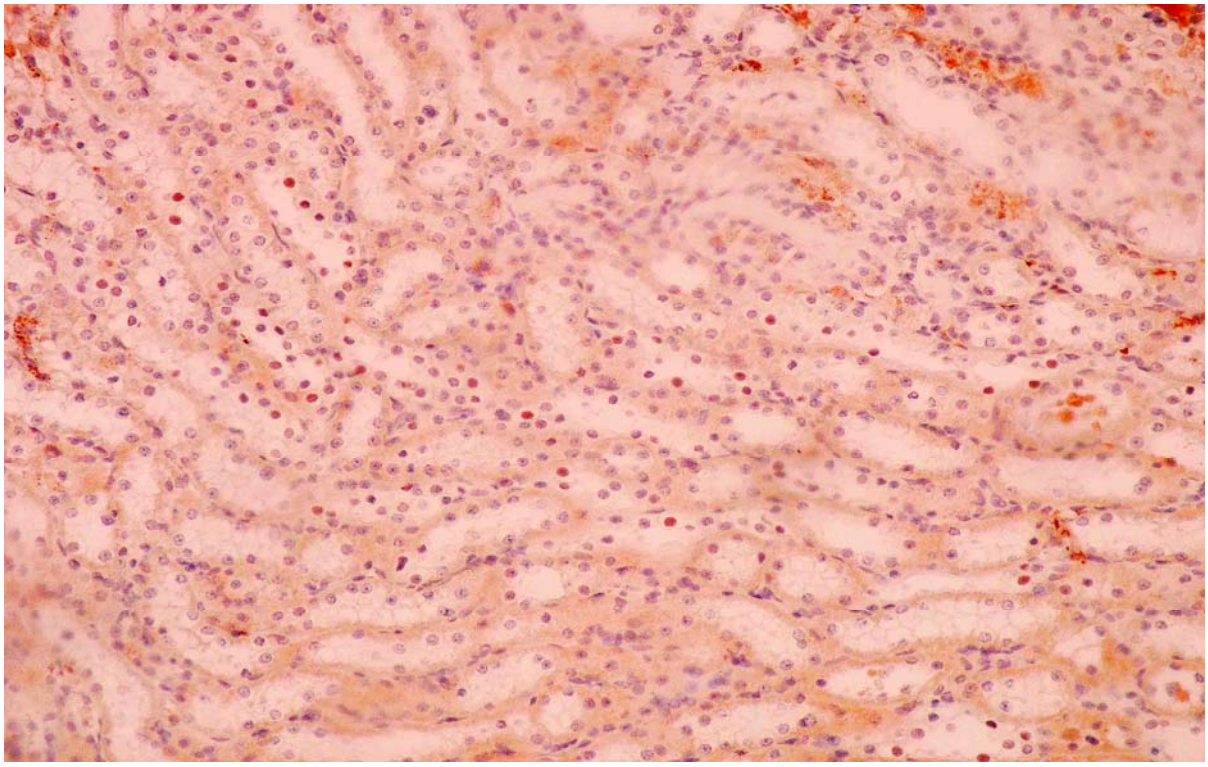
Hematoksilen-eozin X 400.

Şekil 9. Grup 4'e ait böbreğinin histolojik görünümü



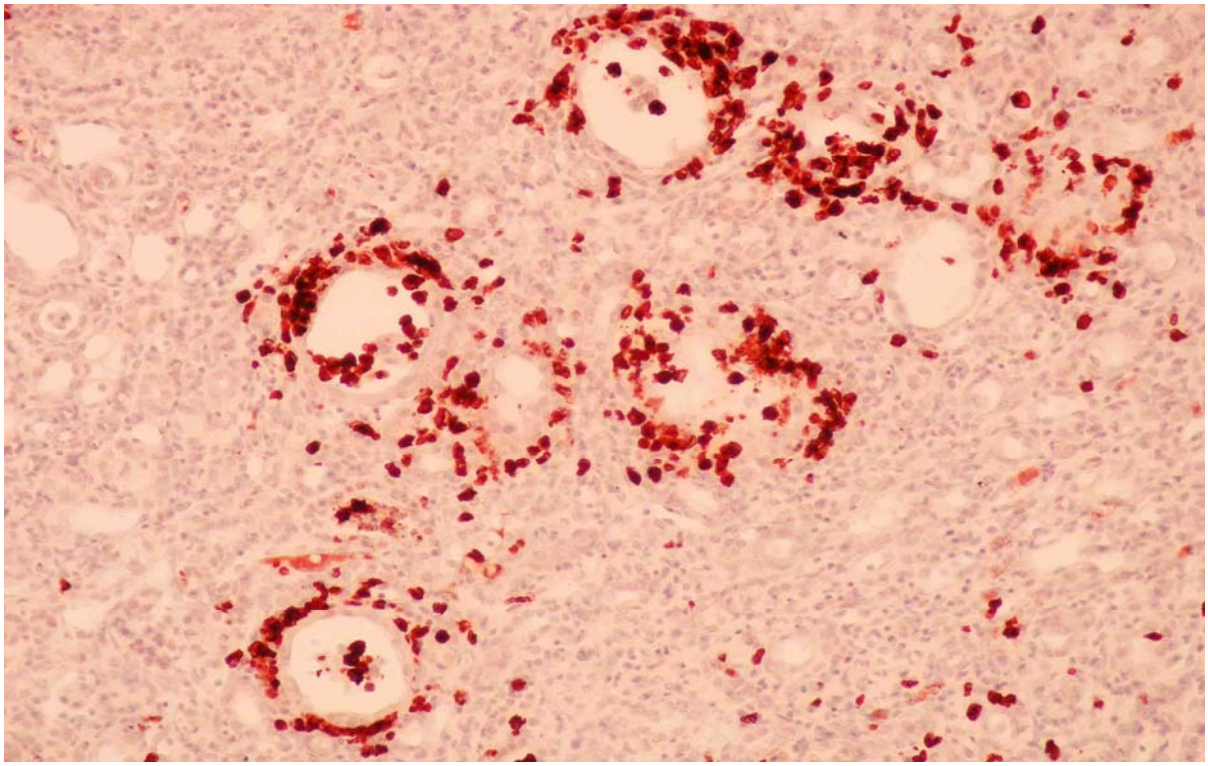
Hematoksilen-eozin X 400.

Şekil 10. Grup 5'e ait böbreğinin histolojik görünümü



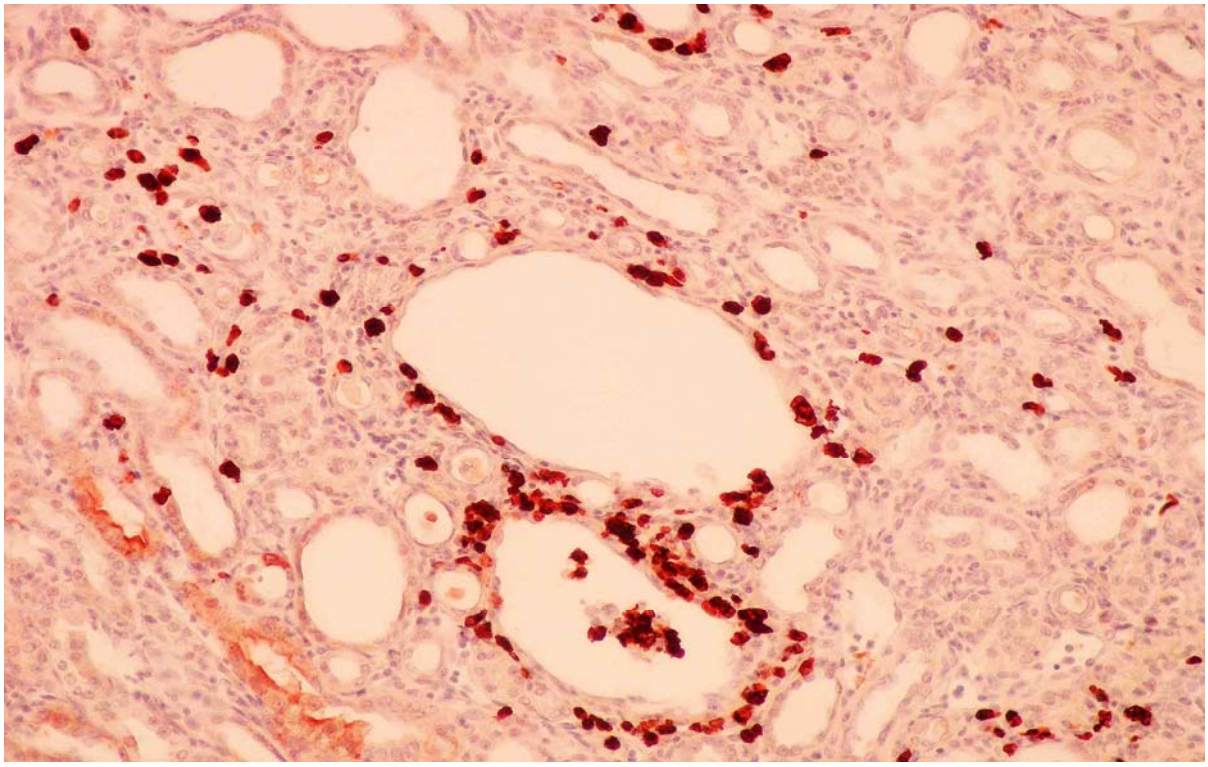
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 11. Grup 1'e ait böbrek kesitinde iNOS immünboyanması



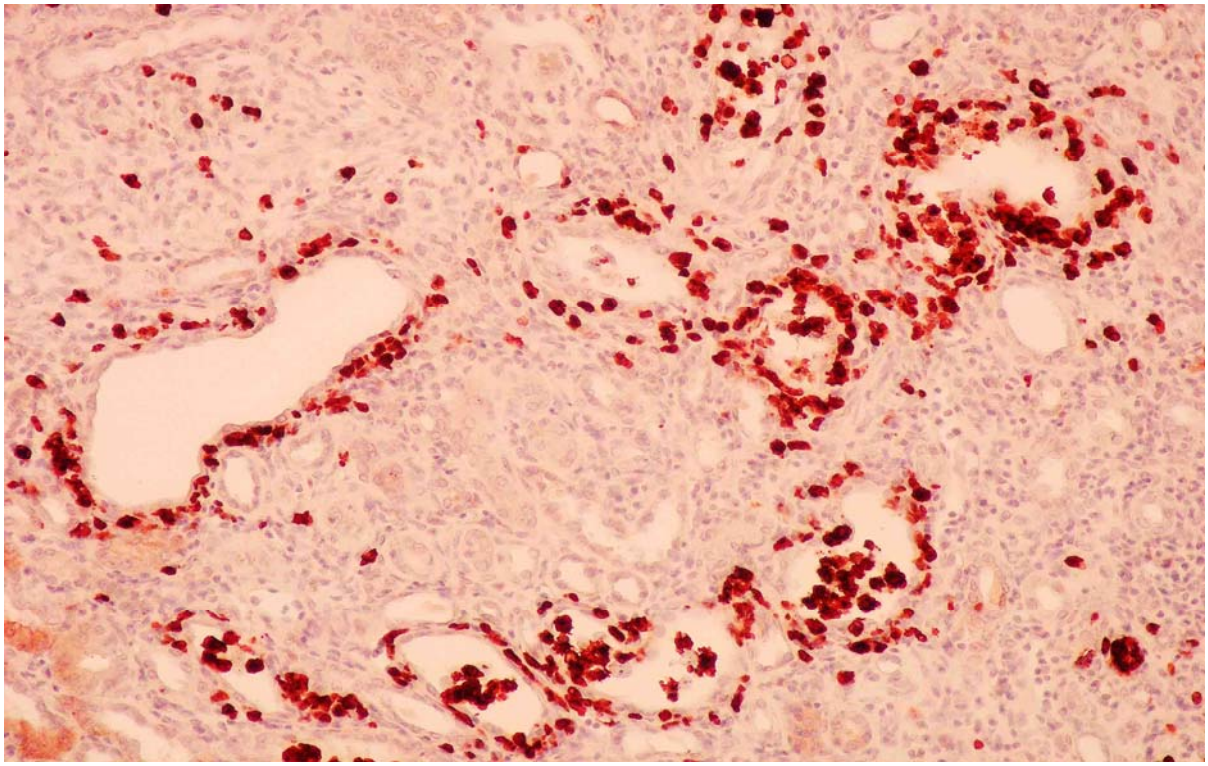
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 12. Grup 2'ye ait böbrek kesitinde iNOS immünboyanması



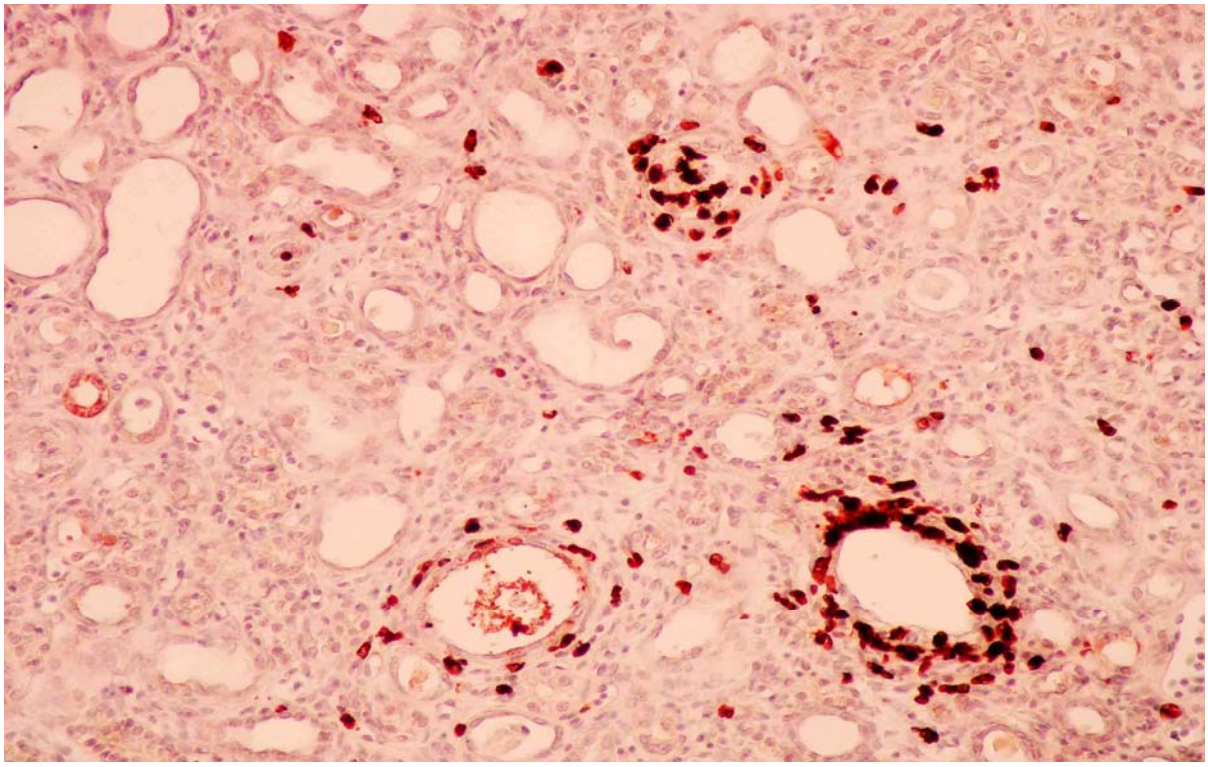
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 13. Grup 3'e ait böbrek kesitinde iNOS immünboyanması



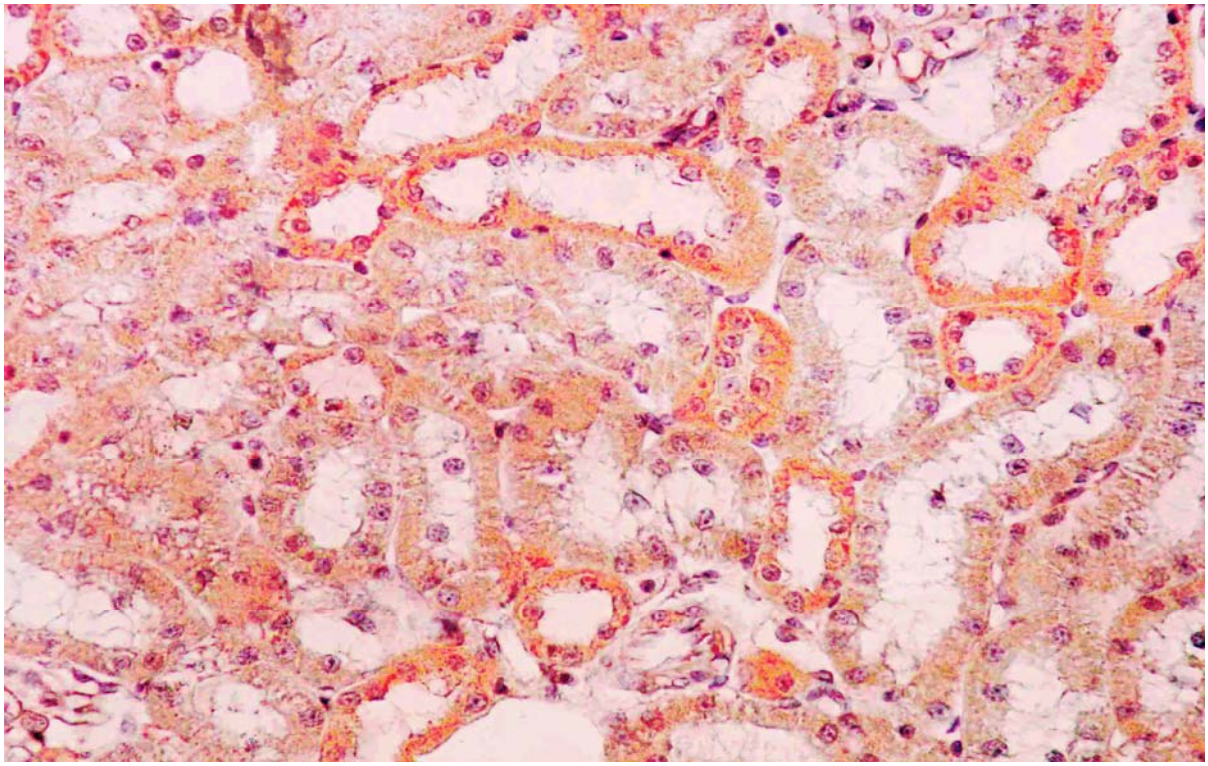
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 14. Grup 4'e ait böbrek kesitinde iNOS immünboyanması



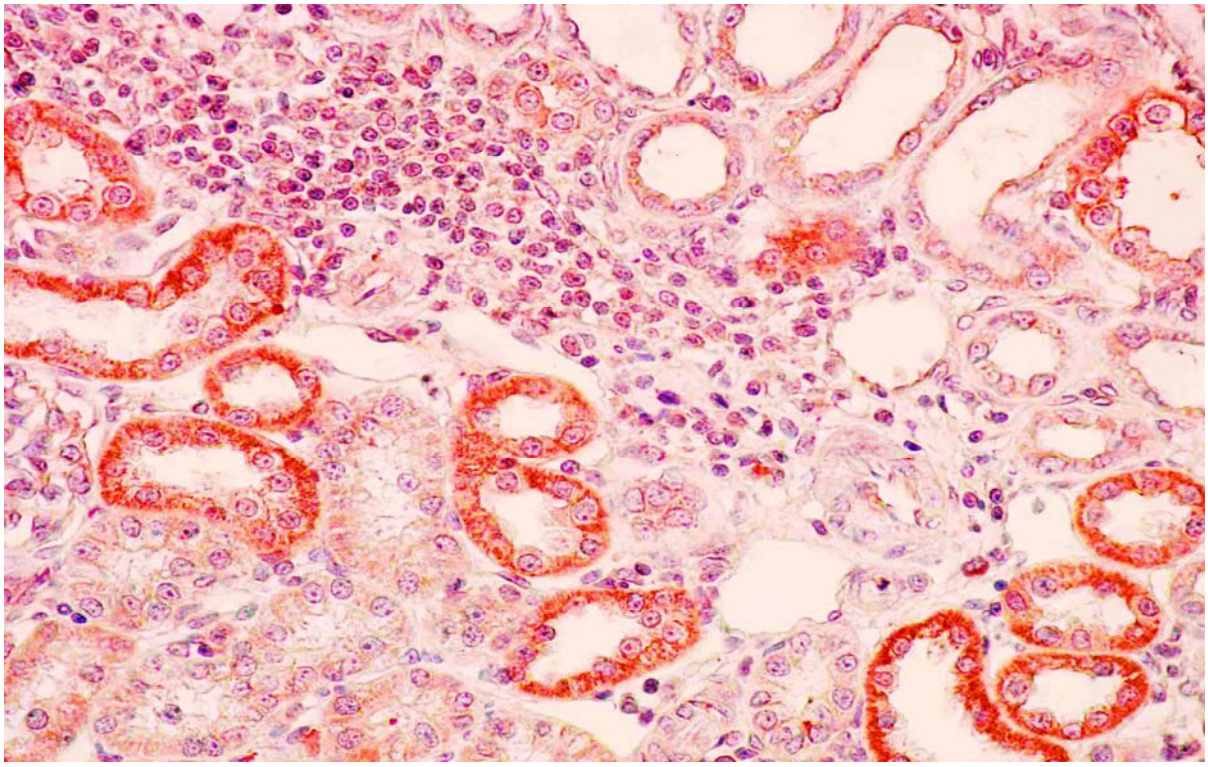
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 15. Grup 5'e ait böbrek kesitinde iNOS immünboyanması



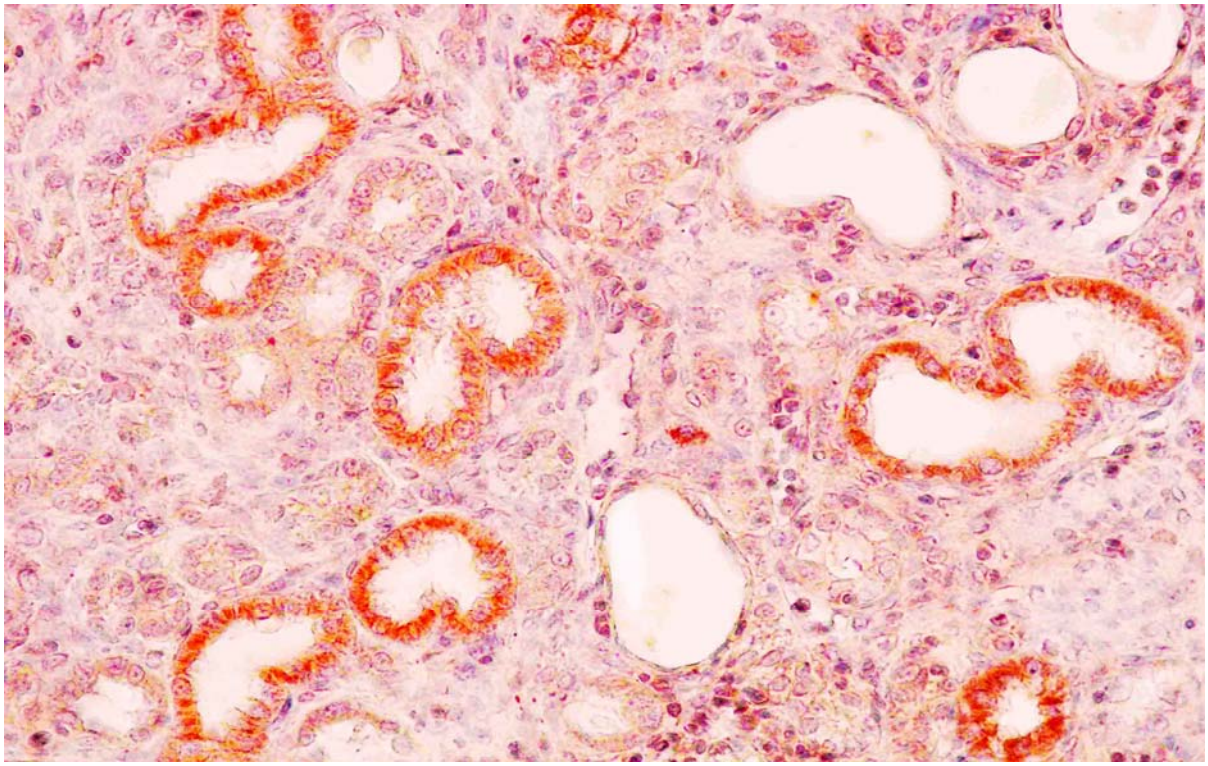
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 16. Grup 1'e ait böbrek kesitinde NFkB p65 immünboyanması



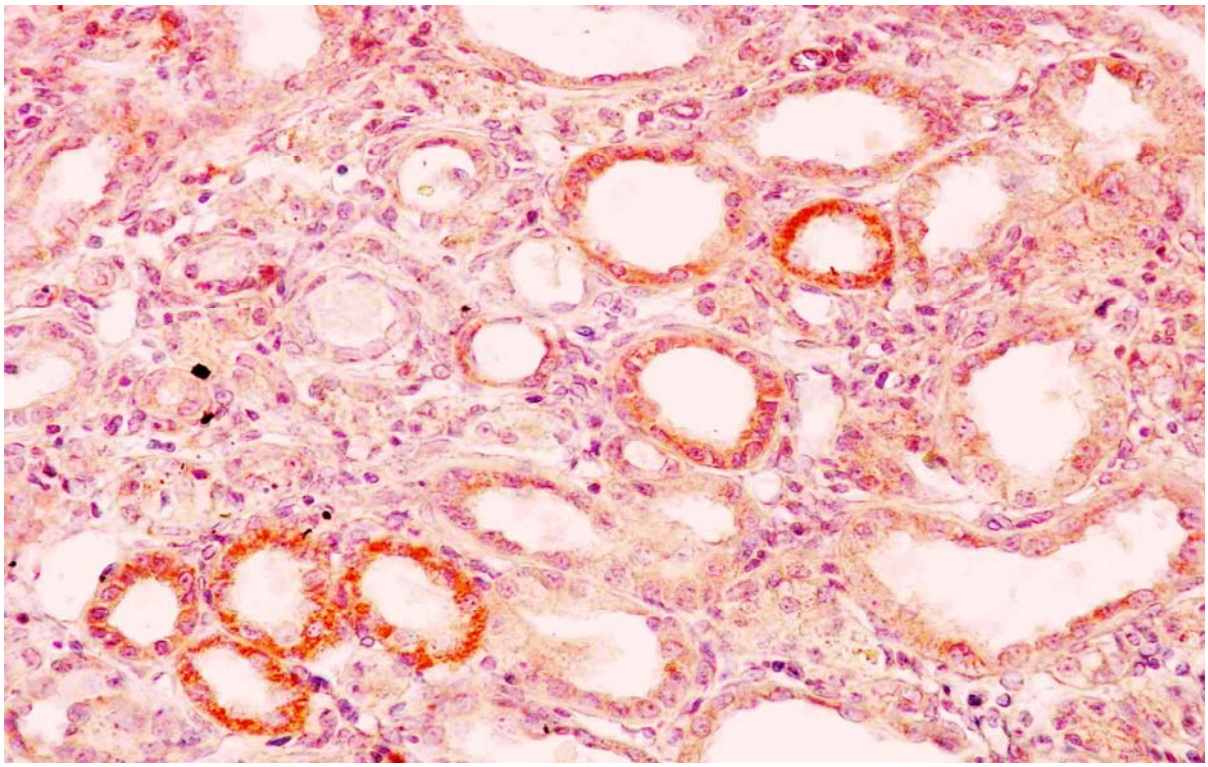
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 17. Grup 2'ye ait böbrek kesitinde NFkB p65 immünboyanması



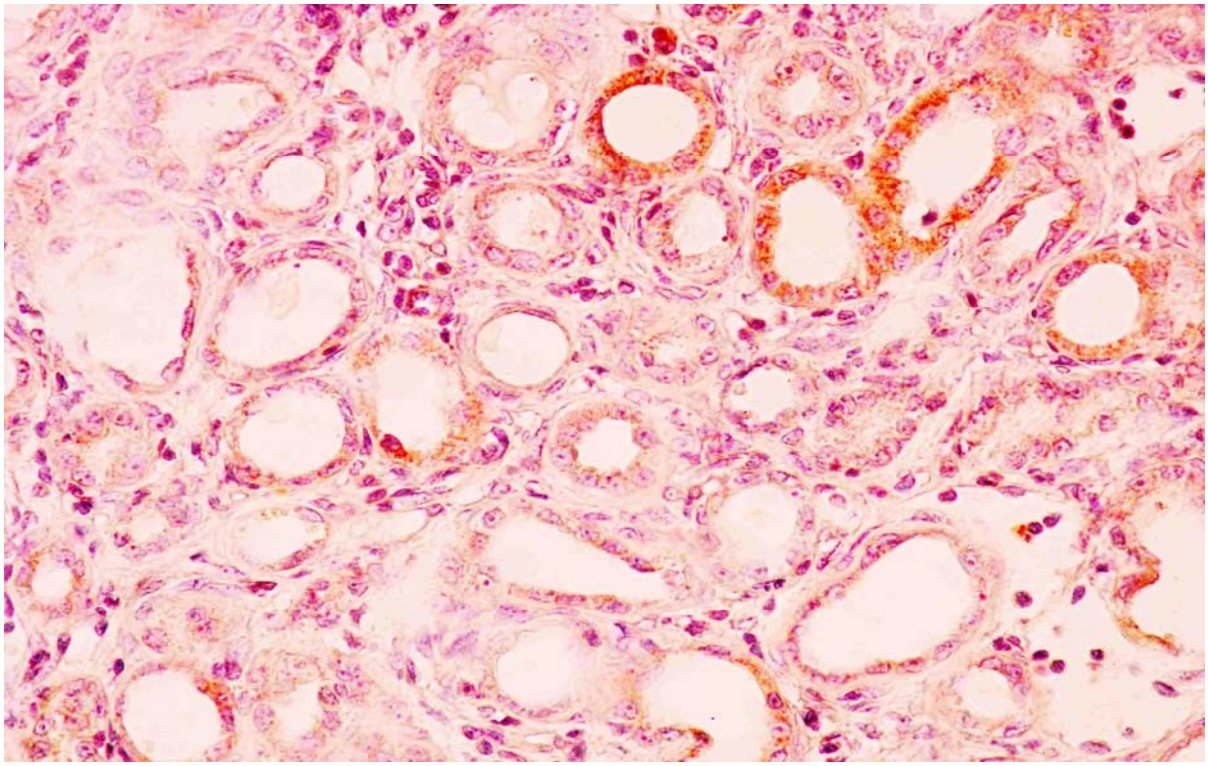
İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 18. Grup 3'e ait böbrek kesitinde NFkB p65 immünboyanması



İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 19. Grup 4'e ait böbrek kesitinde NFkB p65 immünboyanması



İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması X 400.

Şekil 20. Grup 5'e ait böbrek kesitinde NFkB p65 immünboyanması

TARTIŞMA

Çalışmamızda cerrahi yöntem ile oluşturulan hidronefroz modelinde; tüm gruplar histopatolojik, biyokimyasal MDA, immunohistokimyasal iNOS ve NF-kB immünreaktiviteleri değerlendirildi.

Hiperbarik oksijen tedavisinin sağlıklı dokulara olası toksik etkisini değerlendirebilmek amacıyla hiçbir müdahalede bulunulmayan Grup 1'deki sağlıklı deneklere 2.4 ATA basınçta 21 seans HBO tedavisi de uygulandı. Çalışma sonunda Grup 1'de yapılan değerlendirmede; histolojik anlamlı değişimler izlenmedi, iNOS ve NF-kB immünreaktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler olmadı. Böylelikle bu deneysel modelde HBO tedavisinin sağlıklı dokulara toksik etkisi görülmemiştir.

Modelimizdeki hidronefroz böbrekte histopatolojik sonuçlarını ortaya koymuştur. Tubullerde belirgin bir dilatasyon ve aşırı genişleme sonucu bazı tubullerde hücreler normal şekillerini kaybetmiş ve yassı hücre haline dönüşmüştür. Proksimal tubul hücreleri sitoplazma yoğunluğunu kaybetmiş, yer yer lümen içerisine dökülmüş, tubul duvarında kalanların ise fırçamsı kenar yapılarının bozulmuştur. Bu nedenle proksimal ve distal tubuluslar ayırt edilememiştir. Bazı glomerüller normal yapısını korumuş, bazılarında da büzüşme ile birlikte kayıplar oluşmuştur. Ayrıca aşırı lökosit infiltrasyonu sonucu yer yer kümeler oluşmuş interstisyumda bağ dokusu yoğun bir şekilde artması ile kronik obstrüksiyon varlığını gösteren histolojik değişiklikler ortaya çıkmıştır. Bu değişikliklerin NO'nun aşırı yükselmesi ve proinflamatuar sitokinlerin hedef hücreler üzerindeki etkilerini göstermesi sonucu ile oluştuğu iNOS pozitif hücrelerin çok fazla sayıda ve NFkB p65 immünreaktivitesinin oldukça belirgin oranla artmasına bağlamaktayız.

Hiperbarik oksijen tedavisi ışık mikroskobisi ile değerlendirilebilen histopatolojik parametreleri değiştirmemiştir. Ancak NO'nun azalması ile birlikte proinflamatuar sitokinlerin hedef hücreler üzerindeki etkilerini baskılamış ve inflamasyonu azaltmıştır.

Hiperbarik oksijen tedavisi ile birlikte selektif iNOS inhibitörü SMT verilmesi MDA, iNOS pozitif hücre ve lökosit infiltrasyonunu tüm gruplara göre belirgin bir azaltmıştır. Buradan selektif iNOS inhibisyonu, NO'nun ve lipit peroksidasyonunun baskılanmasıyla doku hasarını azaltabileceği sonucuna varmaktayız. Aksine oral verilen arjinin iNOS pozitif hücreleri ve NO'yu artırmış ancak doku hasarı sonuçları ortaya konulamamıştır.

Konjenital obstrüktif üropati, intrauterin başlayıp doğum sonrası devam eden veya doğum sonrası oluşan obstrüktif üropatiden farklıdır. Doğumdan sonra devam eden üriner sistem obstrüksiyonunda önemli bilinen inflamatuar cevapların, fetal obstrüksiyondaki rolü bilinmemektedir. Fetal obstrüksiyon modellerinde böbrekte inflamatuar hücreler görülmemiştir. Doğum sonrası ise bunların net olarak görülmesi, sürecin farklı olduğunu ya da konjenital obstrüktif böbrekte doğumdan sonra yeni bir cevabın geliştiğini göstermektedir (22). Beyaert ve Fiers (51) tümör nekrozis faktör-α apopitozise neden olur ve bu NF-κB aktivasyonu ile sıklıkla paralel seyreder. Antwerp ve ark. (52) İlginç olarak NF-κB inhibisyonu bazı deneysel modellerde hücre ölümünü azaltmamış bilakis arttırmıştır. Beg ve Baltimore (54) NF-κB'nin sağ kalım etkisi antiapopitotik faktörlerin indüklenmesi ile olmaktadır. Schneider ve ark. (55) Farklı deney modelleri ile yapılan çalışmalarda NF-κB'nin hücreleri ölümden koruduğunu desteklemektedir. Örneğin; NF-κB nin alt ünitelerinden birinin kaybı iskemi-reperfüzyon modelinde hücre ölümünü azaltmaktadır. Bond ve ark. (57) NF-κB tarafından indüklenen potansiyel olarak tehlikeli enzimlerden metalloproteinaz–9 ve NO sentetazın sitokinlere yanıt veren hücrelerde koruma sağladıkları gösterilmiştir. NFkB p65 immünreaktivitesinin oldukça zayıf ve iNOS pozitif hücrelerin çok az sayıda olduğu sağlıklı Grup 1'de histolojinin de normal olduğu görmekteyiz. HBO tedavisi ile histopatolojik parametreler üzerinde farklılık gözlemlenmez iken NFkB p65 immünreaktivitesini ve iNOS pozitif hücreleri kontrol hidronefroz grubunun aksine belirgin azalmasını temel mekanizma olarak düşünmekteyiz. Nitekim HBO almayan kontrol hidronefroz grubumuzda NFkB p65 immünreaktivitesinin oldukça belirgin, iNOS pozitif hücrelerin de arttığını görüyoruz.

Konjenital obstrüktif üropatinin patofizyolojisini açıklayan iki temel hayvan modeli kullanılmıştır. Birincisi cerrahi yöntem ile oluşturulan üriner sistem obstrüksiyonları (üreterin halka veya formalinle fiksasyonu, sütür ligasyonu gibi), ikincisi adriamisin rat modelidir. Cerrahi yöntem ile ratlarda oluşturulan hidronefroz modellerinde; atrofi, displazi, fibrozis ve

renal gelişimde değişiklikler içeren obstrüktif ve inflamatuar değişiklikler saptanırken, adriamisin rat modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda, böbrek ve üreterde fibrozis ve kollajen proliferasyonu gibi inflamatuar cevaplar saptanmamıştır. Ancak adriamisin ile oluşturulan deneysel hidronefroz modeli fetal hidronefroz mikroskopik inceleme için uygun bulunmuş (76,77).

Bizim çalışmamızda selektif iNOS inhibisyonu, NO'nun ve lipit peroksidasyonunun baskılanmasıyla doku hasarını azaltabileceği sonucuna Sadovnikoff ve Gelman (78) Böbreğin epitelyal, mezenşimal ve endoteliyal hücrelerinden NO sentezlenmektedir. NOS enzimlerinin farmakolojik inhibitörlerinin kullanılması, böbrek dokusunda NO'nun fizyolojik ve patolojik rollerinin belirlenmesine büyük katkı sağlamıştır. Böbrekte iNOS inhibisyonunun epitelyal hasarda azalma yaptığı ve renal fonksiyonlarda iyileşmeye yol açtığı, ancak eNOS inhibisyonunun ise epitelyal hasarı artırdığını kendi çalışmalarında bildirilmiştir. Aynı şekilde Yu ve ark. (79) NO sentaz inhibitörünün, sıçan proksimal tubullerinde hipoksi/reoksijenasyon hasarını önlediğini, böylece proksimal tubullerde NO sentezinin olduğu olaylarda tubuler hipoksi / reoksijenasyon hasarı ile ilişkilendirmişlerdir.

Cherla ve Jaimes (80) Böbrek dokusunda iNOS fizyolojik şartlarda tubullerde, patolojik durumlarda ise infiltre olan makrofaj ve glomerüler mezenşimal hücrelerde tespit edilmiştir. Ancak iNOS'un tubullerdeki fizyolojik işlevlerinin hala açıklanamadığı bildirilmiştir. Çalışmamızdaki sağlıklı deneklerden oluşan Grup 1'de tubuller ve damarlar etrafında çok az sayıda iNOS pozitif hücrelerin olduğu görülmüştür. Cherla ve Jaimes (80) NO prekürsörü olan arjinin verilmesi sonucu sentezlenen NO'nun böbrek hasarına karsı koruyucu etkileri olduğunu bu etkisini renal hemodinamiği düzenleme, böbrek dokusunda makrofaj infiltrasyonunu azaltma, yangısal hasardan koruma ve hücre büyümesine neden olarak böbrek dokusunda doku onarımına katkı sağlama ile yaptığı gösterilmiştir. Renal hemodinamiğin düzenlenmesinde arjinin/NO yolunun önemli olduğu, böbrek hastalıklarında oral arjinin kullanılmasının deney hayvanlarında çeşitli yararlı ve zararlı etkilerinin olduğu bildirilmiş ancak yaptığımız çalışmada arjinin NO'yu artırmış ancak iyileşme yönünde morfolojiya katkı sağladığı ışık mikrokobisi ile görülememiştir.

Bizim çalışmamızdan farklı olarak hastalık öncesinde verilen arjininin etkisini araştıran Chintala ve ark. (81) anestezi sonrası sıçanlarda postiskemik böbrek böbrek fonksiyonlarında bozulmaya dikkati çekti ve NO sentaz inhibitörü ile NO üretiminin önemli ölçüde inhibisyonu ile bozulan böbrek fonksiyonu tedavi öncesi NO prekürsörü arjinin ile ortadan kaldırıldığını ortaya koymuşlar.

Gabbai (42) Son çalışmalarda NO seviyesinin yükselmesi veya iNOS aktivitelerinin artışının böbrekte eNOS aktivitelerini inhibe ederek renal vazokonstruksiyon ve glomerüler filtrasyon hızında azalmaya yol açtıkları bildirilmiştir. Goligorsky ve ark. (82) Renal hasarda NO'nun rolü hem sitoprotektif, prooksidant / proapoptotik etkileri yanı sıra, anti-enflamatuar ve proinflamatuar etkiler yarattığı gerçeğini tartışmalı kıldığını ifade etmişlerdir.

Ahn ve ark. (83) Son yıllarda yapılan çalışmalarda iNOS mRNA'nın farklı olarak bazal koşullarda nefron boyunca hücrelerde bulunduğunu ve daha sonra immün aktivasyonun gerçekleştiğini belirttiler. Ito (84) in vitro olarak sıçan böbrek doku çalışmalarında medulladaki iNOS spesifik aktivitenin kortekste üç kez daha iyi olduğunu doğruladı. Kontrol böbreklerde yüksek iNOS'un önemi tam olarak bilinmemektedir. Bu durumun kan akımı ve oksijenizasyonu desteklemek ve düzenlemek için oluştuğu ileri sürülmüştür.

Manucha (85) konjenital obstrüktif nefropatide NO'yu sorumlu olarak göstermiştir. Öte yandan, böbrek hasarında NO'nun rolü sitoprotektif ve prooksidant / proapoptotik etki yanı sıra ve anti-enflamatuar proinflamatuvar etkiler gibi ters etkiler gösterebilir ki bu nedenle tartışmalıdır. Buna ek olarak, reaktif oksidatif türleri böbrek hastalığının ilerlemesine katkıda bulunabilir. Tek taraflı üreteral obstrüksiyonu koordinasyonsuz ve anormal büyüme hücresel fenotip ve apoptozis kaybına yol açabilir. Konjenital obstrüktif nefropati tubuler atrofi, hücresel proliferasyon, apoptoz ve fibrozis ile karakterizedir. Bu veriler bizim hidronefroz modelimizde görülen tubuler atrofi, glomerül kaybı ve aşırı lökosit infiltrasyonu sonucu yer yer kümeler oluştuğu ve interstisyumda yoğun bağ dokusu artışı olarak gözlemlenen histolojik değişikliklerin kronik obstrüksiyon varlığına paralel olarak apoptoz ve fibrozisi ortaya koymuştur. Bu çalışmada ortaya konulan tam obstrüksiyon ile oluşturulan hidronefroz modelinde böbrekte hasara yönelik hızlı gelişen histolojik değişikliklerin olduğu gördük. Kısmi obstrüksiyon ya da bu obstrüksiyonun cerrahi olarak düzeltilmesi ile ilgili çalışmalara yoğunlaşılması gerektiği düşüncesindeyiz. Karmaşık immünohistokimyasal özelliklere sahip tek taraflı üreteral obstrüksiyon sırasında oluşan böbrek hasarı ve NO yolağında yukarıda belirtilen değişiklikleri anlamak için moleküler düzeyde daha büyük çalışmalara ihtiyaç vardır. Hiperbarik oksijen tedavisi uygulanan tek taraflı üreter obstrüksiyonu oluşturulmuş sıçanlarda NO'yu azaltmak, inflamasyon ve lipit peroksidasyonunu baskılayarak doku hasarının azalmasına yol açtığını düşünmekteyiz.

SONUÇLAR

Bu çalışma, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanlarını Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ve Yüzüncüyıl Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapıldı. HBO tedavisi uygulanan tek taraflı üreter obstrüksiyonu oluşturularak istenen hidronefroz modeli ile sıçanlarda NO'nun rolü immunohistokimyasal metodlarla, histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle değerlendirilmesi amaçlandı. Sonuçların mevcut bilimsel bilgi ile karşılaştırılması ve elde edilecek bilginin gelecekte yapılacak çalışmalar için kaynak oluşturması için tasarlandı ve aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. Bu deneysel modelde HBO tedavisinin incelenen sağlıklı dokularda toksik etkisini görmedik.
2. Kronik obstrüksiyon varlığını gösteren histolojik değişiklikler, NO'nun aşırı yükselmesi ve proinflamatuar sitokinlerin hedef hücreler üzerindeki etkilerini göstermesi ile oluştuğu kanısındayız.
3. HBO tedavisi üreter obstrüksiyonu sonucu böbrekte ortaya çıkan morfolojik değişiklikleri etkilemedi ancak NO'nun azalması ile birlikte proinflamatuar sitokinlerin hedef hücreler üzerindeki etkilerini baskıladığı ve bu yolla inflamasyonu azalttığı izlendi.
4. Selektif iNOS inhibisyonunun NO ve lipit peroksidasyonunu baskılaması ile doku hasarını azaltabileceğini düşünmekteyiz.

ÖZET

Bu çalışmada, hiperbarik oksijen tedavisi uygulanan, tek taraflı üreter obstrüksiyonu ile istenen hidronefroz modeli oluşturularak sıçanlarda nitrik oksitin rolünün immunohistokimyasal, histopatolojik ve biyokimyasal parametrelerle değerlendirilmesi amaçlandı. Çalışmada 50 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı ve 5 grup oluşturuldu. Grup 1'deki deneklerin sol üreteri bağlanmadan mobilize edildi. Grup 2, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'teki deneklere standart hidronefroz modeli cerrahi yöntem olan sol üreterin 4/0 serbest ipek ile bağlanması ile oluşturuldu. Grup 1, Grup 3, Grup 4 ve Grup 5'te bulunan deneklere 21 gün hiperbarik oksijen tedavisi uygulandı. Grup 4'deki deneklere 10 g/l arjinin içme suyuna katılarak verildi. Grup 5'teki deneklere 21 gün, 20 mg/kg/doz "s-methylisothiourea" intramuskuler yapıldı. Çalışma sonunda tüm denekler sakrifiye edildi. Böbrek dokusunun genel özelliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler hematoksilen-eozin ile boyanarak histopatolojik değerlendirme yapıldı. Böbrek dokularından elde edilen kesitler immunohistokimyasal inceleme için boyandı ve sonuçlar semikantitatif olarak değerlendirildi. Dokuda malonildialdehid düzeyi ölçüldü. Hiperbarik oksijen tedavisi; histopatolojik parametreler üzerinde farklılık yapmaz iken indüklenebilir nitrik oksit sentaz pozitif hücrelerin ve nükleer faktör kappa B immünreaktivitesinin belirgin azalmasını sağlamıştır. Arjinin nükleer faktör kappa B immünreaktivitesini etkilemedi ancak indüklenebilir nitrik oksit sentaz pozitif hücreleri artırdı. "S-methylisothiourea", malondialdehit düzeyini istatistiksel anlamlı ($p<0.05$) azaltmıştır. Ayrıca indüklenebilir nitrik oksit sentaz pozitif hücre ve lökosit infiltrasyonunu da belirgin azaltmıştır. Hiperbarik oksijen tedavisi üreter obstrüksiyonu sonucu böbrekte ortaya çıkan morfolojik değişiklikleri etkilemiştir. Ancak

nitrik oksit'in azalması ile birlikte inflamasyonu azalttığı izlenmiştir. Selektif indüklenebilir nitrik oksit sentaz inhibisyonunun ise nitrik oksit'in ve lipit peroksidasyonunun baskılanmasıyla doku hasarını azaltabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Hiperbarik oksijen, hidronefroz, nitrik oksit, s-methylisothiourea.

THE ROLE OF NITRIC OXIDE, IN RATS WITH UNILATERAL URETERAL OBSTRUCTION TREATED WITH HYPERBARIC OXYGEN

SUMMARY

The aim of this study is to evaluate the role of nitric oxide in relation to immunohistochemical, histological and biochemical parameters in rats with unilateral ureteral obstruction by creating the model of hydronephrosis that receving hyperbaric oxygen therapy. 50 Wistar Albino rats were examined by dividing into 5 groups in this study. The left ureters of subjects in the group 1 were mobilized without ligating. The standard model of hydronephrosis, that carried out by the surgical method of left ureter ligation with 4 - 0 silk, performed in the subjects of Group 2, Group 3, Group 4 and Group 5. The subjects in the Group 1, Group 3, Group 4, and Group 5 underwent hyperbaric oxygen therapy for 21 days. 10 g/l arginine administered in the subjects of Group 4 by participating in drinking water. 20 mg/kg/dose, intramuscular "s-methylisothiourea" infused to the subjects in the Group 5 for 21 days. All subjects were killed at the end of the study. Renal tissue sections stained with hematoxylin-eosin were taken in order to reveal the general features of histopathological evaluation. Kidney tissues were stained for immunohistochemistry and the results obtained from the cross-sections were evaluated semiquantitatively. Malondialdehyde levels of tissue samples were measured. Hyperbaric oxygen therapy has decreased the number of inducible nitric oxide synthase positive cells and reduced nuclear factor kappa B immunoreactivity significantly whereas it hasn’t changed histopathological parameters. Arginine did not affect nuclear factor kappa B immunoreactivity but increased the number of inducible nitric oxide

synthase-positive cells. "S-methylisothiourea" decreased the level of malondialdehyde significantly ($p < 0.05$). In addition, it also decreased the number of inducible nitric oxide synthase-positive cells and reduced leukocyte infiltration prominently. Hyperbaric oxygen therapy affected the morphological alteration that occurs in the kidney as a result of ureteral obstruction. However it is showed that it reduced inflammation together with the decrasing of nitric oxide. We suggested that selective inhibition of inducible nitric oxide synthase may reduce the tissue damage by suppression of nitric oxide and lipid peroxidation.

Key words: Hyperbaric oxygen, hydronephrosis, nitric oxide, s-methylisothiourea.

KAYNAKLAR

1. Mouriquand P. Congenital anomalies of the pyeloureteral junction and the ureter. In: O'Neill, Rowe M (Eds.). Pediatric Surgery 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1998. p.1591-1607.

2. Yokoyama H, Tsuji Y. Diuretic doppler US in chronic unilateral parsial ureteric obstruction in dogs. BJU International 2002;90(1):100-4.

3. Göğüş O. Üriner obstrüksiyon ve staz. Yaman LS, Müftüoğlu YZ, Küpeli S (Editörler). Üroloji'de. Ankara: Güneş Kitabevi; 1990. s.105.

4. Küpeli S, Küpeli B. Üriner obstrüksiyonlar. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (Editörler). Temel Üroloji'de. Ankara: Güneş Kitabevi; 1998. s. 270-94.

5. Elder JS, Stansbrey R, Dahms BB, Selzman AA. Renal histological changes secondary to ureteropelvic junction obstruction. J Urol 1995;154(2):719-22.

6. Kabalin JN. Surgical anatomy of the retroperitoneum kidneys and ureters. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan EDJ, Wein AJ. (Eds.). Campbell's Urology. 7th ed. Philedelphia: W.B.Saunders Co; 1998. p.69-88.

7. Fleming JT, Parekh N, Steinhausen M. Calcium antagonists preferentially dilate preglomeruler vessels of hydronephrotic kidney. Am J Physiol 1987;253(6):1157-63.

8. Yarger WE, Schocken DD, Haris RH. Obstructive nephropaty in rat. J Clin Invest 1980;65(2):400-12.

9. Chittur M, Marini C, Genaro M, Ascer E. The value and limitation of ilioprost infusion in decreasing skleteal muscle necrosis. J Vasc Surg 1992;16(2):268-73.

10. Trimarchi H, Mongitore MR, Baglione P, Forrester M, Freixas EA, Schropp M et al. N-acetylcisteine reduces malondialdehyde levels in chronic hemodialysis patients a pilot study. Clin Nephrol 2003;59(6):441-6.

11. Thomas KA. VEGF a potent and selective angiogenic agent. J Biol Chemistry 1996;271(2):603-6.

12. Moon C, Ahn M, Kim S, Yasuzumi F, Shin T. Increased expression of both constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in the delayed phase of acute experimental testicular torsion. J Vet Med Sci 2005;67(4):453-6.

13. Kindwall EP. A history of hyperbaric medicine. In: Kindwall EP (Eds.). Hyperbaric Medicine Practice. Arizona: Best Publishing Company; 1994;2-16.

14. Scheinkestel C, Jones K, Myles PS, Cooper DJ, Millar IL, Tuxen DV. Where to now with carbon monoxide poisoning? Emerg Med Australas 2004;16(2):151-4.

15. Tanagho EA. Anatomy of the genitourinary tract. In: Tanagho EA, Mc Aninch JW (Eds.). Smith's General Urology 13th ed. New Jersey: Prentice-Hall International Inc; 1992. p.1-7.

16. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO (Çeviri: Y. Aytekin). Temel histoloji. İstanbul: Barış Kitabevi; 1998:181-202.

17. Tanagho EA. Embryology of the genitourinary system. In: Tanagho EA, Mc Aninch JW (Eds.). Smith's General Urology 16th ed. New York: McGraw-Hill Co; 1994. p.17-9.

18. Mass R, Elfering S, Glaser T, Jepeal L: Deficient outgrowth of the ureteric bud underlies the renal agenesis phenotype in mice manifesting the limb deformity (ld) mutation. Dev Dyn 1994;199(3):214-28.

19. Alcaraz A, Vinaixa F, Tejedo-Mateu A, Forés MM, Gotzens V, Mestres CA et al. Obstruction and recanalization of the ureter during embryonic development. J Urol 1991;145(2):410-6.

20. Davisson RL, Kim HS, Krege JH, Lager DJ, Smithies O, Sigmund CD. Complementation of reduced survival, hypotension and renal abnormalities in angiotensinogen deficient mice by the human renin and human angiotensinogen genes. J Clin Invest 1997;99(6):1258-64.

21. Hezlinger D. Inductive interactions during kidney development. Semin Nephrol 1995;15(4):255-62.

22. Walsh PC, Retik AB, Vaughan D, Wein A. Konjenital obstrüksiyonun patofizyolojisi (çeviri: Yeşilli Ç, Seçkiner İ). Anafarta MK, Yaman MÖ (Editörler). Campbell Üroloji'de. Ankara: Günes Tıp Kitabevleri; 2005. s.1789-93.

23. Coplen DE, Synder HM. Ureteral Obstruction and Malformations. In: Ashcraft, Murphy, Sharp, Sigalet, Synder. Pediatric Surgery. 12th ed. Philadelphia: W.B. Saunders;2000. p.690-706.

24. Klahr S. Obstructive Nephropathy. Inter Med 2000;39(5):355-61.

25. Mesrobian HG. Urologic Problems of the Neonate: An Update. Clin Perinatol 2007;34(4):667-79.

26. Fernbach SK, Maizels M, Conway JJ. Ultrasound grading of hydronephrosis: introduction to the system used by the Society of Fetal Urology. Pediatr Radiol 1993;23(6):478- 80.

27. Lim DJ, Park JY, Kim JH, Paick SH, Oh SJ, Choi H. Clinical characteristics and outcome of hydronephrosis detected by prenatal ultrasonography. J Korean Med Sci 2003;18(6):859–62.

28. Coplen D. Prenatal intervention for hydronephrosis. J Urol 1997;157(6):2270-7.

29. Yiee J, Wilcox D. Management of fetal hydronephrosis. Pediatr Nephrol 2008;23(3):347-53.

30. Conesa LE, Valero F, Nadal JC, Fenory FJ, Lopez B, Arregui B et al. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2001;281(3):730-7.

31. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. J Invest Med 1994;42(4):632-9.

32. Garcia JJ, Reiter RJ, Guerrero JM, Escames G, Yu BP, Oh CS et al. Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. FEBS Lett 1997;408(3):297-300.

33. Agarwal R. Proinflammatory effects of oxidative stress in chronic kidney disease: role of additional angiotensin II blockade. Am J Physiol Renal Physiol 2003;284(4):863-9.

34. Yamaguchi T, Oishi K, Uchida M, Echizen H. Edaravone, a radical scavenger, may enhance or produce antiproliferative effects of fluvastatin, amlodipine, ozagrel, GF109203X and Y27632 on cultured basilar artery smooth muscle cells. Biol Pharm Bull 2003;26(12):1706-10.

35. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. Ann Intern Med 1994;120(3):227-37.

36. Kilbourn RG, Traber DL, Szabo C. Nitrik oxide and shock. Dis Mon 1997;47(5):277-348.

37. Weight SC, Nicholson ML. Nitric oxide and renal reperfusion injury: A review. Eur J Vasc Endovasc Surg 1998;16(2):98-103.

38. Kendall HK, Marshall RI, Bartold PM. Nitric oxide and tissue destruction. Oral Dis 2001;7(1):2-10.

39. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. Nitric oxide: Physology, pathophysology, and pharmacology. Pharmacol Rev 1991;43(2):109-37.

40. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit: Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Ankara: Palme Yayıncılık, 2003:1-50.

41. Southan GJ, Szabó C, Thiemermann C. Isothioureas: potent inhibitors of nitric oxide synthases with variable isoform selectivity. Br J Pharmacol 1995;114(2):510-6.

42. Gabbai FB. Effects of nitric oxide synthase blockers on renal function. Nephrol Dial Transplant 2001;16 Suppl 1:10-3.

43. Klahr S. The role nitric oxide in hypertension and renal disease progression. Nephrol Dial Transplant 2001;16 Suppl 1:60-2.

44. Herrera M, Garvin JL. Recent advances in the regulation of nitric oxide in the kidney. Hypertension 2005;45(6):1062-7.

45. Star RA. Intrarenal localization of nitric oxide synthase isoforms and soluble guanylyl cyclase. Clin Exp Pharmacol Physiol 1997;24:607-10.

46. Christman JW, Lancaster LH, Blackwell TS. Nuclear factor kappa B. A pivotal role in the systemic inflammatory response syndrome and new target for therapy. Int Care Med 1998;24(1):1131-5.

47. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kB and REL proteins: evalutionaryily conserved mediators of immune responses. Annu Rev Immunol 1998;16:225-60.

48. Baeuerle PA. IkB-NF-kB structures: at the interface of inflammation control. Cell 1998;95(6):729-31.

49. Baldwin AS. The NF-kB and IkB proteins: new discoveries and insights. Annu Rev Immunol 1996;14:649-81.

50. Collins T, Read MA, Neish AS, Whitley MZ, Thanos D, Maniatis T. Transcriptional regulation of endothelial cell adhesion molecules: NF-kappa-B and cytokine-inducible enhancers. FASEB J 1995;9(10):899-909.

51. Beyaert R, Fiers W. Molecular mechanisms of tumor necrosis factor induced cytotoxicity. What we do understand and what we do not. FEBS Lett 1994;340(1):9-16.

52. Antwerp DJ, Martin SJ, Kafri T, Green DR, Verma IM. Supression of TNF-a induced apoptosis by NF-kB. Science 1996;274(5288):787-9.

53. Beg A, Sha WC, Bronson R, Ghosh S, Baltimore D. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B. Nature 1995;376(6536):167-70.

54. Beg AA, Baltimore D. An essential role for NF-kB in preventing TNF-induced cell death. Science 1996;274(5288):782-4.

55. Schneider A, Martin-Villalba A, Weih F. NF-kB is activated and promotes cell death in focal cerebral ischemia. Nat Med 1999;5(5):554-9.

56. Geng Y, Petersson A, Wennmalm A, Hansson G. Cytokine-induced expression of nitric oxide synthase results in nitrosylation of heme and nonheme iron proteins in vascular smooth muscle cells. Exp Cell Res 1994;214(1):418-28.

57. Bond M, Fabunmi R, Baker A, Newby A. Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines; an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. FEBS Lett 1998;435(1):29-34.

58. Peng H, Libby P, Liao J. Induction and stabilization of IkBa by nitric oxide mediates inhibition of NF-kB. J Biol Chem 1995;270(23):14214-19.

59. Shin W, Hong Y, Peng H, Decaterina R, Libby P, Liao J. Nitric oxide attenuates vascular smooth muscle cell activation by interferon-gamma-the role of constitutive NF-Kappa-B activity. J Biol Chem 1996;271(19):11317-24.

60. Çimsit M. Hiperbarik oksijen kullanım alanları. Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Derg 1984;2:1:8-15.

61. Jain KK. History of Hyperbaric Medicine. In: Jain KK (eds.). Textbook Of Hyperbaric Medicine 3th Ed. Seattle, Toronto, Bern, Göttingen: Hogrefe and Huber Publishers; 1999. p. 2-10.

62. Hamilton-Farrell M, Bryson P, Florio J, Gough-Allen R, Grogan P et al. History and Research. In: Ross JAS. (Eds.). The Training and Education of Hyperbaric Unit Personnel: Report of a Working Party of The British Hyperbaric Association. Aberdeen University of Aberdeen Printing Services 1999. p.41.

63. De Almeida AO. Oxygenio e cancer. Separate dos archivos da fundacao graffree e guinle 1934;1-40.

64. Behnke AR. A brief history of hyperbaric medicine. In: Davis JC, Hunt TK (Eds.). Hyperbaric Oxygen Therapy, Maryland: Undersea Medical Society Inc; 1977. p. 27-31.

65. Kindwall EP. The Physics of Diving and Hyperbaric Pressures. In: Kindwall EP, Whelan HT (eds.). Hyperbaric Medicine Practice 2nd Revised Ed. USA: Best Publishing Company; 2002. p.25-6.

66. Hammarlund C. The Physiologic Effects of Hyperbaric Oxygenation. In: Kindwall EP, Whelan HT (eds.). Hyperbaric Medicine Practice 2nd Revised Ed. USA: Best Publishing Company; 2002. p.37-65.

67. Jain KK. Physical Physiological and Biochemical Aspects of Hyperbaric Oxygenation. In: Jain KK (eds). Textbook Of Hyperbaric Medicine 3th Ed. Seattle, Toronto, Bern, Göttingen: Hogrefe and Huber Publishers; 1999. p.10-28.

68. Tibbles PM, Edelsberg JS. Hyperbaric- oxygen therapy. N Engl J Med 1996;334(25):1642-8.

69. Gabb G, Robin ED. Hyperbaric oxygen A therapy in search of diseases. Chest 1987;92(6):1074-82.

70. Leach RM, Rees PJ, Wilmshurst P. Hyperbaric oxygen therapy. BMJ 1998;317(7166):1140-3.

71. Hiperbarik Oksijen Tedavisi Uygulanan Özel Sağlık Kuruluşları Hakkında Yönetmelik. 01.08.2001 tarih, 24480 sayılı Resmi Gazete.

72. Feldmeier JJ. Hyperbaric Oxygen. Indications and Results. In: Feldmeier JJ (Eds.). The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report UHMS. Kensington, Maryland: 2003. p.87-100.

73. Jain KK. Indications Contraindications and Complications of Hyperbaric Oxygen Therapy. In: Jain KK (eds.). Textbook Of Hyperbaric Medicine 3th Ed. Seattle, Toronto, Bern, Göttingen: Hogrefe and Huber Publishers; 1999. p.73-8.

74. Lowry O, Rosenbraugh N, Farr L, Randall RJ. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J Biol Chem 1951;193(1):265-75.

75. Estebauer H, Cheeseen KH. Oxygen radicals in biological systems. In: Packer C, Glazer AN (Eds.). Methods in enzymology. California: Academic Pres; 1990. p.407-21.

76. Gonçalves A, França WG, Moraes SG. Pereıra LAV, Sbragıa L. Adriamycin-induced fetal hdronephrosis. Int Braz J Urol. 2004;30(6):508-13.

77. Liu MIP, Hutson JM. Ontogeny of bladder agenesis in rats induced by adriamycin. BJU Int 2001;87(6):556-61.

78. Sadovnikoff N, Gelman S. Perioperative renal protection. Curr Opin Anaesthesiol 1999;12(3):337-41.

79. Yu L, Gengaro PE, Niederberger M, Burke TJ, Schrier RW. Nitric oxide: A mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. Proc Natl Acad Sci U S A 1994;1: 91(5):1691-5.

80. Cherla G, Jaimes EA. Role of L-arginine in the pathogenesis and treatment of renal disease. J Nutr 2004;134(10):2801-6.

81. Chintala MS, Chiu PJS, Vemulapalli S, Watkins RW, Sybertz EJ. Inhibition of endothelial derived relaxing factor (EDRF) aggravates ischemic acute renal failure in anesthetized rats. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1993;348(3)**:**305-10.

82. Goligorsky MS, Brodsky SV, Noiri E. Nitric oxide in acute renal failure: NOS versus NOS. Kidney Int 2002;61(3):855-61.

83. Ahn KY, Mohaupt MG, Madsen KM, Kone BC. In situ hybridization localization of mRNA encoding inducible nitric oxide synthase in rat kidney. Am J Physiol 1994;267(36):748-57.

84. Ito S. Nitric oxide in the kidney. Curr Opin Nephrol Hypertension 1995;4(1):23-30.

85. Manucha W. Biochemical-molecular markers in unilateral ureteral obstruction. Biocell 2007;31(1):1-12.

EKLER

Ek 1

T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Oturum Sayısı: 5 **Karar Tarihi: 05.07.2010**

KARAR NO: 2010/05.05

Yürütücülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç.Dr. Ümit Nusret BAŞARAN'ın yaptığı Arş.Gör.Dr. Zafer DÖRTDOĞAN'ın tıpta uzmanlık tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2010/031 protokol nolu "Hiperbarik oksijen tedavisi uygulanan tek taraflı üreter obstrüksiyonu oluşturulmuş sıçanlarda Nitrik Oksit'in rolü" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvani/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☒ var ☐ yok	☒ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☒ evet ☐ hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☒ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☒ evet ☐ hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☐ yok	☐ evet ☐ hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	☐ var ☒ yok	☐ evet ☐ hayır	