

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Prof.Dr.Adnan ABASIYANIK
ANABİLİM DALI BAŞKANI

DENEYSEL VEZİKOÜRETERAL REFLÜDE MELATONİNİN
REFLÜ NEFROPATİSİ ÜZERİNE ETKİSİ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.Adnan ABASIYANIK

Dr. Şenol BİÇER

UZMANLIK TEZİ

KONYA – 2007

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
1. KISALTMALAR	II
2. GİRİŞ VE AMAÇ	1
3. GENEL BİLGİLER	2
3.1. ANATOMİ-HİSTOLOJİ-EMBRYOLOJİ	2
3.2. VEZİKOÜRETERAL REFLÜ	8
3.3. REFLÜ NEFROPATİSİ	14
3.4. MELATONİN	21
4. GEREÇ VE YÖNTEM	26
5. BULGULAR	35
6. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
7. ÖZET	59
8. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	61
9. KAYNAKLAR	63
10. TEŞEKKÜR	71

1. KISALTMALAR

b-FGF	Bazal fibroblast büyüme faktörü
DMSA	Dimerkaptosüksinik asit
DTPA	Dietilentriaminpentaasetik asit
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
GSH	Glutatyon
HIOMT	Hidroksiindol-O-metil transferaz
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
İRR	İntrarenal reflü
İVU	İntravenöz ürografi
LPS	Lipopolisakkarit
MAG-3	Merkaptoasetilglisin
MDA	Malondialdehit
NAT	N-asetil transferaz
NO	Nitrik oksit
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
PG	Prostaglandin
RN	Reflü nefropatisi
TGF-β	Transforming growth faktör- β
TIF	Tübülointerstisyel fibrozis
VUR	Vezikoüreteral reflü

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Veziköüreteral reflü (VUR), mesaneden üst üriner sisteme idrarın geri kaçmasıdır. Çocuklarda VUR görülme olasılığı % 1 civarındadır (1). Tanı ve tedavide yetersiz kalındığında renal skar, hipertansiyon ve sonunda kronik böbrek yetmezliğine yol açmaktadır. Üriner sistem patolojilerinde amaç böbreği korumaktır. Bu nedenle erken tanı ve tedavi modalitesi ile çocuk böbreğinin en iyi şekilde korunması gerekir (2).

VUR'ye bağlı böbrek parankim hasarının etyopatogenezi halen tartışmalıdır. Bu konuda yapılan çalışmalarda enfeksiyon olmadan da renal skar geliştiği gösterilmiştir. Reflü nefropatisi (RN), VUR'ye eşlik eden renal skar olarak tanımlanabilir. RN temelde bir tübülointerstisyel hastalıktır. Böbrek hasarlanmasıyla sonuçlanan bu durum histolojik ve radyolojik olarak tanımlanabilir. Genellikle bu tabloya böbrek fonksiyonlarındaki değişiklikler eşlik etmektedir (3).

Böbrek dokusunda hasar oluşturarak daha sonra skar gelişimine neden olan iki temel etken iskemi-reperfüzyon hasarı ile birlikte fagositoz sırasında degranülasyon ile açığa çıkan serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimlerdir (4). Toksik oksijen radikalleri, hücre membranlarının lipit peroksidasyonuna ve hücre ölümüne neden olur. Malondialdehit (MDA) seviyesi lipit peroksidasyonunun bir göstergesidir ve membranöz yağ asidlerinin oto-oksidasyonunun son ürünüdür (5).

Melatonin, en zararlı radikal olan hidroksil (OH^-) radikalini ortadan kaldıran ve böylece lipit peroksidasyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır (6). Melatonin direkt olarak bir serbest radikal süpürücüsü olarak hem reaktif oksijen hem de reaktif nitrojen radikallerini detoksifiye eder. Ayrıca antioksidan savunma sistemlerinin aktivitesini artırır (7).

Bu çalışmada, melatoninin antioksidan etkisi nedeniyle RN'ni önlemede etkin olup olmadığı araştırıldı.

3. GENEL BİLGİLER

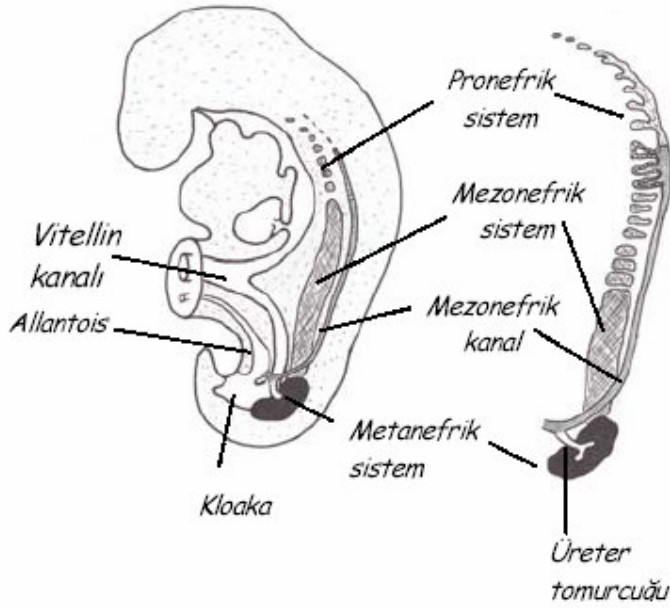
3.1. ANATOMİ – HİSTOLOJİ – EMBRİYOLOJİ

Üriner sistem; idrarı kandan süzen böbrekler, böbreklerin süzdüğü idrarı mesaneye ileten üreterler, bu idrarı içinde biriktiren mesane ve mesanede depolanan idrarı vücuttan dışarı atan üretradan oluşur (8). Gelişimin 16. gününde endodermal kökenli son barsağın (hindgut) kör ucu allantoisin başlangıç noktasının kaudaline doğru genişleyerek kloakayı oluşturur. Kloakayı önündeki dış yüzeyden ektodermal çöküntüde uzanan ve ince bir doku plağı olan kloakal membran ayırır. Gelişimin 4. ve 7. haftaları arasında ürektal septum kloakayı anorektal (posterior parça) ve primitif ürogenital sinüs (anterior parça) olmak üzere ikiye böler. Kloakal membranın kendisi de önde ürogenital membran, arkada da anal membran kalacak şekilde ikiye ayrılır.

Primitif ürogenital sinüs üç bölümden oluşur. Üst ve en büyük parça mesanedir. Başlangıçta mesane allantoisle ilişkilidir. Allantoisin oblitere olmasının ardından geride mesanenin tepesini göbeğe bağlayan urakus adı verilen fibröz bir kordon kalır. Erişkinlerde bu ligament median umbilikal ligament olarak bilinir. İkinci parça daha dar bir segment olan pelvik parçadır. Erkeklerde prostatik ve membranöz üretra buradan gelişir. Son parça ürogenital sinüsün fallik parçası olarak da bilinen kalıcı ürogenital sinüstür.

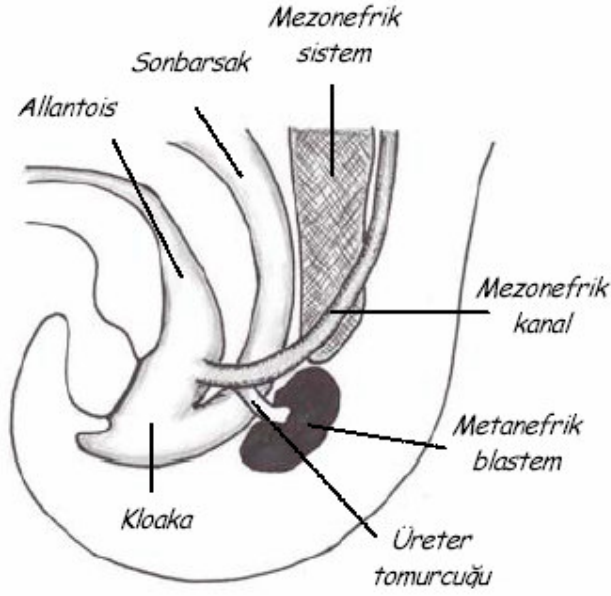
Kloakanın bölünmesi sırasında önceden ürogenital sinüse ağızlaşmış olan mezonefrik kanalların kaudal kısımları mesane duvarı içine doğru emilir. Bu yapıdan mesane tabanı ve trigon oluşur. Başlangıçta mezonefrik kanalların birer çıkıntısı halindeki üreterler ortak boşaltım kanalının emilmesinden sonra 7. haftaya kadar mesaneye ayrı ayrı girerler ve böbreklerin yukarı doğru yükselişinin bir sonucu olarak üreter orifisleri de kraniale doğru kayar.

Üriner sistem, genital sistemle birlikte karın boşluğunun arka duvarında yer alan ortak bir mezodermal kabarıklıktan (intermediate mezoderm) gelişir. Dördüncü haftanın başında intermediate mezoderm somitle ilişkisini kaybeder ve nefrotom olarak bilinen segmental hücre topluluklarını oluşturur. İntermediate mezoderm intrauterin yaşam boyunca kranialden kaudale doğru birbirinden farklı ve kısmen üst üste binecek şekilde pronefroz, mezonefroz ve metanefroz olmak üzere üç böbrek sistemini de peş peşe oluşturur (Şekil 1).



Şekil 1: Pronefroz, mezonefroz, metanefroz (9).

İntrauterin yaşamın erken döneminde kısa süre işlev gören mezonefrozun oluşumu sırasında, 3. üriner organ olan metanefroz yani kalıcı böbrek 5. haftadan itibaren hem intermediate mezodermden hem de mezonefrik duktustan köken alarak belirmeye başlar. Bu sistemin boşaltım birimi metanefrotik mezodermden oluşsa da toplayıcı sistemi diğer iki nefrik sistemden farklı bir yolla mezonefrik duktustan köken alan üreter tomurcuğundan oluşur (Şekil 2)



Şekil 2: 5. hafta sonunda sonbarsak ve kloaka arasındaki ilişki görülmektedir. Üreter tomurcuğu metanefrik mezoderme (blastem) gömülmüştür (9).

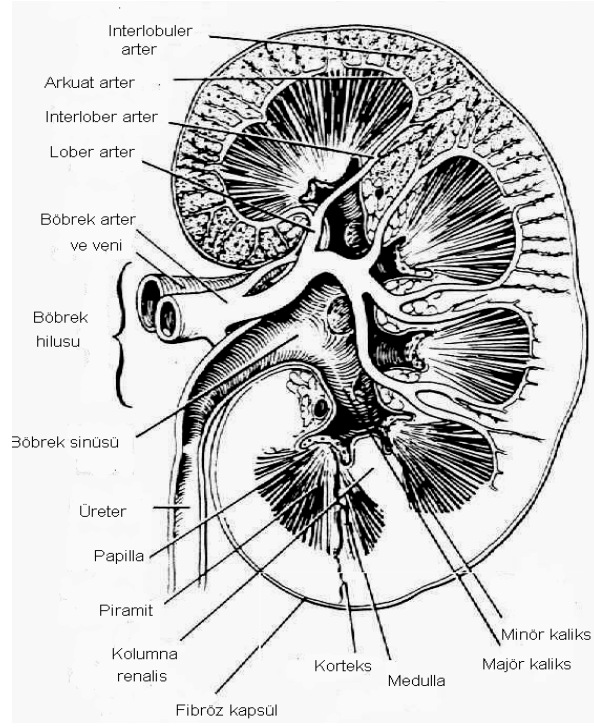
Üreter tomurcuğundan; renal pelvis, major ve minor kaliksler ve sayısı yaklaşık 1-3 milyon arasında olan toplayıcı tübül gelişir. Üreter tomurcuğu ve mezonefrik kanal arasındaki ilişki üreteral orifislerle ilgili konjenital anomalilerin çoğunun mekanizmasını açıklar. Üreter tomurcuğunun mezonefrik sistemin daha kaudalinden yani ürogenital sinüse daha yakın bir noktadan çıkması primer VUR ile sonuçlanır ve ortak boşaltım kanalının daha kısa olmasına yol açar. Bu kısa ortak kanalın ürogenital sinüse emilmesiyle üreterin de mezonefrik kanaldan ayrıldıktan sonra daha kraniale ve laterale migrasyonuna yol açar. Böylece daha geniş bir trigon oluşur ve trigonal yapı daha kısa bir ortak kanalın emilmesiyle olduğundan daha az mezenkim içermektedir. Sonuçta normal lokalizasyona göre daha lateral ve superiorda yerleşik, trigona fiksasyonu iyi olmayan ve bundan dolayı kısa bir submukozal tünele sahip üreteral orifisler oluşur (2).

Böbrekler karın arka duvarının en üst kısmında ve kolumna vertebralisin her iki yanında bulunurlar. Böbreklerin her tarafını gevşek bağ dokusu ve yağ dokusu sarar. Ön yüzünü periton örter. Üst kutbu 11. torakal vertebranın üst kenarı, alt kutbu ise 3. lumbal vertebra seviyesinde bulunur. Karın boşluğunun sağ üst kutbunda karaciğerin bulunması nedeniyle, sağ böbrek soldakine oranla biraz daha aşağıda yerleşmiştir.

Böbrekler metabolizma sonucu oluşan artık ürünlerin ve fazla suyun dışarıya atılmasında önemli rol oynar. Bu nedenle vücudun elektrolit ve su dengesini ayarlar. Dolaylı olarak kan basıncı üzerinde de etkili olur.

Böbreği besleyen renal arterler her iki tarafta 1. ve 2. lumbal vertebralar arasındaki discus intervertebralis hizasında dik açı ile aortadan ayrılır. Renal venler ise v.cava inferiora açılır. Sempatik sinir lifleri n.splanchnicus imus ve truncus sympathicusun lumbal bölümünden, parasempatik lifleri ise n. vagustan gelir. Bu lifler önce plexus coeliacus, daha sonra a. renalis etrafındaki plexus renalis aracılığı ile böbreğe gelir (8).

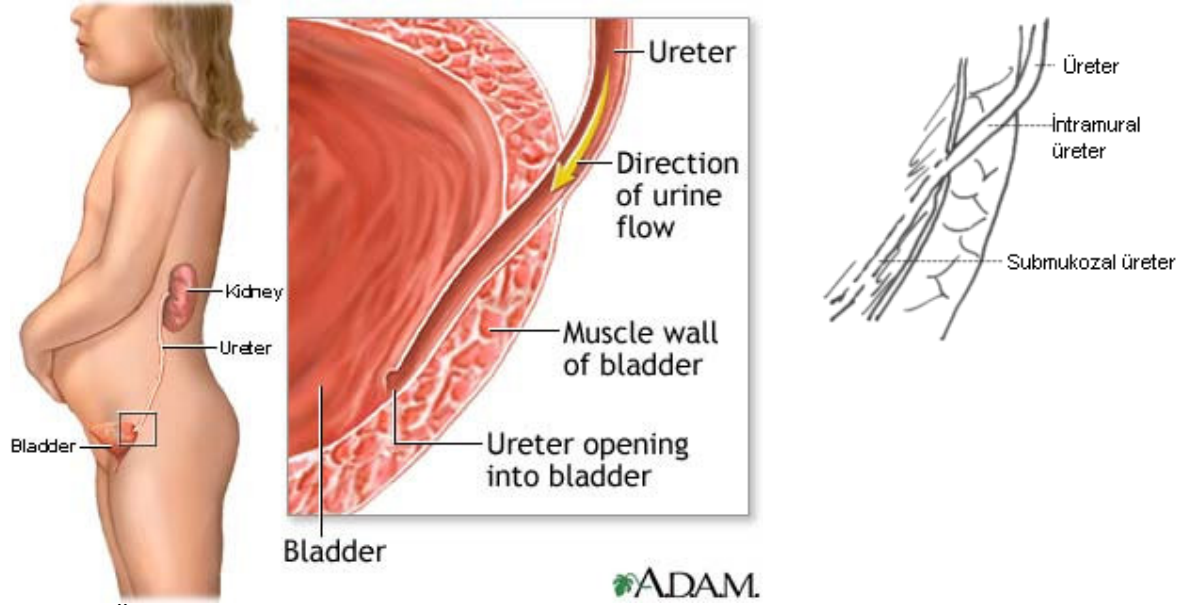
Böbrek dışta korteks ve içte medulla olmak üzere iki bölüme ayrılır. Renal medulla 10-18 adet konik ya da piramidal şekilli yapılardan oluşur. Bunlar medüller piramitler adını alır. Her bir medüller piramidin tabanından kortekse doğru uzanan birbirine paralel tübül demetleri ve medüller ışınlar çıkar. Her medüller ışın, böbreğin fonksiyon gören birimleri olan birkaç nefron grubunun düz kısımları ile birlikte bir ya da daha çok sayıda toplayıcı kanallardan oluşur (Şekil 3). Her böbrek 1 – 4 milyon nefron içerir. Her nefron; genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik, proksimal kıvrımlı tübül, henle lupunun ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrımlı tübülden oluşur (10).



Şekil 3: Böbreğin sagittal görünümü (11).

Üreterler tübüler müsküler bir yapıda olup, böbrekten başlayarak mesane arka yüzüne kadar uzanır. Üreter, mesane duvarına girdikten sonra burada yaklaşık 2 cm oblik olarak ilerler. Mesanenin iç yüzündeki trigonun dış köşesinde bulunan yarık şeklindeki ostium ureteris aracılığı ile mesaneye açılır. Tunica adventitia, tunica muscularis ve tunica mucosa olmak üzere üç tabakadan oluşur. Üreterler a.renalis, a.testicularis (ovarica) ve abdominal aortadan gelen dallardan beslenir.

Mesane (vesica urinaria), böbreğin süzdüğü idrarı içinde bir süre depolayan ve dışarıya atılmasını sağlayan kas ve zarlardan yapılmış bir kesedir. Tunica serosa, tunica muscularis, tela submucosa ve tunica mucosa olmak üzere 4 tabakadan oluşur. A. iliaca internanın dalları olan a. vesicalis superior ve a. vesicalis inferiordan beslenir. Venleri vena iliaca internaya dökülür. Kaliksler, renal pelvis, üreter ve mesanenin histolojik yapısı aynıdır. Bu organların mukozası çok katlı değişken epitel ve gevşekten tıktıra doğru değişen bağ dokusunun yaptığı lamina propriadan oluşur (8).



Şekil 4: Üreterin mesaneye girişi ve üreterovezikal bileşke (12-13).

Üreterler idrar iletimini peristaltik kasılma ile sağlar. Renal kalikslerin, renal pelvisin ve ekstrevezikal üreterin düz kas yapısı peristaltik aktivite oluşturacak yapıdadır. Bunu helikal olarak yapılanmış kas fibrilleri sağlar. Bu fibriller mesaneye yaklaşırken longitudinal olarak tekrar organize olurlar. Üreter mesane duvarını oblik olarak geçer ve bu nedenle intravezikal üreter, peristaltik özelliği olmayan longitudinal kas liflerinden oluşur (Şekil 4). Bu düz kas lifleri diğer üreterden gelen liflerle birleşip kaudale doğru devam ederek mesane boynunu geçerler. Kızlarda eksternal üretral meanın hemen iç tarafında erkeklerde ise verumontanumda son bulurlar. Oluşan bu yapıya yüzeyel trigon denir.

Normalde üreter 3 kas tabakasından oluşurken, distal üreterin mesaneye 2-4 cm yakın bölümünde, sirküler ve oblik seyreden kas liflerinde longitudinal dönüşüm olur. Bu üreter segmentinde üreterin sadece longitudinal kas liflerinden oluştuğu gözlenir. Bu bölüm histolojik olarak incelendiğinde fibromusküler yapıda olduğundan buna fibromusküler kılıf veya bunu tanımlayanın ismiyle Waldeyer kılıfı olarak adlandırılır. Waldeyer kılıfı mesane içerisinde tübüler yapısı düzleşerek bir kısım detrüsör lifleriyle birleşir. Bu değişiklikler diğer üreterde de oluşur ve iki yapı mesane tabanında birleşerek uç kısmı mesane boynuna uzanan

üçgen şeklinde (musküler ve fibrokollagen doku) sonlanır. Bu üçgen şeklindeki yapıya derin trigon denir (2).

3.2. VEZİKÖRETERAL REFLÜ

Veziköreteral reflü (VUR), mesaneden üst üriner sisteme anormal idrar akımıdır. Reflü ilk olarak ortaçağda Galen ve Leonardo da Vinci tarafından tanımlanmıştır. Semblino ilk deneysel reflüyü 1883'te oluşturdu. İnsanlarda reflü 1893'te ilk kez Pozzi tarafından gösterildi. 1898'de Young ve Wesson normal üreterovezikal bileşkeye sahip çocuklarda VUR oluşmayacağını vurguladı. Sampson, 1903'te üreterin mesaneye normal oblik girişi ile reflünün önlendiğini gösterdi. Tanagho ve arkadaşları 1965'te köpeklerde trigonal kas oluşumunun insizyonu ile deneysel reflü oluşturdu. Ransley ve Risdon 1975'te domuzlarda submukozal tünelin rezeksiyonu ile VUR oluştuğunu gösterdi (1).

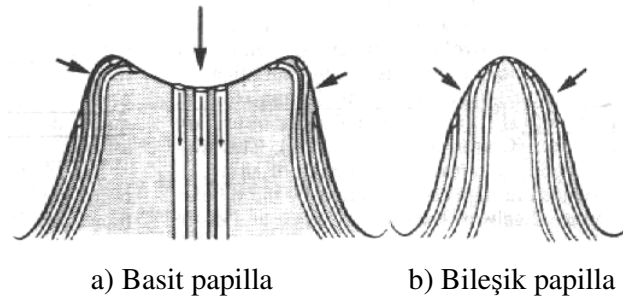
VUR görülme olasılığı sağlıklı çocuklarda %1'den azdır. Irk ve ülkeye göre değişiklik gösterir. Manley reflünün açık tenli, sarışın ve mavi gözlü çocuklarda daha sık görüldüğünü ileri sürmüştür. Askari ve Belman üriner enfeksiyon geçiren beyaz kızlarda, siyahlara göre daha fazla görüldüğünü rapor etmiştir (1). Üriner enfeksiyonu olanlarda reflü görülme oranı % 20 ile 50 arasında değişir. Kızlar predominanttır. Reflülü çocukların sadece % 14'ü erkektir. VUR'lü bir çocuğun kardeşinde reflü görülme olasılığı % 30'dur (14).

Klinisyen açısından bakıldığında VUR'lü olgularda üriner enfeksiyon ve RN bir risk faktörüdür. Ancak VUR eşittir idrar yolu enfeksiyonu veya böbrek hasarı şeklinde bir denklemin kurulması da doğru değildir. Son yıllarda VUR'nün işeme bozukluklarıyla çok yakından ilişkili olduğu ve idrar yolu enfeksiyonunun ortaya çıkışında reflüden ziyade disfonksiyonel işeme paternlerinin daha fazla rolünün olduğu anlaşılmıştır (15).

Fizyopatolojisi:

Üreteral embriyogenezisteki anomaliler antireflü mekanizmasını bozarak VUR, inkomplet mesane boşalması, üriner staz ve enfeksiyona yol açar (16). VUR oluşumunda çeşitli mekanizmalar rol oynamaktadır. Kısa üreteral tünel nedeniyle dolu mesanenin üreteri baskılama yeteneği kaybolur. Sonuçta reflü kolaylaşır. Yüksek mesane basıncı, normal üreteral tünel varlığında bile VUR'ye neden olabilir. Üreteral tünelin zayıf zemini ayrıca üreterovezikal direnci azaltır. Bu durum genellikle nörovezikal disfonksiyon veya paraüreteral divertikül ile birlikte görülür.

Böbrekte bulunan basit papillalara toplayıcı kanallar normalde oblik olarak girerler. Bu şekilde intrarenal reflü (İRR) önlenmiş olur. Bileşik papillalara ise toplayıcı kanalların dik olarak girişi İRR'ye neden olur. Bileşik papillaların böbreğin üst ve alt polünde daha fazla olması bu bölgelerin pyelonefritik skara predispoze olmasının nedenini daha iyi açıklar (Şekil 5). İRR daha sonradan da ortaya çıkabilir. Hidronefroz, yüksek intravezikal basınç veya enfeksiyonun yol açtığı kronik hasar, papiller distorsiyon veya İRR ile sonuçlanabilir (14).



Şekil 5: Basit ve bileşik papilla (17).

Sınıflandırma:

Trigonun zayıflamasına ve intravezikal üreterin kısılmasına neden olan durumlar sıklıkla konjenital VUR'ye yol açar (primer reflü). Obstrüksiyon, nöropatik veya iatrojenik nedenlerle de reflü oluşabilir (sekonder reflü).

Primer (konjenital) reflü : Embriyolojik gelişim sırasında üreterotrigonal birleşimin hatalı gelişimi (submukozal tünelin kısalığı ya da olmayışı ve üreterin bu parçasının longitudinal kaslarında zayıflık) sonucu oluşan anatomik yapının yani yetersiz valvüler mekanizmanın neden olduğu reflüye primer reflü denir.

Sekonder reflü: Mesane obstrüksiyonu ve bunun sonucunda oluşan yüksek intravezikal basınç nedeniyle oluşan reflüye sekonder reflü denir.

Nedenleri:

- 1) Nöropatik mesane
- 2) Posterior üretral valv
- 3) Ektopik üreter
- 4) Prune Belly sendromu
- 5) İatrojenik nedenler

Reflünün Derecelendirilmesi:

International Collaborative Study on Reflux tarafından önerilen sınıflama ülkemizde de yaygın kabul görmüştür.

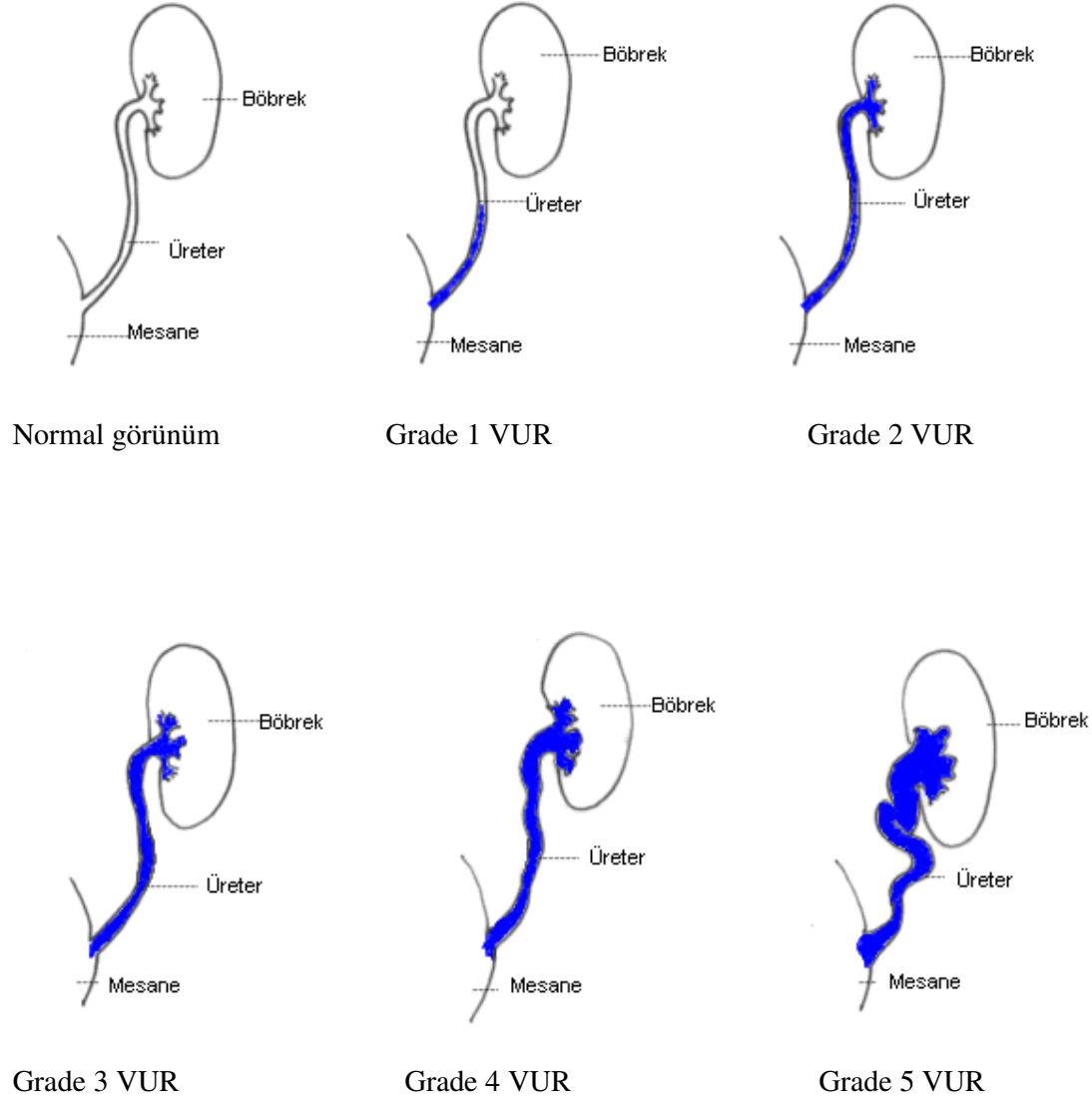
Grade 1: Sadece üretere reflü vardır.

Grade 2: Üreter, pelvis ve kalikslere kadar reflü vardır. Ancak üreter veya pelviste dilatasyon yoktur ve kaliksiyel forniksler normaldir.

Grade 3: Üreter ve pelviste hafif veya orta dereceli dilatasyon ve/veya tortuosite mevcuttur. Fakat kaliksiyel forniksler normaldir veya hafif küntleşme vardır.

Grade 4: Orta derecede üreteral dilatasyon ve/veya tortuosite ve renal pelviste orta derecede dilatasyona ilaveten kalikslerde tam düzleşme vardır. Ancak papilla izleri kaybolmamıştır.

Grade 5: Üreterin gros dilatasyonu ve tortuositesi yanısıra renal pelvis ve kalikslerde de gros dilatasyon ve kalikslerin çoğunda papilla izleri kaybolacak kadar silinme vardır (Şekil 6).



Şekil 6: Vezikoureteral reflünün derecelendirilmesi (9).

Tam Yöntemleri:

1) Anamnez:

* VUR'ye ait spesifik semptom yoktur. Üriner enfeksiyon ile beraber ateş, halsizlik, iştahsızlık, bulantı, kusma, büyüme ve gelişme geriliği görülebilir.

* İşeme alışkanlığı, tuvalet eğitimi durumu ve idrar kaçırma şikayetleri sorgulanmalıdır.

* Barsak alışkanlıklarında değişiklik meydana gelebilir.

* Ailesel hikayesi olabilir.

2) Fizik Muayene:

* Boy, kilo ve kan basıncı ölçümü yapılır.

* Karında kitle hissi veren böbrek boyutlarında artma ve dolu mesane gibi durumlar açısından değerlendirme yapılır.

* Genital organlar ve perine dikkatle incelenir.

* Konjenital sakral anomaliler açısından bel ve sırt bölgesi kontrol edilir.

3) Laboratuvar Bulguları:

* İdrar analizi ve gerekirse idrar kültürü

4) Görüntüleme Yöntemleri:

a) Renal ultrasonografi

b) Voiding sistoüretrografi

c) İntravenöz pyelografi

d) Sintigrafik çalışmalar (DMSA, DTPA, MAG-3, Radyonüklid voiding sistoüretrografi)

e) Ürodinamik değerlendirme

f) Sistoskopi

Tedavi:

Tedavinin amacı renal parankimal hasarı ve VUR'nün diğer komplikasyonlarını önlemektir.

1) Medikal Tedavi:

Çocuğun büyüme gelişmesiyle birçok VUR'nün spontan iyileşebildiği göz önüne alınarak özellikle erken yaşlarda ve düşük dereceli VUR'lerde profilaktik antibiyotik ile böbreklerin koruma altına alınması bu tedavi şeklinin ana fikridir. Mesane disfonksiyonu varsa profilaksiye antikolinerjik veya antispazmodiklerin de katılması önemlidir. Profilaksi için Trimetoprim 2 mg/kg/gün veya Furantoin 2 mg/kg/gün dozlarında kullanılır.

2) Cerrahi Tedavi:

- a) Endoskopik tedavi
- b) Açık cerrahi

Cerrahi tedavide amaç mesane içerisinde yeterli uzunlukta submukozal tünel oluşturmaktır. Bunun için mesane içi ve mesane dışından uygulanan değişik teknikler kullanılmaktadır (18).

Cerrahi tedavinin kesin endikasyonları:

- 1) Hastanın medikal tedaviye uyum sağlayamaması veya profilaksiye rağmen tekrarlayan üst üriner sistem enfeksiyonlarının gelişmesi.
- 2) Ciddi reflü (Grade 5 veya bilateral grade 4 reflü).
- 3) Renal gelişimin yetersizliği, yeni skarların ortaya çıkması ya da renal fonksiyonların kötüleşmesi.
- 4) Reflü saptanan üreterlerin mesanede bir divertikül içine açılması ya da reflüye obstrüksiyonun eşlik etmesi.

VUR'nün komplikasyonları:

- * Renal skar
- * Hipertansiyon
- * Böbrek gelişiminin bozulması
- * Vücut gelişiminin etkilenmesi
- * Böbrek yetmezliği

3.3. REFLÜ NEFROPATİSİ

VUR'nün en önemli sonucu, enfekte idrarın mesaneden böbreklere kaçması ve İRR yoluyla böbrek parankiminde kalıcı hasarlara (böbrek skarlaşmasına) yol açmasıdır. İlk kez 1973'te Bailey'in sözünü ettiği reflü nefropatisi (RN), VUR sonucu böbrek içine girmiş veya birikmiş idrarın Bellini kanallarından böbrek parankimi içine girmesi ile böbreklerde meydana gelen kalikseal küntleşmeyi ve parankimal harabiyeti tanımlar. VUR'ye bağlı parankim hasarı fokal skarlar halinde ya da böbreğin gelişmesini engelleyecek ve atrofiye olmasına neden olacak kadar yaygın olabilir (15).

VUR'sü olan çocukların % 35-60'ında hastalık teşhis edildiği anda, böbrek parankiminde kalıcı zedelenmeye ait radyolojik bulgular mevcuttur. Ancak, son 10-15 yıl içinde idrar yolu enfeksiyonlarına yaklaşım algoritmasındaki değişiklik, pyelonefritin erken ve uygun tedavisi ile birlikte VUR konusundaki bilgi birikimi sayesinde, ilk tanı sırasında böbrekteki skarlaşma insidansı % 12'ye kadar düşmüştür (15).

Arant 1992'de hafif ve orta dereceli VUR'de bile renal hasar oluştuğunu göstermiştir. Bebek ve 5 yaşından küçük çocukların 5 yıllık takiplerinde grade 1 ve 2 reflüde % 10, grade 3 reflüde ise % 28 oranında renal skar oluştuğu belirlenmiştir. Reflülü hastaların çoğunda renal skar erken yaşta görülmesine rağmen, skar oluşumu küçük çocuklarla sınırlı değildir. Smellie ve arkadaşları 1985'te 5 yaşından büyük çocuklarda renal skar gelişme oranının %39

olduğunu rapor etmişlerdir. Bu hastaların çoğunda üriner enfeksiyon tedavisine geç başlanmıştır (1).

Hastaların gelecekteki renal fonksiyonlarını belirlemede en önemli faktör olan renal skar derecesine göre değerlendirme Smellie ve arkadaşları tarafından 1975 yılında önerilmiştir (19). Daha sonra radyonüklid renal sintigrafi ile benzer bir sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre;

- A) (grade 1); Normal parankim bölgesinde 2'den az skar var.
- B) (grade 2); Normal parankim bölgesi arasında 2'den fazla skar var.
- C) (grade 3); Obstruktif üropatide olduğu gibi tüm böbrekte yaygın hasar mevcut.
- D) (grade 4); %10'dan daha düşük fonksiyona sahip olan son dönem böbrek yetmezliğindeki kontrakte böbrek söz konusudur (20).

Renal skarlı çocukların % 97'sinde VUR'ye ait bulguların saptanması, VUR ile renal skar gelişimi arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermektedir. VUR'lü çocuklarda skar gelişimini izah eden mevcut görüşler ikiye ayrılabilir. Birincisi renal skar gelişimi için VUR ile birlikte enfeksiyonun da olması gerektiğidir. İkinci görüş enfeksiyon olmasa bile reflü ve İRR sonucunda böbrekte interstisyuma kaçan idrarın reflü nefropatisine yol açabileceği şeklindedir(2).

Ransley ve Risdon VUR ve enfeksiyonla birlikte renal papillaların yapısının da önemli olduğunu vurgulamışlardır (2). Bileşik papillalar birden çok lobu drene eder ve toplayıcı kanal orifisleri minör kalikslere dik açıyla ağzlaşır. Bu yapısı nedeniyle, intrapelvik basınç artışlarında kanal ağzları açık kalmaya devam eder. Bileşik papillalarda İRR oluşması için gereken intrapelvik kritik basınç 35 mm Hg'dır. Basit papillalar ise, böbreğin orta kesimlerinde yer almakta ve konveks yapıları sayesinde toplayıcı kanalların orifisleri minör kalikslere oblik şekilde açılmakta ve yüksek basınç karşısında kapanabilmektedir. Basit papillalar yoluyla İRR oluşabilmesi için çok daha yüksek bir intrapelvik basınca ihtiyaç

vardır (15). Özellikle böbreğin üst ve alt kutuplarındaki papillaların birleşmiş ve düzleşmiş bir yapıda olması nedeni ile İRR'ye yol açtığı hayvan deneylerinde ve yenidoğanlardaki otopsi çalışmalarında gösterilmiştir (2).

VUR'ye bağlı olarak ortaya çıkan böbrek skarının iki ana nedeni vardır. Birinci neden pyelonefrit atakları, yani enfekte idrarın İRR'südür. Bu nedenle VUR'de tıbbi tedavinin amacı, idrarın steril halde tutulabilmesi ve kontamine idrarın böbreğe çıkmasının engellenmesidir. İkinci neden ise steril idrarın İRR'südür. Bazı yazarlar böbrek parankim hasarında en önemli rolü enfeksiyondan ziyade tek başına İRR'nün oynadığı ve VUR'de steril idrarın da İRR ile parankim hasarına yol açabildiğini savunurlar. Bunun kanıtı olarak da, antenatal dönemde obstrüktif üropati veya primer VUR tespit edilmiş yenidoğanların % 30'unda parankim hasarının saptanması ve bu dönemde idrarın steril olması nedeniyle parankim hasarının sadece basınç yüksekliğinden kaynaklanabileceği düşünülür. Üriner sistem basıncının çok yükseldiği mesane boynu obstrüksiyonu, nörovezikal disfonksiyon, üreteröreterik ve üreteropelvik obstrüksiyonlarda steril idrar renal parankim hasarına yol açabilmektedir (15).

VUR'nün derecesi ile renal parankim hasarı arasında doğru orantılı bir ilişkinin bulunduğunu ifade eden çok sayıda çalışma vardır. Yaş ortalaması 3,5 olan 392 olguluk bir seride 5. derece reflüde skarlaşma oranı % 85, 4. derecede % 64, 3. derecede % 25 ve 2. derecede % 14 olarak bulunmuştur.

VUR ile böbrek skarları arasındaki ilişki cinsiyet ve ırka göre de farklılıklar göstermektedir. VUR'sü olan erkek çocuklarda böbrek skarları kızlardan iki kat daha sık (% 20-22 ye karşılık % 12) görülür. Ancak bu farkın erkek çocuklarında daha yüksek dereceli reflü görülmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Siyah ırka mensup asemptomatik çocuklarda ise reflüye bağlı böbrek skarı hemen hemen hiç görülmemektedir. Semptomatik enfeksiyon geçiren siyah çocuklarda ise böbrek skarlaşması sıklığı bunun tam

tersine beyazlara göre iki misli daha fazladır (% 23'e % 13). Tedavinin gecikmesi veya profilaktik antibiyotiklerin düzenli kullanılmaması da böbrek skarlaşma sıklığını artıran faktörlerdir.

Reflüsü olan çocuğun ilk pyelonefrit atağını geçirdiği yaş da böbrek hasarı bakımından önemlidir. Böbrek skarı gelişme sıklığı, 5 yaşından önce pyelonefrit atağı geçiren çocuklarda büyük çocuklara göre daha yüksektir. Ransley ve Risdon'un öne sürdükleri big bang teorisine göre de, renal harabiyetin derecesi daha ilk pyelonefrit atağında belirlenmekte ve 5 yaştan sonra yeni skar görülme olasılığı azalmaktadır. Big bang teorisine göre, reflünün varlığı ile birlikte oluşan pyelonefrit atağında tüm İRR'ye hassas olan nefronlar enfekte olmakta, nedbeleşen doku nedeniyle de burada bir daha İRR görülmemektedir. Bu noktada etkili olduğu sanılan faktörler; immün sistemin küçük yaşlarda yetersiz olması, bileşik papillaların çok düşük intrapelvik basınç değerlerinde dahi İRR'ye izin vermesi ve bu yaşlarda görülen instabl mesane kontraksiyonlarının renal pelvis basıncını artırmasıdır. Beş yaşından sonra reflü devam etse bile yeni skar oluşma olasılığı düşüktür. Yetişkinlerdeki üriner enfeksiyonların sadece % 5'i VUR'ye bağlıdır. Görüldüğü gibi yaşın azalmasına paralel olarak üriner enfeksiyon nedeninin VUR'ye bağlı olma olasılığı artmaktadır (15).

Üriner enfeksiyonun VUR ile renal skar oluşturması birkaç mekanizma ile olabilir.

- * Bakteriden ortaya çıkan böbrek tübülünü doğrudan etkileyen bir endotoksinle
- * Kemotaksisle
- * Enflamatuar yanıt sırasında endotoksin, kemotaksisle fagositoza yol açan kompleman aktivasyonu ile renal skar oluşabilir.

RN'nde immün sistem ve enflamatuar cevabı regüle eden sitokinlerin rolü araştırılmış ve reflü nefropatisinin immunolojik bir temeli olabileceği bildirilmiştir(2). Değişik çalışmalarda böbrek parankim hasarının enfekte idrar ile oluşan reflüde daha fazla geliştiği gösterilmiştir. E.coli pyelonefritin en sık nedenidir. E.Coli P-fimbriyası ile VUR olmadan da pyelonefrite

sebepe olabilir. Ayrıca Lipit A üreteral peristaltik aktiviteyi inhibe eder. Akut enflamatuar cevap fagositozun respiratuar patlaması sonucu renal hasar yapabilir. Süperoksit dismutaz veya kortikosteroidler ile tedavi sonucunda enflamatuar cevabın iyileşmesi renal hasar modelinde gösterilmiştir(21). Deneysel olarak iskemik hasar, bir ksantin oksidaz inhibitörü olan allopurinol tarafından önlenir. Bir çalışmada üriner enfeksiyon olmadan da renal skar gelişebileceği, ancak enfeksiyon varlığında serbest oksijen radikal hasarının RN'nde önemli rol oynadığı belirtilmiştir(5).

Bakteriyel virulans faktörleri bakterinin cinsine göre değişiklik arz eder. Fimbriya gibi bakteriyel uzantılar, üriner sistemdeki epitelde hücre reseptörleri ile etkileşir ve bakteriyel adezyonu artırır. Endotoksin üreteral peristaltizmi inhibe edebilir ve enfeksiyonun üst üriner sisteme geçmesine sebep olur. Bakterinin renal parankime inokülasyonu sonucu enflamatuar mediatörler salınır ve akut enflamatuar cevap oluşur. Bunu renal parankim hasarı izler.

Üriner enfeksiyon yokluğunda da yüksek intravezikal basınç renal parankim hasarı yapabilir. Bundan özellikle gelişmekte olan böbrekler etkilenir. Yüksek intrapelvik basınçla oluşan renal tübül distansiyon, renal tübül epitelinde hasara neden olur. Çevredeki peritübül kapiller ağın kompresyonu iskemi oluşturabilir. İşeme esnasındaki yüksek intravezikal basınç, renal pelvis ve renal tübüle iletilir. Bu geçici basınç yükselmesi tübül bozulmaya neden olur. Çevre parankim içine idrarın ekstrasvazasyonu interstisyel nefrit ve renal hasarın artması ile sonuçlanır (16).

Bir doku iskemiye maruz kaldığı zaman, hücre fonksiyonunda bozulmadan başlayıp nekroza kadar giden bir dizi kimyasal reaksiyon oluşur. İskemik dokunun kurtarılabilmesi için kan akımının yeniden sağlanması gerekmektedir. Bununla birlikte iskemik dokunun yeniden kanlanmasıyla, daha fazla doku hasarına yol açan olaylar zinciri oluşur ki buna da reperfüzyon hasarı denir (22). Reperfüzyonun oluşturduğu hasar tek başına iskeminin oluşturduğu hasardan daha fazladır (23).

İskemi sonrası ksantin dehidrogenaz enziminin de rol oynadığı bir dizi reaksiyonlar ile birlikte serbest radikaller ortaya çıkar. Hipoksi esnasında bu enzim hızla geri dönüşümü olmayan bir mekanizma ile ksantin oksidaza dönüşür. Ksantin oksidaz, elektronlarını oksijene transfer ederek çok fazla miktarda süperoksit oluşturur. Bu değişim hücre içi kalsiyum miktarı arttığında enzimin proteolizi sonucu olur ve 30 saniyelik bir iskemi sonrasında bile süperoksit radikali oluşabilir (24,25).

Serbest radikaller, nötrofilleri enfeksiyona veya doku hasarı olan bölgeye yönlendiren kemotaktik ajanları üretmek için oluşan plazma faktörü ile reaksiyona girerek aktif enflamatuar cevap oluşumunda önemli rol oynarlar. Enflamatuar olay sırasında aktive olmuş fagositik hücreler de bakterileri öldürmek için serbest oksijen radikalleri üretirler. Bu radikaller enfeksiyona bağlı doku hasarında rol oynarlar (26,27). Serbest radikaller bir veya birkaç elektron kazanmış bir iyon, atom veya molekül olabilir. Serbest radikaller endojen olarak mitokondrilerde, oksidatif fosforilizasyon esnasında araziidonik asitten tromboksan, prostaglandin ve lökotrienlerin oluşumunda, yabancı maddeler ve vücudun kendi substratlarının metabolizması sırasında, enflamatuar reaksiyonlarda makrofajlar ve granülositlerden açığa çıkmaktadır (28,29).

Serbest oksijen radikalleri bir molekülle reaksiyona girdikleri zaman onu da serbest radikale dönüştürürler. Böylelikle sonuçta ortamda fazla miktarda serbest radikal oluşur (30-32). Bu olay zincirleme bir lipit peroksidasyonunu başlatmaktadır. Lipit peroksidasyonu, hücre membranında bulunan uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından peroksitler, alkoller, hidroksi yağ asitleri, etan, pentan ve malondialdehit (MDA) gibi çeşitli son ürünlere yıkılmasıdır. Bu maddeler damar geçirgenliğini artırarak, ödem ve enflamasyona neden olurlar (30,33,34).

Bütün bu olayların sonucunda membran permeabilitesinde ve rijiditesinde artma, fosfolipit organizasyonunda değişiklik, lipitlerin yağda çözünürlüğünde azalma meydana gelir ve

hücre membran bütünlüğü bozulur. Serbest oksijen radikalleri lipit peroksidasyonundan başka, DNA nükleotidlerinde hasar oluşumu, protein moleküllerinin denaturasyonu, hücre içi reseptör fonksiyonlarının bozulması gibi bir dizi reaksiyona da neden olurlar. İnsan vücudunda sürekli olarak oluşan ve ortadan kaldırılan serbest oksijen radikalleri her çeşit dokuda hücre hasarına neden olmaktadır. İnce barsak, kalp, böbrek, karaciğer ve mide gibi organlarda yapılan değişik çalışmalarda bu hasar gösterilmiştir (30).

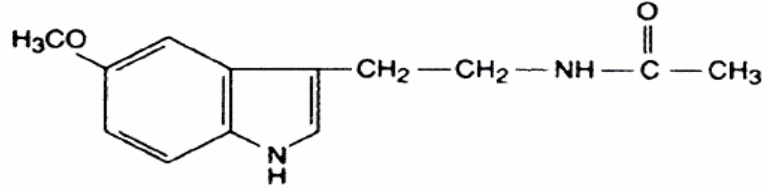
Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu doku hasarının tespitinde, lipit peroksidasyonu ile oluşan ürünlerin tiobarbitürik asit ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan MDA'in ölçülmesi güvenli bir metoddur (35).

VUR'lü hastalarda ilk bozulan tübüler fonksiyonlardır. Önce böbreğin konsantrasyon yeteneği bozulur. Bu değişiklikte hem tübülüslerdeki reflü sebebiyle oluşan basınç yüksekliğinin hem de enfeksiyonun rolü vardır. Glomerüler fonksiyon, parankimal hasar (skar) olmadıkça etkilenmez. Skar açısından son yıllarda yaygın olarak kullanılan DMSA renal sintigrafisi en güvenilir ve hassas bir yöntemdir (2).

3.4. MELATONİN

İlk kez 1958 yılında Aaron Lerner ve arkadaşları, pineal bezden salgılanan ve melatonin adı verilen bir hormonun varlığına dikkati çekmiştir (36). Pineal bezden iki grup endojen madde salgılanmaktadır. Bunlar indolaminler ve peptidlerdir. İndolaminlerin en önemlisi 232 molekül ağırlıklı melatonin olarak bilinen N-asetil-5metoksitriptamindir (37) (Şekil 7).

Bugün melatoninin sirkadiyan ritimler, uyku, ruhsal durum, mevsimsel üreme fizyolojisi ve üreme davranışlarında ve retinal fizyolojide güçlü bir biyolojik modülatör olduğu bilinmektedir. Ek olarak yaşlanma ve yaşla ilgili süreçlerde olumlu etkiler gösterdiği ve güçlü bir antioksidan madde olduğu gösterilmiştir (38).

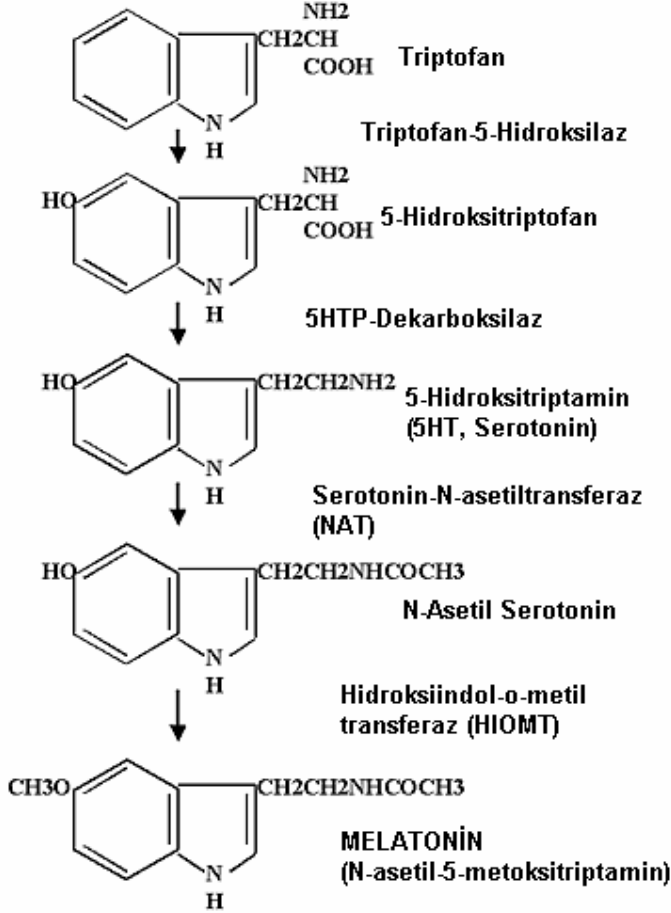


Şekil 7: Melatoninin kimyasal yapısı

Melatonin Sentezi ve Salınımı:

Melatonin pineal bez tarafından plazmadan alınır. Bir indol aminoasidi olan triptofan'dan sentez edilir (Şekil 8). Triptofan esansiyel bir aminoasid olup, besinlerle dışarıdan alınması gerekir (39). Pineal bez ile sistemik dolaşım arasında kan-beyin bariyeri bulunmadığı için kandaki triptofan pinealositlere kolayca ulaşabilmektedir (40). Dışardan triptofan verilmesi, dolaşımdaki melatonin düzeyini artırır. Hücre içerisine alınan triptofanın büyük bir kısmı indol metabolizmasında, küçük bir kısmı ise protein sentezinde kullanılır. Triptofan, pinealositlerde, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofan'a hidroksillenir. Ardından 5-hidroksitriptofan, aromatik-L-aminoasid dekarboksilaz (dopa dekarboksilaz) ile 5-hidroksitriptamin (serotonin)'e dekarboksillenir. Serotonin, N-asetil transferaz (NAT) enzimi

ile N-asetil serotonin'e ve bu da, hidroksiindol-0-metil transferaz (HIOMT) etkisi ile melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin)'e dönüşür (41).



Şekil 7: Melatonin sentezi

NAT, melatonin üretiminde hız sınırlayıcı bir enzimdir ve salınımı endojen olarak gün içi ritim gösterir ve daima geceleri yükselir. Işıkla birlikte cAMP ve NAT düzeyinde düşme gözlenir (42).

Pinealositlerde üretilen melatonin, çok hızlı bir şekilde bu hücrelerin çevresinde yer alan kapillerlere verilerek sistemik kan dolaşımına karışmaktadır. Lipofilik özelliği nedeniyle melatonin vücutta tüm doku ve sıvılara kolayca dağılmaktadır. Pineal bezde kan-beyin

bariyeri bulunmadığı için salgılanan melatonin direkt olarak sistemik kan dolaşımı ve serebrospinal sıvı içine karışmaktadır (40).

Melatonin Metabolizması:

Melatoninin yaklaşık % 70'i plazmada albumine bağlı olarak taşınır. Çoğu karaciğerde olmak üzere karaciğer ve böbrekte metabolize edilir. Melatonin karaciğerde mikrozomal enzimler tarafından 6-hidroksimelatonine dönüşür, bu da böbrekte sülfat ve glukronik aside bağlanarak idrarla atılır. İdrardaki başlıca metaboliti, 6-sülfotoksimelatonin'dir. Melatoninin kanda yarılanma süresi yaklaşık 10-40 dakikadır. Pineal bez kan akımı yönünden 4 ml/dk/g'lık değerlerle böbreklerden sonra ikinci sırada gelmektedir (39).

Melatonin Sekresyonunun Düzenlenmesi:

Melatoninin sentez ve salınımı ışık miktarı ile yakın bir ilişki göstermektedir. Gece maksimum düzeyde ve gündüz minimum düzeydeki seyri ile sirkadiyan ritmi göstermektedir. Melatoninin; sistemik dolaşım, pineal bez, serebrospinal sıvı, hücre içi ve idrarda geceleri ölçülen miktarı, gündüz ölçülen miktarın 10 katına kadar ulaşabilmektedir(40). Karanlık başladığında melatonin seviyesi yükselmeye başlar. Gece yarısından sonra (02.00-04.00) tepe seviyesine ulaşır ve sonra giderek düşer. Sabahları erken ışığa maruz kalındığında, melatoninin gece sekresyonunun başlaması da erken olur. Akşam saatlerinde verilen melatonin de, endojen melatonin salınımını erken başlatır (39).

Serum melatonin konsantrasyonu, yaşa göre de değişiklikler gösterir. Yenidoğanlarda serum melatonin konsantrasyonu çok düşük düzeylerde seyreder (38). Bunun nedeni melatonin salınımının yeni devam eden sinaptogenezis nedeniyle ancak doğum sonrası ikinci haftanın sonunda erişkin ritmine ulaşmaktadır (40). 1-3 yaş arası tepe seviyesine ulaşır. Bu esnada, geceleri melatoninin serum tepe seviyeleri 325 pg/ml (1400 pmol/l) gibi yüksek değerlere kadar ulaşır. Cinsel olgunlaşma sürecinde giderek azalan plazma melatonin düzeyi, 500 pmol/l'nin altına düştüğünde, GnRH salgılanması artar ve puberte başlar. Yetişkin

gençlerdeki değeri, 40-260 pmol/l'dir. Ek olarak, Humbert ve Pevet 60 yaşın üzerindeki insanların çok düşük gündüz ve gece melatonin seviyelerine sahip olduğunu göstererek fizyolojik melatonin konsantrasyonu ve yaşlanma arasındaki ilişkiye dikkat çekmişlerdir (39).

Melatoninin fizyolojik fonksiyonlar üzerine etkisi:

- 1) Üreme sistemi ve diğer hormonlarla olan ilişkisi
- 2) İmmun sistem üzerine etkisi
- 3) Serbest radikal giderici etkisi
- 4) Yaşlanma üzerine olan etkisi
- 5) Uyku üzerine olan etkisi
- 6) Beslenme davranışı üzerine etkisi
- 7) Kanser üzerine olan etkisi

Melatoninin serbest radikal giderici etkisi:

Oksijen dünya atmosferinin % 21'ini oluşturur ve aerobik organizmaların hayatlarını devam ettirebilmeleri için gereklidir. Oksijenle ilgili temel paradoks belli durumlarda organizmanın hayati dokuları için öldürücü olmasıdır. Solunumla alınan oksijenin büyük çoğunluğu ATP üretiminde kullanılır. Bununla beraber solunumla alınan oksijenin bir kısmı (yaklaşık % 5) aşırı derecede toksik olan serbest radikallere dönüştürülür (38). Bunun nedeni, serbest radikallerin mitokondrideki oksidatif fosforilizasyon ve peroksizomlardaki yağ asidi oksidasyonu esnasında üretiliyor olmalarıdır (43). Bu serbest radikaller hidroksil radikali (OH^-), hidrojen peroksit radikali (H_2O_2^-), süperoksit anyon radikali (O_2^-), ya da singlet oksijen radikali (O_2) adı verilen toksik maddelerdir (40). Hücreler serbest radikallerin zararlı etkilerinden kendilerini enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz), vitaminler (vitamin E, vitamin C, vitamin A ve onların prekürsörü olan karoten) ve glutatyon ile ürik asit gibi çeşitli moleküllerle belli bir dereceye kadar koruyabilirler (43).

Melatonin en zararlı radikal olan OH^- radikalini ortadan kaldırır ve böylece de lipid peroksidasyonu reaksiyonunu engelleyen güçlü bir antioksidandır. (40). Melatonin OH^- radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamdaki O_2^- radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. Serbest oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrol'ün DNA üzerindeki hasarının melatonin tarafından çok etkili bir şekilde inhibe edildiği de gösterilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır. Dolayısıyla hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir alanda antioksidan etki gösterir (44). Yurtçu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 7 gün süreyle uygulanan melatonin ve steroidin testis torsiyonunda detorsiyondan önce uygulanmasının biyokimyasal ve histopatolojik incelemede İ/R hasarını önlediği bildirilmiştir (45).

Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda (300mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile toksik bir etkisinin bulunmamasıdır. Ayrıca bazı antioksidanlar belli oranda prooksidan aktiviteye sahip oldukları halde melatoninin böyle bir etkisi yoktur. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi onun DNA'yı oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara oranla çok daha üstün bir özelliğe sahiptir (44). Tan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada melatoninin OH^- radikalini nötralize etme kapasitesinin GSH (glutasyon)'dan 5 kat ve mannitolden 15 kat daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (46). Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda ise pineal bezin cerrahi olarak çıkarılması sonucunda nükleer DNA hasarının arttığı açıkça gösterilmiştir (47).

Sonuç olarak, melatonin direkt bir serbest radikal süpürücüsü olarak etki ederek hem reaktif oksijen hem de reaktif nitrojen radikallerini detoksifiye eder. Ayrıca indirekt olarak da antioksidatif savunma sistemlerinin aktivitesini artırır (7).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel ve Klinik Araştırma Kurulu ve Etik Kurulunun 2005/4 tarih sayılı onay kararı ile (Proje No: 2005/24) 1-30 Ekim 2005 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapıldı.

4.1. DENEKLER

Çalışmada ortalama ağırlıkları 3000 gr olan 6 aylık Yeni Zelanda tipi erkek tavşanlar kullanıldı. Tüm tavşanlar 12 saat ışık ve 12 saat karanlık olacak şekilde programlanan odada barındırıldı.

4.2. OPERASYONUN VE TEDAVİNİN YAPILIŞI

Tavşanlara deneysel olarak VUR oluşturulmadan önce ^{99m}Tc-DMSA sintigrafisi yapılarak sağ ve sol böbreklerin apteyk'leri hesaplandı.

VUR oluşturulması:

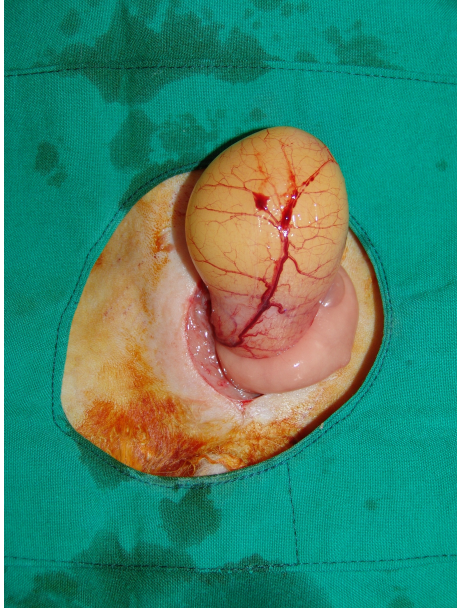
Tavşanların anestezisinde intramusküler olarak 50 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı®) ve 10 mg/kg xylasine (Rompun, Bayer®) kullanıldı (Resim 1). Tavşanlara simfizis pubis üzerinden 2 cm'lik orta hat insizyonu yapıldı (Resim 2). Cilt, cilt altı geçilip mesaneye ulaşıldı (Resim 3). Askı sütürleri konularak mesane vertikal olarak açıldı (Resim 4).



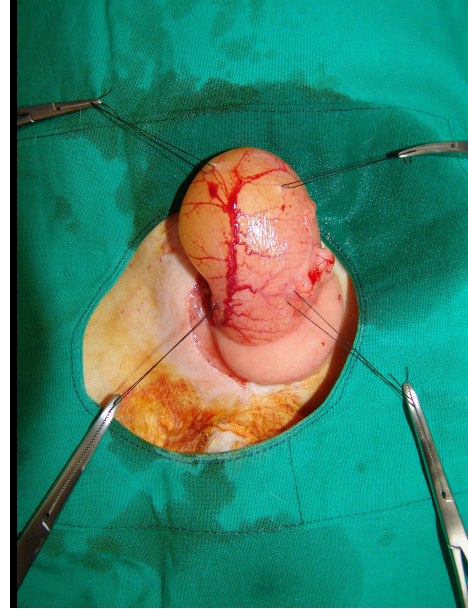
Resim 1. Anestezi altındaki tavşan



Resim 2. Orta hat insizyonu

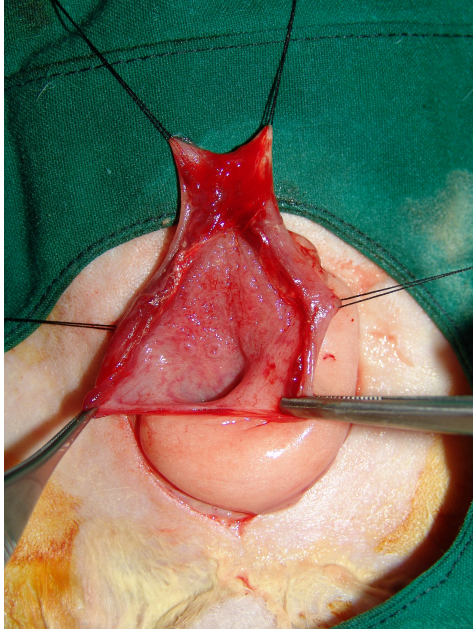


Resim 3. Mesanenin görünümü

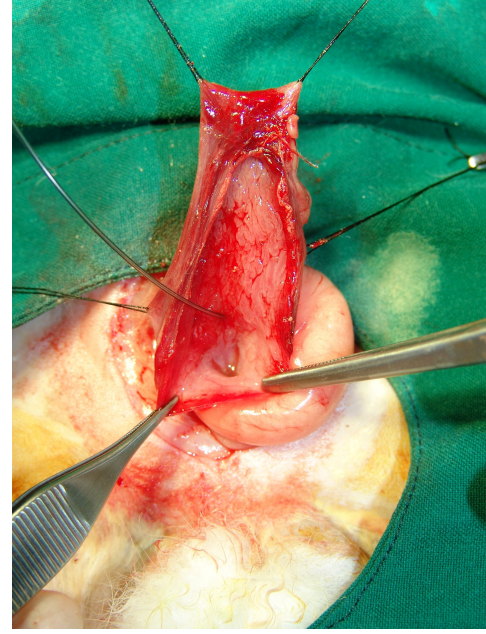


Resim 4. Mesanenin askıya alınması

Üreter orifislerinin, trigonun kenarlarında mesane boynuna yakın lokalizasyonda olduğu görüldü (Resim 5). Sol üreter orifisi 2F'lik kateterle kateterize edildi (Resim 6).

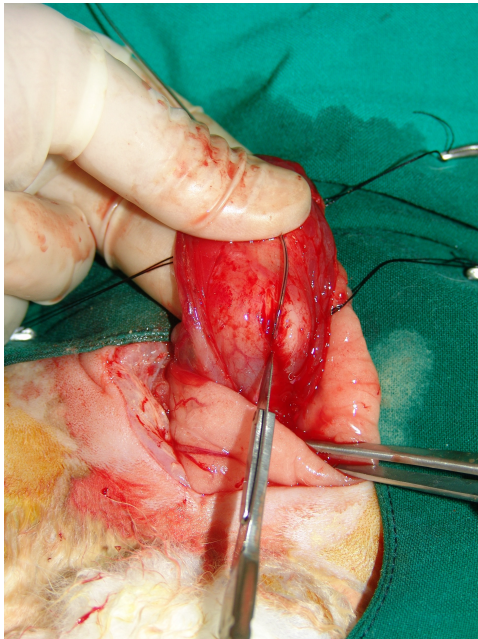


Resim 5. Üreter orifisleri

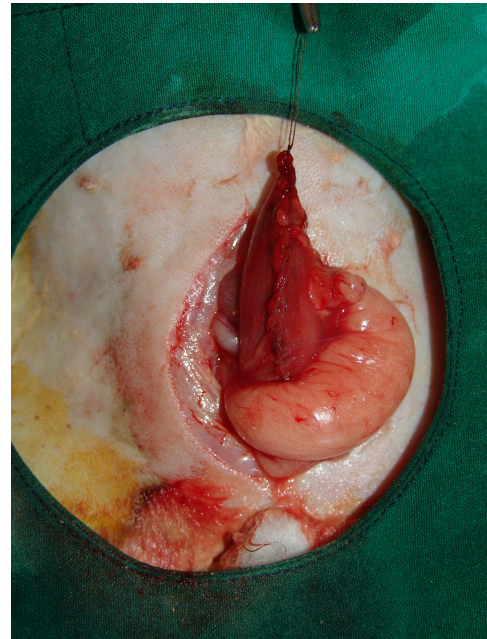


Resim 6. Sol üreterin kateterizasyonu

Mesane mukozası ve üreterin anterior duvarı tam kat olarak bistüriyle orifisten itibaren kateter üzerinden 1-1,5 cm kesildi (Resim7). Böylece submukozal tünel ve üreter mesaneye giriş yerine kadar açılarak antireflü mekanizması bozuldu.



Resim 7. Submukozal tünelin kaldırılması



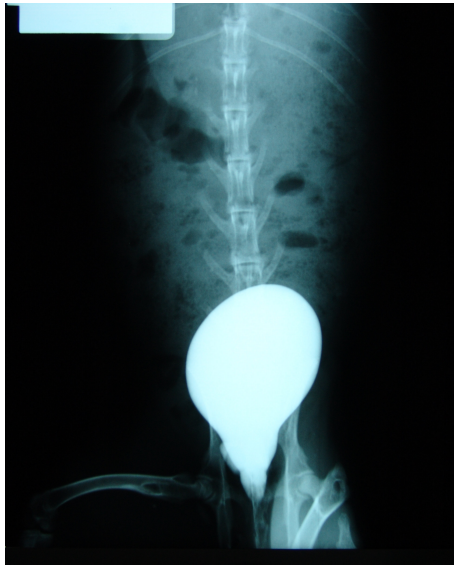
Resim 8. Mesanenin kapatılması

Sol üreterin submukozal tüneli cerrahi olarak kaldırıldıktan sonra kateter çıkartıldı. Mesane 4/0 polydioxanone (PDS II, Ethicon®) ile devamlı sütürlerle çift planda kapatıldı (Resim 8). Fasia 3/0 polydioxanone ile cilt 3/0 ipekle devamlı sütürlerle kapatıldı.

Kontrol ve melatonin gruplarında VUR oluşturulmadan bu gruptaki tavşanlara direkt olarak, diğer gruptaki tavşanlara ise VUR oluşturulduktan ve 15 gün süreyle tedavileri yapıldıktan sonra intrakardiyak yüksek doz thiopentone sodyum (Pentothal sodium, Abbott®) verilerek tüm tavşanlar sakrifiye edildi ve bilateral nefrektomi uygulandı. Her iki böbrekten 1 cm³'lük doku parçası lipid peroksidasyonu (MDA) ölçümü için ayrıldı. Geriye kalan böbrek dokusunda histopatolojik inceleme yapıldı.

Sistogram çekimi:

VUR oluşturulduktan 10 gün sonra tavşanların mesanesine üretral yoldan 6F'lik kateter yerleştirildi. Mesanedeki mevcut olan idrar boşaltıldı. Opak madde olarak diatrizoate sodium + diatrizoate meglumine (Urografin %76, Schering) kullanıldı. Opak madde ¼ oranında SF ile karıştırılıp tavşan mesanesine verildi. Skopi cihazı (Shimadzu, Japan) altında mesane dolumu ve reflü oluşumu belirlenerek görüntüler alındı (Resim 9, 10).



Resim 9. Kontrol grubuna ait bir tavşanın normal mesanesi



Resim 10. Grup 2'ye ait bir tavşanda solda VUR görüntüsü

Melatonin tedavisi:

Melatonin [(N-Acetyl-5-methoxytryptamine) Melatonin; 1 gr şişe, Merc® , Germany] alkolde eriyen bir maddedir. 3 ml % 96'lık steril etanolde 40 mg melatonin çözülerek hazırlanan stok solüsyon ışığa maruz bırakılmadan, enjeksiyon zamanına kadar deep-freezde -80 °C' de muhafaza edildi. Stok solüsyondan her tavşan için 20 mg/kg dozunda melatonin çekilip 2ml SF (serum fizyolojik) ile sulandırılarak intraperitoneal olarak enjekte edildi.

4.3. ÇALIŞMA GRUPLARI

Denekler 5 gruba ayrıldı. VUR+melatonin grubunda 7 tavşan, diğer gruplarda ise 6 tavşan olmak üzere toplam 31 tavşan kullanıldı.

Grup 1 (Kontrol Grubu): Bilateral nefrektomi uygulandı.

Grup 2 (VUR Grubu): Sol tarafta VUR oluşturuldu ve 15 gün sonra bilateral nefrektomi uygulandı.

Grup 3 (Melatonin Grubu): VUR oluşturulmadan 15 gün süreyle 20 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak melatonin verildi. Ardından bilateral nefrektomi uygulandı.

Grup 4 (VUR+Melatonin Grubu): Sol tarafta VUR oluşturulduktan sonra 15 gün süreyle 20mg/kg dozunda intraperitoneal olarak melatonin verildi. Ardından bilateral nefrektomi uygulandı.

Grup 5 (VUR+Sham Tedavi Grubu): Sol tarafta VUR oluşturulduktan sonra 15 gün süreyle günde 3 ml %96'lık etil alkol ve 2 ml SF intraperitoneal olarak verildi. Ardından bilateral nefrektomi uygulandı.

4.4. SİNTİGRAFİK DEĞERLENDİRME

Tüm gruplardaki tavşanların her iki böbreği için deney öncesi ve deneyin başlangıcından 15 gün sonra 200 µci/kg ^{99m}Tc-DMSA verildikten 6 saat sonra Gamma kamera (Siemens ZLC, Japan) ve buna bağlı MİE Scintron 4 bilgisayar işletim programı uygulandı. Tavşanlardan anterior ve posterior görüntüler alındı. Böbreklere ait total ve selektif ^{99m}Tc-DMSA apteyk oranları gamma kameraya ait MİE Scintron 4 yazılım programı ile sayımlar alınarak belirlendi ve eğrileri çizildi.

4.5. BİYOKİMYASAL DEĞERLENDİRME

Lipit peroksidasyonu (MDA) ölçümü:

Tüm gruplardaki tavşanların her iki böbreğinden alınan 1 cm³' lük böbrek dokusu deney gününe kadar -80°C' de saklandı ve yaş ağırlığının 2 katı oranında serum fizyolojik eklenerek homojenize edildi. Homojenizasyon buz banyosu içinde, 1350 devir/dakika hızında dönen bir cam uç yardımıyla cam tüp (Potter S, B.Braun) içerisinde yapıldı. Homojenizasyon süresi yaklaşık 2 dakika idi. Homojenatlarda Ohkawa metodu kullanılarak lipit peoksidasyonunun bir göstergesi olan MDA ölçümü yapıldı (48). Bu metod lipit peroksidasyonunun ürünü olan MDA'nın tiobarbitürik asit ile reaksiyona girerek 532 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren, pembe renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır. Homojen doku örneklerinin 0.1 ml'sine % 8.1'lik 0.2 ml sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml %20'lik asetik asit (pH 3.5) ve 1.5 ml tiobarbitürik asit eklendi. Karışım distile su ile 4 ml'ye tamamlanarak 100 °C'de 60 dakika kaynatıldı. Soğutulduktan sonra 1 ml distile su eklenip eşit hacimde n-butanol ve piridin ile tekrar karıştırılarak 10 dakika 4000 devir/dakika Heraeus Sepatech marka megafuge 1,0R santrifüj aleti ile santrifüje edildi. Organik tabakanın absorbansı spektrofotometrede (UV-VIS Recording spectrophotometer, UV 2100) okundu. Standart seri hazırlamak için MDA standart solüsyonu (Spinreact, Spain) kullanıldı. Sırasıyla 10 nmol/ml, 20 nmol/ml, 30 nmol/ml ve 40 nmol/ml MDA

konsantrasyonunda örnekler hazırlanarak spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda okundu. Alınan sonuçların lineer regresyonu hesaplanarak doku örneklerinin verileri bu standart seriye göre değerlendirildi. Dokuda Lowry metoduna göre protein tayini yapılarak MDA miktarı, gram protein başına nmol olarak belirlendi (49).

4.6. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME

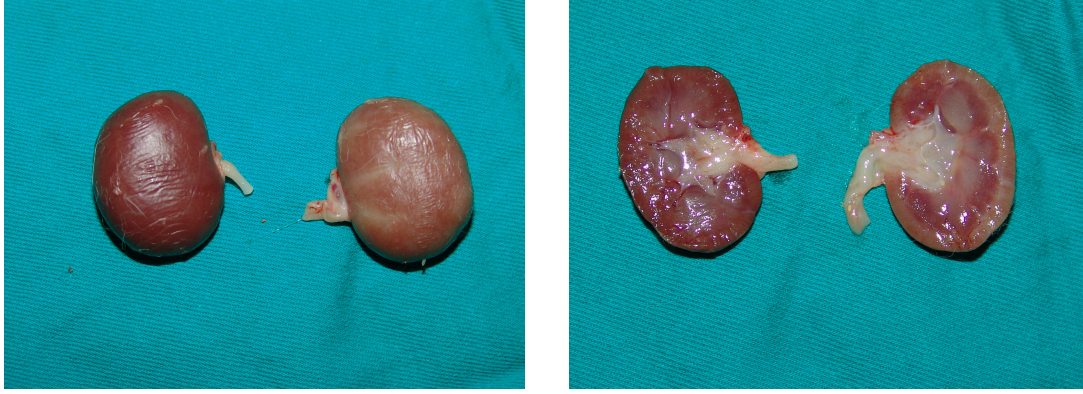
Tüm gruptaki tavşanlar, DMSA çekimi sonrası sakrifiye edilip bilateral nefrektomi uygulandı. İşleme üreterektomi ve sistektomi de ilave edildi. Her iki böbrek, üreterler ve mesane makroskopik olarak incelendi. Fotoğrafları çekildi (Resim 11,12,13).



Resim 11: Kontrol grubuna ait bir tavşanda böbrek, üreterler ve mesanenin normal görünümü.



Resim 12: Grup 2'ye ait bir tavşanda VUR'ye ait sol üreterde dilatasyon.



Resim 13: VUR+sham tedavi grubuna ait bir tavşanın sol böbreğinin daha soluk görünümde olduğu ve parankim yapısında bozulmalar meydana geldiği görülmektedir.

Lipit peroksidasyonu ölçümü için her iki böbrekten 1 cm³'lük doku parçası alındıktan sonra böbrekler % 10'luk formalin içinde çalışma zamanına kadar bekletildi. Tüm böbreklerden böbreğin tabakaları olan korteks, medulla ve hilusu içeren kesitler alındı ve parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan 5µ kesitler yapıldı. Kesitler hematoksilin eozin (H&E) ile boyanarak ışık mikroskopu altında aynı patolog tarafından kör olarak incelendi.

Böbreklerin histopatolojik değerlendirmesinde konjesyon, MNL infiltrasyonu, periglomerüler infiltrasyon, tübül genişlemesi, fibröz skar, tübüler atrofi gibi parametreler incelendi. 10'luk büyütmedeki her mikroskopik görüntü alanında incelenen parametreler değerlendirildi. Aranılan parametreye ait hiçbir görüntü yoksa (-), her alanda 1-2 parametrik içerik varsa (+), bu içerik daha fazla ise (++) , bol miktarda ekstensiv bir görünüm varsa (+++) olarak kabul edildi.

4.7. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Histopatolojik çalışma, sintigrafi ve MDA'ya ait veriler ayrı ayrı tablolara yerleştirildi. Ortalama değerleri ve standart sapmaları SPSS 7,0 programı ile hesaplandı. Grup içi sağ ve sol böbreklerin karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Gruplar arası sol

böbreklerin karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Bulunan P değerleri $P < 0,05$ ise anlamlı kabul edildi. Anlamlı bulunan parametreler Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile kontrol edildi.

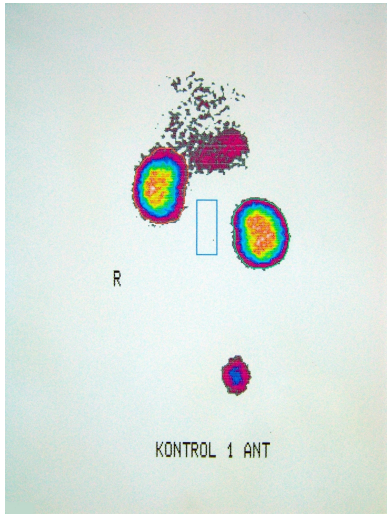
5. BULGULAR

5.1. SİNTİGRAFİK BULGULAR

Grup 1 (Kontrol grubu):

Tablo 1. Grup 1 (Kontrol Grubu)'deki böbreklerin sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	52,0	48,8
2	49,3	50,7
3	53,0	47,0
4	44,0	56,0
5	49,5	50,5
6	51,6	48,4
X ± SD	49,90 ± 3,23	50,23 ± 3,14



Resim 14. Kontrol grubuna ait bir tavşanın anterior DMSA görüntüsü. Her iki böbreğin apteyk oranları birbirine yakın görülmekte.

Grup 2 (VUR Grubu):

Tablo 2. Grup 2 (VUR grubu)'deki böbreklerin deney öncesi sintigrafik apteykleri (%)

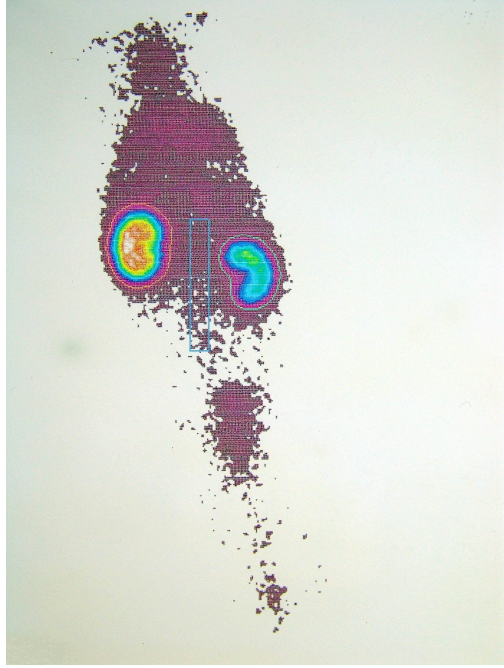
Tavşan(n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	44,1	55,9
2	48,7	51,3
3	49,0	51,0
4	48,7	51,3
5	49,9	50,1
6	49,3	50,7
X ± SD	48,28 ± 2,09	51,71± 2,09

Grup 2'de deney öncesi böbrek apteyk değerleri sağda % 44,1-49,9 (48,28 ± 2,09), solda % 50,1-55,9 (51,71± 2,09) bulundu (Tablo 2).

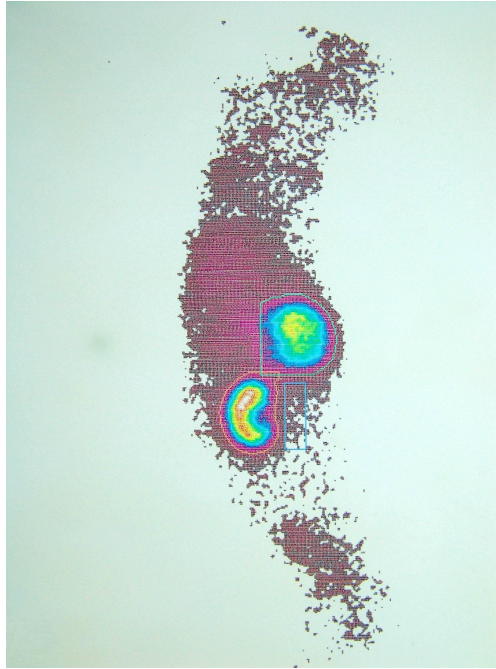
Tablo 3. Grup 2 (VUR Grubu)'deki böbreklerin deney sonrası sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan(n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	42,0	58,0
2	46,0	54,0
3	53,0	47,0
4	54,0	46,0
5	46,0	54,0
6	49,6	50,4
X ± SD	48,43 ± 4,61	51,56 ± 4,61

Grup 2'de deney sonrası böbrek apteyk değerleri sağda % 42,0-54,0 (48,43 ± 4,61), solda % 46,0-58,0 (51,56 ± 4,61) bulundu (Tablo 3).



a) Anterior görünüm



b) Posterior görünüm

Resim 15. Grup 2 (VUR Grubu)'ye ait bir tavşanda deney sonrası anterior ve posterior sintigrafi görüntüsü. Sol böbrekte aktivite tutulumu azalmış.

Grup 3 (Melatonin Grubu):

Tablo 4. Grup 3'deki böbreklerin deney öncesi sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan(n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	49,7	50,3
2	46,1	53,9
3	44,3	55,7
4	47,4	52,6
5	47,5	52,5
6	48,3	51,7
X ± SD	47,21 ± 1,85	52,78 ± 1,85

Grup 3'de deney öncesi böbrek apteyk değerleri sağda % 44,3-49,7 (47,21 ± 1,85), solda % 50,3-55,7 (52,78 ± 1,85) bulundu (Tablo 4).

Tablo 5. Grup 3'deki böbreklerin deney sonrası sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan(n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	44,0	57,0
2	48,9	51,1
3	46,4	53,6
4	46,5	53,5
5	43,9	56,1
6	50,3	49,7
X ± SD	46,66 ± 2,57	53,50 ± 2,80

Grup 3'de deney sonrası böbrek apteyk değerleri sağda % 43,9-50,3 (46,66 ± 2,57), solda % 49,7-57,0 (53,50 ± 2,80) bulundu (Tablo 5).

Grup 4 (VUR+Melatonin Grubu):

Tablo 6. Grup 4'deki böbreklerin deney öncesi sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan (n=7)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	54,8	45,2
2	50,2	49,8
3	46,0	54,0
4	48,4	51,6
5	50,1	49,9
6	44,8	55,2
7	47,6	52,4
X ± SD	48,84 ± 3,29	51,15 ± 3,29

Grup 4'de deney öncesi böbrek apteyk değerleri sağda % 46,0-54,8 (48,84 ± 3,29), solda % 45,2-55,2 (51,15 ± 3,29) bulundu (Tablo 6).

Tablo 7. Grup 4'deki böbreklerin deney sonrası sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan (n=7)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	47,6	52,4
2	52,2	47,8
3	58,3	41,7
4	50,4	49,6
5	48,5	51,5
6	49,8	50,2
7	75,7	24,3
X ± SD	54,64 ± 9,92	45,35 ± 9,92

Grup 4'de deney sonrası böbrek apteyk değerleri sağda % 47,6-75,7 (54,64 ± 9,92), solda % 24,3-52,4 (45,35 ± 9,92) bulundu (Tablo 7).

Grup 5 (VUR+Sham Tedavi Grubu):

Tablo 8. Grup 5 'deki böbreklerin deney öncesi sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	55,6	44,4
2	45,8	54,2
3	49,6	50,4
4	47,4	52,6
5	48,4	51,6
6	44,2	55,8
X ± SD	48,50 ± 3,96	51,50 ± 3,96

Grup 5'de deney öncesi böbrek apteyk değerleri sağda % 44,2-55,6 (48,50 ± 3,96), solda % 44,4-55,8 (51,50 ± 3,96) bulundu (Tablo 6).

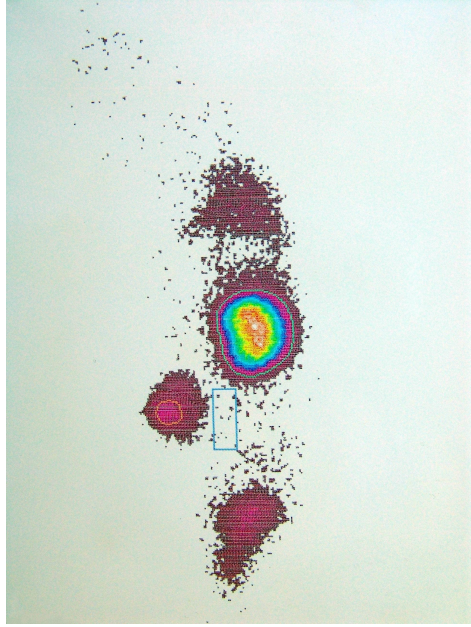
Tablo 9. Grup 5 'deki böbreklerin deney sonrası sintigrafik apteykleri (%)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	60,2	39,8
2	49,0	51,0
3	59,0	40,1
4	46,0	54,0
5	49,2	50,8
6	53,2	46,8
X ± SD	52,76 ± 5,77	47,08 ± 5,98

Grup 5'te deney sonrası böbrek apteyk değerleri sağda % 46,0-60,2 (52,76 ± 5,77), solda % 39,8-54,0 (47,08 ± 5,98) bulundu (Tablo 9).



a) Anterior



b) Posterior

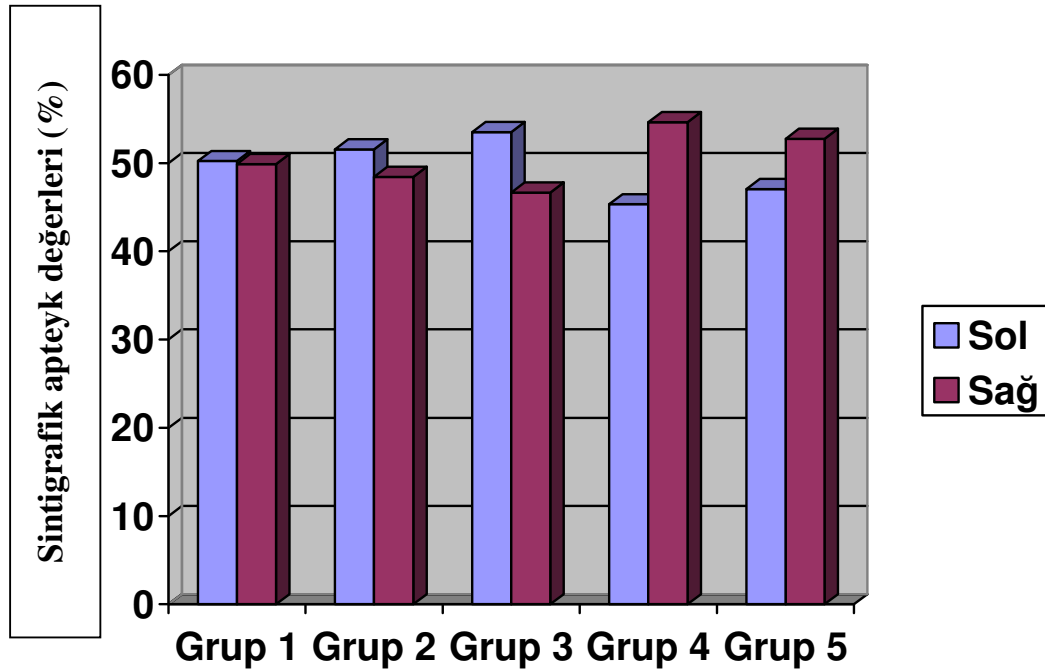
Resim 16. Grup 5 (VUR+Sham Tedavi Grubu)'e ait bir tavşanda deney sonrası anterior ve posterior sintigrafik görüntü. Sol böbrek apteyki ciddi boyutta azalmış olarak görülmekte.

Sintigrafik apteyk değerlerinin deney öncesi ve sonrası grup içi sağ ve sol böbreklerin karşılaştırılmasında hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($P>0,05$). Aynı şekilde deney öncesi ve sonrası gruplar arasında sol böbrekler için yapılan karşılaştırmada ise yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($P>0,05$). Tüm gruplardaki böbreklerin deney öncesi ve sonrası sintigrafik apteykleri tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10. Grupların sintigrafik böbrek apteyk oranlarının karşılaştırılması (%).

Gruplar	Sağ		Sol	
	Deney öncesi	Deney sonrası	Deney öncesi	Deney sonrası
1 Kontrol	49,90 ± 3,23	-	50,23 ± 3,14	-
2 VUR	48,28 ± 2,09	48,43 ± 4,61	51,71 ± 2,09	51,56 ± 4,61
3 Melatonin	47,21 ± 1,85	46,66 ± 2,57	52,78 ± 1,85	53,50 ± 2,80
4 VUR+Melatonin	48,84 ± 3,29	54,64 ± 9,92	51,15 ± 3,29	45,35 ± 9,92
5 VUR+Sham Tedavi	48,50 ± 3,96	52,76 ± 5,77	51,50 ± 3,96	47,08 ± 5,98

Değerler Ortalama ± SD olarak verilmiştir.



Grafik 1. Gruplara göre deney sonrası sağ ve sol böbreklerin sintigrafik apteykleri.

5.2. BİYOKİMYASAL BULGULAR

Tablo 11. Kontrol grubundaki (Grup 1) böbrek MDA değerleri (nmol/g protein)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	3,75	3,79
2	3,70	3,24
3	3,11	3,48
4	3,91	3,75
5	3,54	3,41
6	3,87	3,37
X ± SD	3,64 ± 0,29	3,50 ± 0,21

Grup 1'deki MDA değerleri sağ böbreklerde 3,11-3,91 (3,64 ± 0,29) nmol/g protein, sol böbreklerde 3,24-3,79 (3,50 ± 0,21) nmol/g protein bulundu (Tablo 11).

Tablo 12. VUR grubundaki (Grup 2) böbrek MDA değerleri (nmol/g protein)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	3,56	4,18
2	3,74	3,95
3	3,48	3,98
4	3,59	3,84
5	3,29	3,99
6	3,62	3,97
X ± SD	3,54 ± 0,15	3,98 ± 0,11

Grup 2'deki MDA değerleri sağ böbreklerde 3,29-3,74 (3,54 ± 0,15) nmol/g protein, sol böbreklerde 3,84-4,18 (3,98 ± 0,11) nmol/g protein bulundu (Tablo 12).

Tablo 13. Melatonin grubundaki (Grup 3) böbrek MDA değerleri (nmol/g protein)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	3,76	3,89
2	3,60	3,92
3	3,92	3,41
4	3,63	3,47
5	3,45	3,55
6	3,32	3,42
X ± SD	3,61 ± 0,21	3,61 ± 0,23

Grup 3'deki MDA değerleri sağ böbreklerde 3,32-3,92 ($3,61 \pm 0,21$) nmol/g protein, sol böbreklerde 3,41-3,92 ($3,61 \pm 0,23$) nmol/g protein bulundu (Tablo 13).

Tablo 14. VUR+Melatonin grubundaki (Grup 4) böbrek MDA değerleri (nmol/g protein)

Tavşan (n=7)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	3,26	3,06
2	3,40	3,00
3	3,11	2,99
4	3,44	3,30
5	2,91	2,83
6	3,29	2,84
7	3,23	2,99
X ± SD	3,23 ± 0,17	3,00 ± 0,15

Grup 4'deki MDA değerleri sağ böbreklerde 2,91-3,44 ($3,23 \pm 0,17$) nmol/g protein, sol böbreklerde 2,83-3,30 ($3,00 \pm 0,15$) nmol/g protein bulundu (Tablo 14).

Tablo 15. Sham Tedavi Grubundaki (Grup 5) böbrek MDA değerleri (nmol/g protein)

Tavşan (n=6)	Sağ böbrek	Sol böbrek
1	3,42	3,80
2	3,96	4,13
3	3,76	3,98
4	3,78	4,01
5	3,72	3,93
6	3,85	3,99
X ± SD	3,74 ± 0,18	3,97 ± 0,10

Grup 5'deki MDA değerleri sağ böbreklerde 3,42-3,96(3,74 ± 0,18) nmol/g protein, sol böbreklerde 3,80-4,13 (3,97 ± 0,10) nmol/g protein bulundu (Tablo 15).

Grup içi sağ ve sol böbreklerin MDA değerleri karşılaştırıldığında, kontrol (Grup 1) ve melatonin (Grup 3) gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken (P>0,05), VUR (Grup 2) ve VUR+sham tedavi (Grup 5) gruplarında anlamlı fark bulundu (P< 0,05). Ancak VUR+melatonin (Grup 4) grubunda ise sol böbrekteki MDA değerleri sağa göre daha düşük olduğu belirlendi ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (P<0,05) (Tablo 16).

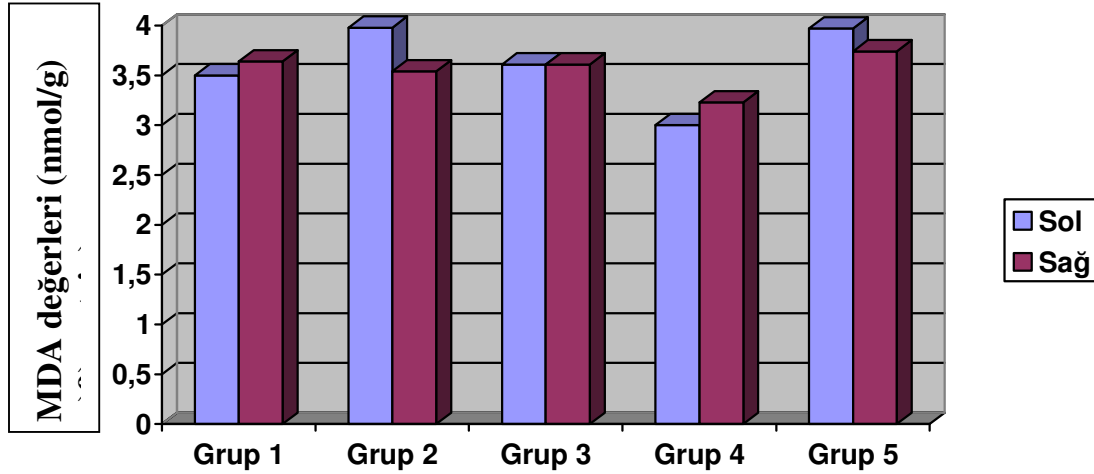
Sol böbrekteki MDA değerlerine göre kontrol grubu (Grup 1); melatonin grubu (Grup 3) ile karşılaştırıldığında aradaki farkın anlamsız olmasına rağmen (P>0,05), VUR (Grup 2) ve VUR+sham tedavi (Grup 5) grupları ile karşılaştırıldığında ise bu gruplarda MDA değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (P<0,05). Ancak kontrol grubu (Grup 1), VUR+melatonin grubu (Grup 4) ile karşılaştırıldığında Grup 4'de MDA değerlerinin anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlendi (P< 0,05). Aynı zamanda VUR+melatonin grubu (Grup 4), VUR (Grup 2) ve VUR+sham tedavi (Grup 5) grupları ile karşılaştırıldığında yine Grup 4'de MDA değerlerinin belirgin bir şekilde düşük olduğu ve

aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P < 0,05$). Tüm gruplardaki böbreklerin MDA değerleri tablo 16’da özetlenmiştir.

Tablo 16. Tüm gruplardaki böbreklerin MDA değerleri (nmol/g protein).

Gruplar	MDA (nmol/g protein)	
	Sağ	Sol
1 Kontrol	3,64± 0,29	3,50± 0,21
2 VUR	3,54± 0,15	3,98± 0,11
3 Melatonin	3,61± 0,21	3,61± 0,23
4 VUR+Melatonin	3,23± 0,17	3,00± 0,15
5 VUR+Sham Tedavi	3,74± 0,18	3,97± 0,10

Değerler Ortalama ± SD olarak verilmiştir.



Grafik 2. Gruplara göre MDA değerleri (nmol/g protein).

5.3. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Grup içi sağ ve sol böbreklerin histopatolojik açıdan karşılaştırılmasında VUR grubunda (Grup 2) MNL infiltrasyonu ve fibröz skar açısından, VUR+sham tedavi grubunda (Grup 5) ise tüm histopatolojik parametreler açısından anlamlı farklar tespit edildi ($P < 0,05$). Ancak kontrol grubu (Grup 1) ve melatonin (Grup 3) gruplarına ek olarak VUR+melatonin (Grup 4) grubunda hiçbir histopatolojik parametrede anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0,05$) (Tablo 17).

Tablo 17: Grup içi sağ ve sol böbreklerin karşılaştırılması

Gruplar	Konjesyon	MNL infiltrasyonu	Periglomerüler infiltrasyon	Tübül genişlemesi	Fibröz skar	Tübüler atrofi
1 Kontrol	-	-	-	-	-	-
2 VUR	-	P=0,004	-	-	P=0,002	-
3 Melatonin	-	-	-	-	-	-
4 VUR + Melatonin	-	-	-	-	-	-
5 VUR + Sham Tedavi	P=0,002	P=0,002	P=0,002	P=0,015	P=0,002	P=0,002

P<0,05 anlamlı kabul edildi.

Gruplar arası sol böbreklerin karşılaştırılmasında; kontrol grubu (Grup 1), VUR grubu (Grup 2) ile karşılaştırıldığında fibröz skar ve MNL infiltrasyonu açısından anlamlı bir fark vardı ($P < 0,05$) (Resim 18, 19). Aynı şekilde kontrol grubu (Grup 1), VUR+sham tedavi grubu (Grup 5) ile karşılaştırıldığında ise yukarıda belirtilen parametrelere ek olarak konjesyon (Resim 20), periglomerüler infiltrasyon ve tübüler atrofi açısından aralarında yine anlamlı bir fark tespit edildi ($P < 0,05$). Ancak kontrol grubu (Grup 1), VUR+melatonin grubu (Grup 4) ile karşılaştırıldığında ise sadece MNL infiltrasyonu açısından aralarında anlamlı bir fark

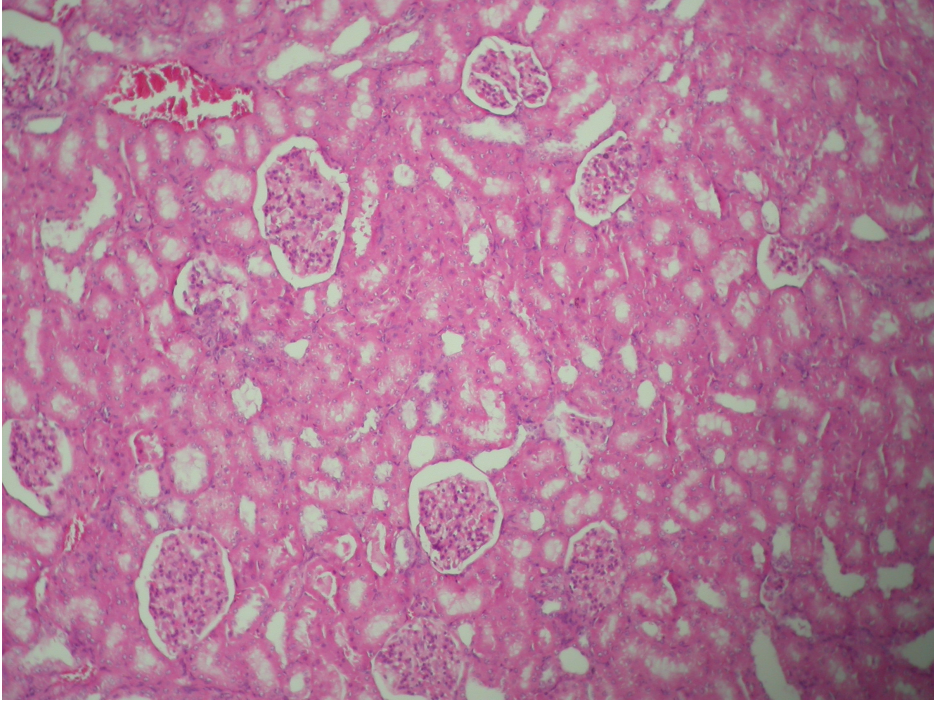
olduğu ($P < 0,05$) (Resim 19), fibröz skar açısından ise aralarında anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($P > 0,05$). VUR grubu (Grup 2), melatonin grubu (Grup 3) ile karşılaştırıldığında ise aralarında fibröz açısından anlamlı bir fark tespit edildi ($P < 0,05$). Aynı zamanda VUR+melatonin grubu (Grup 4), melatonin grubu (Grup 3) ile karşılaştırıldığında hiçbir parametrede aralarında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($P > 0,05$) (Tablo 18). Sol böbreklerdeki histopatolojik bulgular tablo 18’de özetlenmiştir.

Tablo 18. Gruplar arası sol böbreklerin karşılaştırılması.

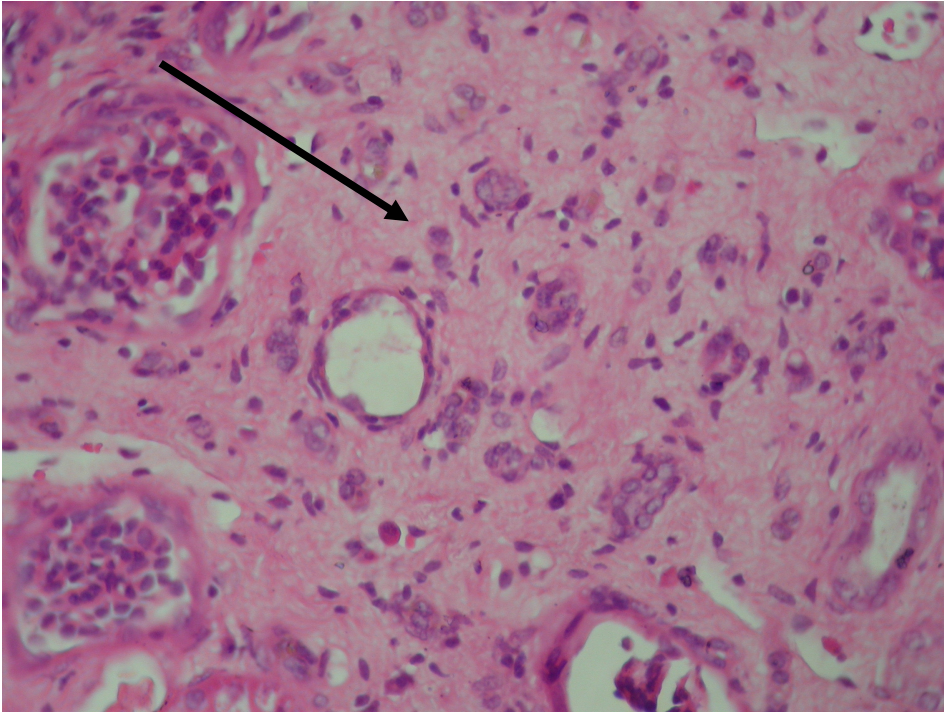
Gruplar	Konjesyon	MNL infiltrasyonu	Periglomerüler infiltrasyon	Tübül genişlemesi	Fibröz skar	Tübüler atrofi
1 Kontrol	-	-	-	-	-	-
2 VUR	-	$P=0,002^*$	-	-	$P=0,002^*$	-
3 Melatonin	-	-	-	-	$P=0,004\#$	-
4 VUR + Melatonin	-	$P=0,001^*$	-	-	-	-
5 VUR + Sham Tedavi	$P=0,002^*$	$P=0,002^*$	$P=0,002^*$	-	$P=0,002^*$	$P=0,002^*$

* Grup 1 ile karşılaştırıldığında $P < 0,05$

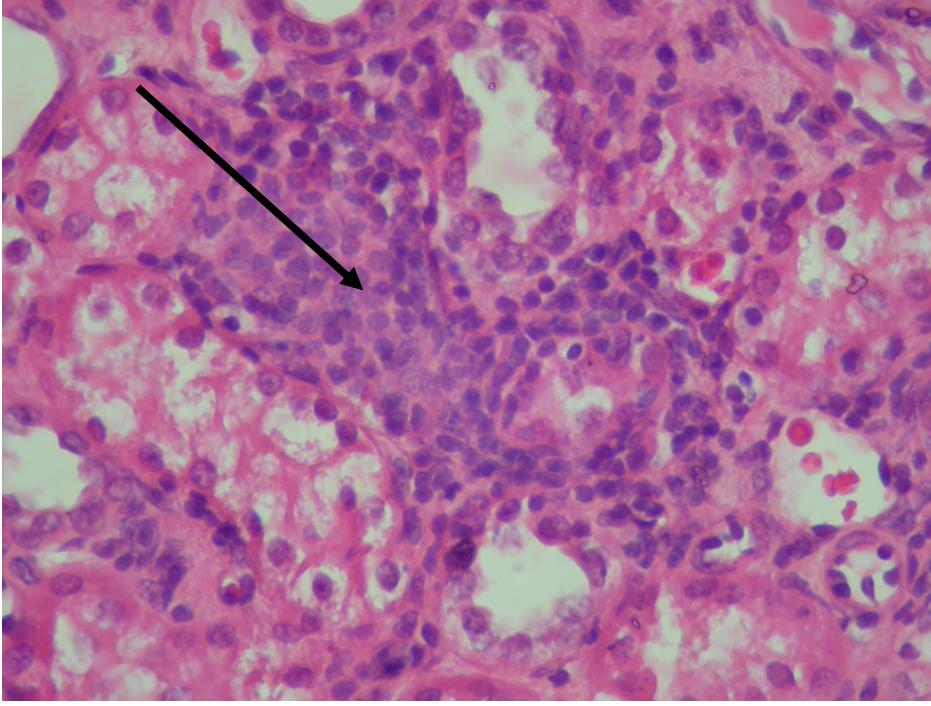
#Grup 2 ile karşılaştırıldığında $P < 0,05$



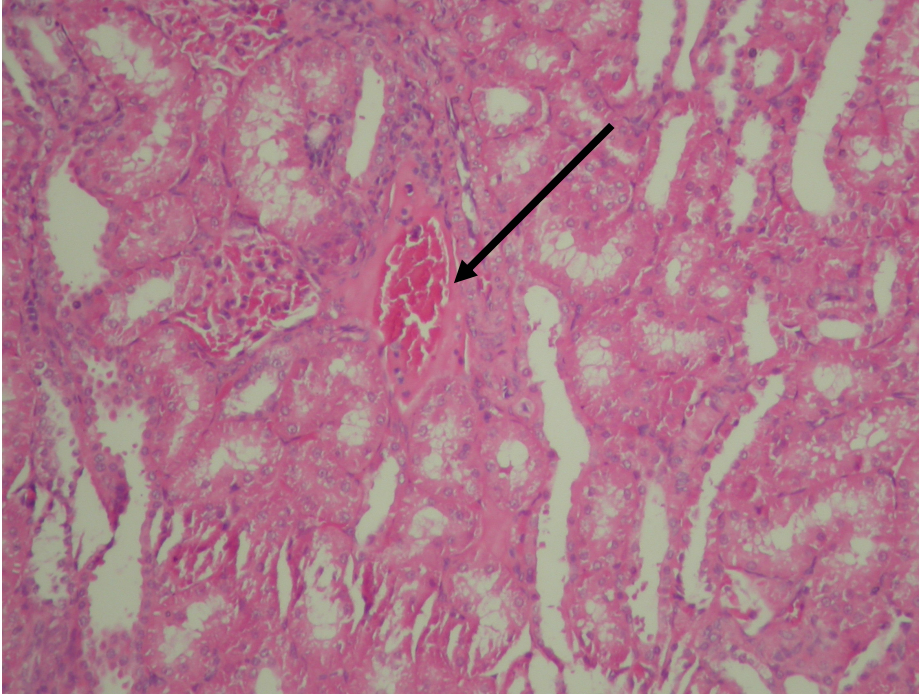
Resim 17: Grup 1(kontrol grubu)'e ait bir tavşanda normal böbreğin histolojik görünümü (H&E, X 10).



Resim 18: Grup 2(VUR grubu)'ye ait bir tavşanda sol böbrekte fibröz skar (H&E, X 10).



Resim 19: Grup 4 (VUR+melatonin grubu)'e ait bir tavşanda sol böbrekte MNL infiltrasyonu (H&E, X 40).



Resim 20: Grup 2 (VUR grubu)'ye ait bir tavşanda sol böbrekte konjesyon (H&E, X 10).

Gruplar	Tavşan	Konjesyon	MNL infiltrasyonu	Periglomerüler infiltrasyon	Tübül genişlemesi	Fibröz skar
1 K O N T R O L	1	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-
2 V U R	1	++	++	+	+	+++
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+	-	-	++
	4	-	+++	+	-	+
	5	-	+	-	-	++
	6	+	++	-	-	+
3 M E L A T O N İ N	1	+	-	-	-	-
	2	-	++	-	-	+
	3	-	+	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-
	6	-	-	-	-	-
4 V U + R M E L A T O N İ N	1	+	+	-	-	-
	2	-	+	-	-	-
	3	-	+	+	-	+
	4	-	+	-	-	-
	5	-	+	-	-	-
	6	-	++	-	-	+
	7	+	+	+	+	++
5 V U R + S H A M T E D A V İ	1	+	++	++	+	+++
	2	+	+	+	+	+
	3	+	+++	++	-	+++
	4	+	++	++	+	+++
	5	+	+	+	+	+
	6	+	++	+	+	++

Tablo 19: Sol böbreklerde gruplara ait histopatolojik bulgular.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

VUR idrarın mesaneden üst üriner sisteme geri kaçmasıdır. Normal çalışan bir üreterovezikal bileşkede ise idrar üreterden mesaneye rahatlıkla geçebilmeli ancak mesaneden üretere geri kaçış kesinlikle olmamalıdır. Böylece böbrekler mesanedeki yüksek basınçtan ve üriner sistem enfeksiyonundan korunmuş olur. VUR genel olarak toplumda % 1 civarında görülmesine rağmen, üriner sistem enfeksiyonu olan kızlarda bu oran % 12 ile 50 arasında değişmektedir (50). Bu olgularda renal skar görülme olasılığı yaşla birlikte artmaktadır. Örneğin 8 yaş altında % 26 olan renal skar oluşumu bu yaşın üstünde % 47 oranına çıkmaktadır (50). Tek taraflı VUR'sü olan 187 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada olguların %36,9'unda renal skar görülmüştür (51). VUR'de medikal veya cerrahi tedavilerin amacı renal skar oluşumunu ve ilerlemesini engellemektir (52). Ancak prospektif randomize çalışmalarda VUR'ye sekonder renal skar medikal veya cerrahi tedaviye rağmen ilerleyebilmektedir (52). Renal skar sonucu oluşan RN son dönem böbrek yetmezliğinin önemli bir nedenidir. İngiltere'de bu olguların % 25'inin nedeni RN'dir (53).

VUR sonucu oluşan renal hasarı incelemek amacıyla değişik hayvanlarda deneysel olarak VUR oluşturulmuştur. Bunlardan en uygun olanları; domuz, koyun, tavşan ve sıçanlardır (5, 52, 54, 55). Hayvanların büyük bir kısmında VUR intravezikal üreteral tünelin çatısının bir insizyonla açılması ile oluşturulmuştur. Ancak üretral orifis bir klemple kapatılıp mesaneye basınç yapılarak da oluşturulabilir (52, 54). Çalışmamızda deneysel VUR modeli olarak tavşan kullanıldı. Üreterin intravezikal bölümünün çatısı bir insizyonla açılarak VUR oluşturuldu ve 10 gün sonra sistografi çekilerek VUR oluştuğu kanıtlandı.

Renal skarın oluşumunda iki temel etken vardır. Bunlar; a) Enfeksiyon ve VUR ile ilişkili postnatal dönemde ortaya çıkan kazanılmış skar b) Anormal metanefrik gelişime bağlı konjenital skardır. Kazanılmış skar, renal parankime enfekte idrarın reflüsü sonucu gelişen

akut pyelonefrit nedeniyle oluşur. Ancak prenatal dönemde hidronefrozu olan bebeklerde postnatal dönemde VUR varsa, üriner sistem enfeksiyonu olmamasına rağmen renal skar oluşabilmektedir (56). Hodson ve arkadaşlarının domuz yavrularında yaptıkları deneysel çalışmada steril VUR'nün İRR bölgelerinde renal skara neden olduğu gösterilmiştir (57). Ransley ve Risdon ise domuzlarda deneysel olarak oluşturulan steril VUR'nün böbrek parankimini etkilemediğini bildirmelerine rağmen Paltiel ve arkadaşları yine domuzlarda oluşturulan düşük basınçlı steril VUR'nün böbrek parankiminde kronik interstisyel enflamasyona ve fibrozise yol açtığını göstermişlerdir (58,59). Radyolojik olarak renal skar tespit edilen hastaların % 40'ında ise üriner sistem enfeksiyonuna rastlanmamıştır (60). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada ise steril VUR'nün tübüler atrofi, korteks ve medullada kronik interstisyel enflamasyon ve fibrozise neden olduğu belirlenmiştir (52). Çalışmamızda ise her ne kadar idrar kültürü alınmamış olsa da, idrarı enfekte edecek herhangi bir mikroorganizmanın verilmemiş olması ve aynı zamanda deney süresinin 15 gün olması nedeniyle oluşan reflünün steril idrar reflüsüne daha yakın olduğunu düşünüyoruz. Çalışmamızda deney gruplarından VUR (Grup 2) grubunda MNL infiltrasyonu ve fibröz skar oluşumunun tespit edilmesi sonucu RN'nin de oluştuğunu belirlemiş olduk.

İskemi-reperfüzyon hasarında dokuların iskemiye uğraması durumunda ATP yapımı azalır. ATP parçalanarak AMP'ye dönüşür. Ardından sırası ile adenzin inozine ve inozin de parçalanarak hipoksantine dönüşür. İskemi süresince parçalanan ATP nedeniyle hücrede bol miktarda hipoksantin birikir. Ortamda yeteri kadar O₂ yoktur. Hücre fonksiyonu bozulmaya başlar. Ancak reperfüzyon ile ortama bol miktarda O₂ gelir ve O₂ ksantin oksidazı aktifleştirir. Hücrede bol miktarda bulunan ve aktifleşen ksantin oksidaz enzimi yine hücre içinde bol miktarda bulunan hipoksantin O₂ ile birleşmesini sağlar ve sonuçta bol miktarda süperoksit (O₂⁻) radikali ve ürik asit oluşumuna neden olur (61,62).

Reperfüzyon esnasında kapillerlere bol miktarda polimorfonükleer lökositler gelir. Onların adezyonu ve aktivasyonları artar. Bu olaya " respiratuar burst " diyoruz. İskemi esnasında nötrofiller içerisine kalsiyum girerek NADPH oksidaz enzimi aktive edilir. Reperfüzyon anında NADPH, NADPH oksidaz enziminin de etkisi ile ortamda bollaşan O_2 ile birleşir. Sonuçta NADP ve bol miktarda O_2^- radikali oluşur. Bu esnada ortamda nitrik oksit (NO) üretimi de başlar. NO, nitrik oksit sentaz (NOS) etkisi ile L-argininin guanidino nitrojeninden sentez edilir. NO'in normal konsantrasyonlarda yararlı etkileri vardır. Ancak yüksek konsantrasyonlarda O_2^- radikali ile reaksiyona girerek bol miktarda peroksinitrit ($ONOO^-$) radikali oluşur. Ayrıca $ONOO^-$ radikali sülfidril grupları ile okside olarak hidroksil (OH^-) radikalinin oluşumuna neden olur. Hücrede biriken reaktif oksijen metabolitleri (O_2^- , OH^- , $H_2O_2^-$) ile reaktif nitrojen metabolitleri (NO^- , $ONOO^-$) hücrel protein ve lipit yapıları ile reaksiyona girerek lipit peroksidasyonuna ve DNA yapısının bozulmasına yol açar (2, 5, 22, 63, 64). Shima ve arkadaşları RN sonucu nefrektomi yapılmış olguların böbrek dokusunda NO araştırmışlar ve reflü nefropatisi oluşumunda NO'in bir mediatör olmasının kuvvetle muhtemel olduğunu bildirmişlerdir (65). Çok reaktif bir radikal olan NO gaz halinde bulunur ve suda çok az çözünür. Ancak biyolojik sistemlerde hızla nitrit ve nitratlara indirgenerek suda çözünür hale gelir (66). Makrofajlarda ve lenfositlerde üretilen NO'in immünitinin düzenlenmesinde ve enflamatuar cevapta rol oynadığı düşünülmektedir (67). Makrofajlarda immünolojik uyarı sonucu üretilen NO; tümör hücreleri, mikroorganizmalar ve vücut hücreleri için de toksik etki gösterir (68).

NOS'ın ise iNOS (indüktabl), eNOS (endotelyal) ve nNOS (nöronal) olmak üzere üç izoformu vardır. Bunlardan iNOS glomerüler hücrelerde immünolojik hasara neden olur (63). Rolle ve arkadaşları reflü nefropatili böbreklerde yaptıkları çalışmada, distal tübüllerde ve toplayıcı sistemde NO'i gösteren NADPH-diaforaz aktivitesinde, iNOS ve mRNA immünoreaktivitesinde artış olduğunu göstermişlerdir (69). iNOS güçlü bir proinflamatuar

makrofaj üreticisi ve proinflamatuvar sitokin sekrete eden (TNF- α , IL-1, IL-10) bir ajandır. Yüksek dereceli VUR nedeniyle RN gelişen çocukların böbreklerinde iNOS ve TGF- β 1 immünoreaktivitesinde artış olduğu tespit edilmiştir. Bu artış apoptozisdeki artış ile doğru orantılıdır. iNOS, glomerüllerde ve tübülointerstisyel yüzeylerde ekstrasellüler matriksin birikimine neden olmaktadır. Bunun sonucunda renal fibrozis oluşturarak RN'ne neden olmaktadır. Aynı zamanda NO'in sentez edildiği L-argininin yapımını da artırmaktadır. (8, 52, 63).

VUR sonucu gelişen RN'nde iskemi-reperfüzyon hasarının etkisini belirlemek için yapılan klinik ve deneysel çalışmalarda histokimyasal olarak NO ve iNOS'ın immünoreaktivitesine bakılmış ve ayrıca MDA düzeyleri tespit edilmiştir (2,5,63). MDA membranöz yağ asitlerinin oto-oksidasyonunun son ürünüdür. Küçük miktarlarda her dokuda yapılır. Ancak hücre membranlarının peroksidasyonu esnasında bol miktarda yapılır. İskemi-reperfüzyon hasarının önemli bir belirleyicisidir. Çalışmamızda ise MDA düzeyleri, sadece VUR oluşturulan (Grup 2) böbreklerde, karşı böbreklere ve kontrol grubundaki böbreklere oranla anlamlı düzeyde yüksek çıkmıştır (P<0,05). MDA düzeylerinin VUR oluşturulan böbreklerde anlamlı düzeyde yüksek çıkması bu böbreklerde iskemi-reperfüzyon hasarına bağlı bir patolojinin geliştiğini bize göstermektedir.

RN'ni direkt olarak gösteren belirleyici ise histopatolojik incelemedir. Çalışmamızda yapılan histopatolojik incelemede karşı böbreklere ve kontrol grubundaki böbreklere oranla VUR oluşturulan böbreklerde (Grup 2) anlamlı düzeyde olmak üzere MNL infiltrasyonu ve fibröz skar oluşumu tespit edildi (P<0,05).

Sintigrafik tetkiklerden DMSA sintigrafisi parankimdeki skar dokusunu ve her iki böbreğin diferansiyel fonksiyonlarını gösteren bir tetkiktir. Bundan önce yapılan çalışmalarda DMSA sintigrafisinin intravenöz ürografiden çok daha değerli ve renal skarın tanısında temel bir tetkik olduğu bildirilmiştir (18, 70). Kobayashi ve arkadaşları ise 120 çocukta böbrek

parankim hasarını belirleyici bir faktör olarak serumda bazal fibroblast büyüme faktörü (b-FGF) seviyelerine bakmışlar ve b-FGF'nün renal skarlaşmada belirleyici bir faktör olduğunu bildirmişlerdir (71). Diğer bir çalışmada ise vasküler adezyon molekülünün (VCAM-1) RN'nde yararlı bir belirleyici olduğunu belirtmişlerdir (72). Aynı zamanda VCAM-1, daha önce çalışılmış olan intrasellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve E-selektin gibi diğer adezyon moleküllerinden de daha iyi bir belirleyicidir.

Melatonin reaktif oksijen ve nitrojen metabolitlerini temizleyen güçlü bir antioksidan ajandır. O_2^- ve NO^- radikalleri ile birlikte bunların reaksiyon ürünü olan ileri derecede toksik $ONOO^-$ ve OH^- radikallerinin de temizleyicisidir (73). Hem lipofilik hem de hidrofilik özelliği nedeni ile hücre içerisine kolayca girer ve hücre çekirdeğinde birikir (74). Böylece oksidatif hasara karşı DNA'yı korur (75, 76). Melatonin diğer antioksidan ajanlar olan; E vitamininden 2 kat, askorbik asit ve glutatyondan 4 kat daha güçlüdür (77). Böbreklerde deneysel olarak iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanlardan melatonin verilen grupta MDA ve nitrit seviyeleri düşmüş, glutasyon seviyesi ise yükselmiştir. Aynı zamanda iNOS için mRNA seviyeleri azalmıştır (64). Benzer bir çalışmada ise trapidil verilen grupta MDA, 3-Nitrotirozin ve TNF- α seviyeleri düşmüştür (2). Böbrek ve diğer dokularda oluşturulan iskemi-reperfüzyon hasarının, antioksidan ajanlar verilerek önlenebileceği yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir (21, 24, 25, 40, 78, 79). Çalışmamızda ise MDA düzeyleri; VUR oluşturulan ve melatonin verilen grubun (Grup 4) sol böbrekleri sağ böbrekleri ile karşılaştırıldığında tam tersi olarak VUR oluşturulan sol böbreklerdeki MDA düzeylerinin sağ böbreklere oranla daha düşük seviyede olduğu gösterildi ($P<0,05$). Gruplar arası karşılaştırmada ise VUR+melatonin (Grup 4) grubu, VUR (Grup 2) ve VUR+sham tedavi (Grup 5) grupları ile karşılaştırıldığında MDA'nın anlamlı derecede düşük düzeyde olduğu belirlendi ($P<0,05$).

Okur ve arkadaşları steril VUR oluşturulan tavşanlarda orta derecede MNL infiltrasyonu ve interstisyel fibrozis oluştuğunu belirlemişlerdir (5). Steril VUR oluşturulan sıçanlarda ise korteks ve medullada değişik derecelerde interstisyel enflamasyon ve fibrozis tespit edilmiştir (52). Ayrıca iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturulan sıçanların böbreklerinde ise proksimal tübüllerde nekroz tespit edilirken, melatonin verilen deneklerde ise nekroz sadece iç medulladaki bazı alanlarda sınırlı kalmıştır (64). Çalışmamızda ise grup içi sağ ve sol böbrekler karşılaştırıldığında; VUR (Grup 2) grubundaki VUR oluşturulan sol böbreklerde MNL infiltrasyonu ve fibröz skar açısından anlamlı farklılıklar tespit edildi ($P<0,05$). Ancak VUR+melatonin (Grup 4) grubunda ise tüm parametrelerde sağ ve sol böbrekler arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı ($P>0,05$). Gruplar arası sol böbreklerin karşılaştırılmasında ise; VUR (Grup 2) grubu, kontrol (Grup 1) grubu ile karşılaştırıldığında MNL infiltrasyonu ve fibröz skar açısından anlamlı farklılıklar varken ($P<0,05$), VUR+melatonin (Grup 4) grubu, kontrol (Grup 1) grubu ile karşılaştırıldığında sadece MNL infiltrasyonu açısından anlamlı bir farklılık tespit edildi ($P<0,05$). Diğer parametreler açısından anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Çalışmamızda cerrahi girişimden önce ve cerrahi girişimden 15 gün sonra ^{99m}Tc -DMSA sintigrafisi yapılmasına rağmen böbrek apteyklerinde anlamlı bir fark bulunamadı. Histopatolojik olarak enflamasyon ve fibröz skar oluşmasına rağmen sintigrafik olarak böbrek apteyklerinde anlamlı bir fark çıkmamasının nedeni deney süresinin kısalığına bağlı olabilir.

Sonuç olarak deneysel olarak oluşturulan VUR'de melatonin, MDA düzeylerini düşürerek ve fibröz skar oluşumunu engelleyerek RN'ni önlemektedir.

7. ÖZET

Amaç: Vezikoüreteral reflüde (VUR) serbest oksijen radikallerinin reflü nefropatisinin oluşumunda etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın amacı, en güçlü serbest oksijen radikali temizleyicisi olan melatoninin reflü nefropatisini önlemede etkin olup olmadığını belirlemektir.

Gereç ve Yöntem: Ortalama ağırlıkları 3000 gr olan tavşanlar 5 gruba ayrıldı. Kontrol ve sadece melatonin verilen gruplar dışında; VUR, VUR+melatonin ve VUR+sham tedavi gruplarında sol tarafta VUR oluşturuldu. Melatonin uygulanan gruplarda melatonin 15 gün süreyle 20 mg/kg dozunda verildi. Ardından bilateral nefrektomi uygulandı. Reflü nefropatisini değerlendirmek amacıyla sintigrafik inceleme yapıldı, böbrek dokusunda malondialdehit (MDA) düzeylerine bakıldı ve histopatolojik inceleme yapılarak sağ-sol ve sol böbrekler karşılaştırıldı.

Bulgular: Sintigrafik incelemede, sağ-sol ve sol böbreklerin karşılaştırılmasında anlamlı bir fark bulunmadı ($P>0.05$). MDA seviyeleri açısından sağ-sol böbrekler karşılaştırıldığında VUR+melatonin grubunda sol böbreklerin MDA seviyeleri daha düşüktü ($P<0.05$). Sol böbrekler açısından VUR+melatonin grubu; kontrol, VUR ve VUR+sham tedavi grupları ile karşılaştırıldığında MDA seviyelerinin VUR+melatonin grubunda bu gruplara göre anlamlı bir şekilde düşük olduğu belirlendi ($P<0.05$). Histopatolojik incelemede ise; sağ-sol böbrekler karşılaştırıldığında VUR+melatonin grubunda anlamlı bir fark bulunmadı ($P>0.05$). Sol böbrekler açısından kontrol grubu, VUR grubu ile karşılaştırıldığında MNL infiltrasyonu ve fibröz skar oluşumunda anlamlı fark varken ($P<0.05$), VUR+melatonin grubu ile karşılaştırıldığında sadece MNL infiltrasyonu açısından anlamlı bir fark olduğu ($P<0.05$), fibröz skar açısından ise anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi ($P>0.05$).

Sonuç: Deneysel VUR modelinde böbreklerde MDA düzeyleri yükselmekte ve erken dönemde MNL infiltrasyonu, fibröz skar ve konjesyonla karakterize histopatolojik değişiklikler olmaktadır. Melatonin, lipid peroksidasyonunu önleyerek MDA seviyelerini düşürmekte ve fibröz skar oluşumunu engellemektedir. Ancak MNL infiltrasyonuna etki etmemektedir. Sonuç olarak melatoninin, VUR sonucu oluşan reflü nefropatisini önlemede etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: İskemi-reperfüzyon, vezikoureteral reflü, melatonin.

8. SUMMARY

Aim: It was reported that free oxygen radicals are effective in the occurrence of reflux nephropathy in vesicoureteral reflux (VUR). The aim of our study is to investigate if melatonin, which is the most effective scavenger of free oxygen radical, is effective in preventing reflux nephropathy.

Material and method: The rabbits, of which average weights were 3000 gr, were divided into five groups. VUR was performed in the left sides of the rabbits in the groups VUR, VUR+melatonin, and VUR+sham (except the group control and the group to which melatonin was injected). 20 mg/kg/day melatonin was injected to the groups, to which melatonin was given, for 15 days duration. After that bilateral nephrectomy was carried out. Scintigraphic investigation was carried out in order to evaluate reflux nephropathy. The levels of malondialdehyde (MDA) in the tissue of kidney were evaluated and right-left kidneys and the left kidneys were compared by making histopathologic examination.

Results: There was no significant difference in comparison of right-left kidneys and left kidneys in scintigraphic evaluation ($P>0.05$). When the left kidneys compared with right side in group VUR+melatonin, left kidneys MDA levels were lower than the right kidneys MDA levels ($P<0.05$). In the left kidneys evaluation, when the levels of MDA in group VUR+melatonin, were compared with groups control, VUR and VUR+sham treatment, MDA levels in group VUR+melatonin were significantly lower than the other groups ($P<0.05$). In histopathological examination, there was no significant differentiation between left and right kidneys in the VUR+melatonin group. In the left kidneys evaluation, there was significant difference when group control was compared with group VUR ($P<0.05$) regarding

mononuclear leucocyte infiltration (MNLI) and fibrose scar (FS) formation. There was significant difference between groups control and VUR+melatonin regarding only MNLI ($P<0.05$) and was no significant difference regarding FS ($P>0.05$).

Conclusions: The levels of MDA increase and histopathologic variations, such as MNLI , FS and congestion, occur in early period in the experimental VUR model of kidneys. Melatonin decreases the levels of MDA by inhibiting lipid peroxidation and prevents the occurrence of FS, but does not effect MNLI. As a result, we can say that melatonin is effective in preventing reflux nephropathy occurred due to VUR.

Key words: Ischemia-reperfusion, vesicoureteral reflux, melatonin.

9. KAYNAKLAR

- 1) Kramer S.A. Vesicoureteral reflux. In: Belman A.B, King L.R, Dunitz M, editors. Clinical Pediatric Urology . (4 th ed), 2004: 659-801.
- 2) Yıldırım İ, Dayanç M. Veziköüretal reflü (içinde), Güncel Çocuk Ürolojisi Ankara, 2004, Atlas kitapçılık, s:145-186.
- 3) Lerner GR, Fleischmann LE, Pcarlmutter AD: Reflux Nephropathy. North America Pediatric Nephrology 1987; 747-66.
- 4) Anderson GF, Smey P. Current concepts in the management of common urologic problems in infants and children. Pediatric Clin North Am 1985 ; 32: 1133-1149.
- 5) Okur H, Köse Ö, Kula M, Öztürk F, Muhtaroglu S, Sümerkan B. The role of infection and free oxygen radical damage in reflux nephropathy: an experimental study. The J Urol 2003; 169: 1874-77.
- 6) Turgut M, Baka M, Yurtseven M. Pineal glanddan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri, Arşiv 2002;11: 453-70.
- 7) Anisimov VN, Effect of exogenous melatonin- A Review, Toxicologic Pathology 2003; 31: 589-603.
- 8) Arıncı K, Elhan A. Ürogenital Sistem. Anatomi 2001; 1. cilt, s: 311-321.
- 9) <http://w3.gazi.edu.tr/web/cbasak/2.pdf>
- 10) Aytekin Y (çeviri). Junqueira L.C, Carneiro J, Kelley R.O (ed). Üriner sistem, Temel histoloji, İstanbul 1998; 8 th, s:359-77.

- 11)** Readman J. Anatomy of the genitourinary system. In: Gillenwater JY, Grayhack JT, Howards SS, Duckett JW (eds), *Adult and Pediatric Urology* (2 nd ed). Mosby Yearbook, St Louis 1991; 3 -62.
- 12)** http://www.pedisurg.com/PtEduc/Vesicoureteral_Reflux.htm (Texas pediatric surgical associates. 832; 325-7234).
- 13)** <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/19502.htm>
- 14)** O Neill J.A, Grosfeld J.L . Vesicoureteral reflux, *Principles of Pediatric Surgery* (2 nd ed). 2004; 710-24.
- 15)** Başaklar A.C. Vezikoüreteral reflü. *Bebek ve çocukların cerrahi ve ürolojik hastalıkları*. Ankara,2006; Palme yayıncılık, s:1289-1333.
- 16)** Kramer SA: Experimental vesicoureteral reflux. *Dialogues Pediatr Urol* 1984, 7:1.
- 17)** Ransley PG. Intrarenal reflux. Anatomic, dynamic and radiological studies. *Urol Res* 1977; 5:61.
- 18)** Danişmend N , Vezikoüreteral reflü (içinde). Yeker D (ed). *Çocuk Cerrahisi*. İstanbul 2005; Avrupa tıp kitapçılık, s: 645-54.
- 19)** Smellie JM, Edwards D, Hunter N. Vesico-ureteric reflux and renal scarring. *Kidney Int* 1975; 8:65–72.
- 20)** Goldraich NP, Goldraich IH, Anselmi OE, Ramos OL. Reflux nephropathy: the clinical picture in South Brazilian children. *Control Nephrol* 1984, 39:52–67.
- 21)** Roberts JA. Etiology and pathophysiology of pyelonephritis. *Am J Kidney Dis* 1991;18:1-9.
- 22)** Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992; 72: 65-83.
- 23)** Korthuis RJ, Smith JK, Carden DL. Hypoxic reperfusion attenuates postischemic microvascular injury. *Am J Physiol* 1989; 256:315-19.

- 24) Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991; 161: 488-503.
- 25) Halliwell B. Free radicals, antioxidant and human disease: Curiosity; cause or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-24.
- 26) Border JR. Multiple systems organ failure. *Ann Surg* 1992; 216:111-16.
- 27) Bone CR. Sepsis, the sepsis syndrome multiorgan failure: A plea for comparable definitions. *Ann Intern Med* 1991; 114:332-33.
- 28) Nowicki PT, Nankervis CA. The role of the circulation in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Clin Perinatol* 1994; 21: 219-34.
- 29) Arthur MJP, Bentley IS, Tanner AR. Oxygen derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology* 1985; 89: 112-14.
- 30) Yalman A: Oksijen radikalleri. *Sendrom* 1990; Mayıs: 83-85.
- 31) Parks DA, Bulkley GB, Grager DN. The role of oxygen-derived free radicals in digestive tract disease. *Surgery* 1983; 94: 415-22.
- 32) Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery* 1983; 94: 407-11.
- 33) Kloner AR, Przyklenk K, Whittaker P. Deleterious effects of oxygen radicals in ischaemic reperfusion. *Circulation* 1989; 80:1115-27.
- 34) Kılınç K: Oksijen radikallerinin üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya* 1985; 10: 60-89.
- 35) Yiğitbaşı T. Diabetes mellitus (tip 2) ve komplikasyonlarının patogeneğinde polimorfonükleer lökosit ve plazma antioksidan mekanizmalarının rolü. *Uzmanlık Tezi* Kayseri, 1994.
- 36) Lerner AB, Case JD, Takahashi Y. Isolation of melatonin, pineal factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958; 80: 2587.

- 37) Erlich SS, Apuzzo ML. The pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance, J Neurosurg 1985;63(3):321-41.
- 38) Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-An emerging mystery. Biochemical Pharmacology 1998; 56: 1265-72.
- 39) Ölmez E, Şahna E, Ağkadir M, Acet A. Melatonin:Emeklilik yaşı 80 olur mu?, Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi. 2000; 7(2):177-187.
- 40) Turgut M, Baka M, Yurtseven M. Pineal gland'dan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri. Arşiv 2002; 11:453-70.
- 41) Brzezinski A. Mechanisms of disease: Melatonin in humans. N England J Med 1997; 336 (3): 186-95.
- 42) Roseboom PH, Coon SL, Baler R, McCune SK, Weller JL, Klein DC. Melatonin synthesis: analysis of the more than 150-fold nocturnal increase in serotonin N-acetyltransferase messenger ribonucleic acid in the rat pineal gland. Endocrinology 1996;137(7):3033-45.
- 43) Touitou Y. Human aging and melatonin, Clinical Relevance. Experimental Gerontology 2001; 36: 1083-1100.
- 44) Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 1995.
- 45) Yurtçu M, Abasıyanık A, Avunduk MC, Karagözoğlu E, Abasıyanık F. Testis torsiyonundaki iskemi-reperfüzyon hasarını önlemede melatonin ve steroidin tek doz ve yedi günlük tedavilerinin etkileri. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 2005; 25 (4): 496-500.
- 46) Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ, Chen LD, Chen S, Manchester LC at al. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. Cancer Lett 1993; 70: 65-71.

- 47) Tan D, Reiter RJ, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Barlow-Walden LR. Both physiological and pharmacological levels of melatonin reduce DNA adduct formation induced by the carcinogen safrole. *Carcinogenesis* 1994; 15 (2): 215-8.
- 48) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 391-98.
- 49) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI. Protein measurement with folin fenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-75.
- 50) Chulananda D.A., Goonasekera end Chandra K. Abeysekera. Vesicoureteric reflux and reflux nephropathy. *Indian Journal of Pediatrics, Sri Lanka*, 2003; 70 (3): 241-49.
- 51) Politano C, Rambaldi PF, Mansi L, Di Toro R, La Manna A. Unilateral vesicoureteric reflux: Low prevalence of contralateral renal damage. *J Pediatr* 2001; 138: 875-879.
- 52) S.Guvel, F.Kılınc. Sterile vesicoureteral reflux decreases tubular cell apoptosis in rat kidney. *Urology* 2005; 65: 1244-48.
- 53) Smellie JM, Barratt TM, Chantler C. Medical versus surgical treatment in children with severe bilateral vesicoureteric reflux and bilateral nephropathy: a randomised trial. *Lancet* 2001; 357: 1329-1333.
- 54) Zhang YY, Bailey RR. A model of sterile vesicoureteric reflux in the sheep. *Pediatr Nephrol.* 1998;12(3):190-6.
- 55) Simsek F, Yucel S, Aktas M, Turkeri L. Ordinary glass spheres as an alternative injectable material for endoscopic correction of vesicoureteral reflux. *J Urol* 2004; 171: 1282-86.
- 56) Risdon RA, Yeung CK, Ransley PG. Reflux nephropathy in children submitted to unilateral nephrectomy: a clinicopathological study. *Clinical Nephrology* 1993; 40: 308-314.
- 57) Hodson CJ, Maling TMJ, McManamon PJ, Lewis MG. The Pathogenesis of reflux nephropathy (chronic atrophic pyelonephritis). *Br J Radiol* 1975; 48: 1-26.

- 58)** Ransley PG, and Risdon RA. Reflux and renal scarring. *Br J Radiol* 1978; 14 (suppl): 1.
- 59)** Paltiel HJ, Mulkern RV, Perez-Atayde A. Effect of chronic, low-pressure, sterile vesicoureteral reflux on renal growth and function in a porcine model: a radiologic and pathologic study. *Radiology* 2000; 217: 507-515.
- 60)** King LR: Vesicoureteral reflux, megaureter and ureteral reimplantation, in Walsh PC, Retik AB, Stamey TA (Eds): *Campbell's Urology*, 6 th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1992, vol 2, 1689-1743.
- 61)** Ferrari R, Ceconi C, Curello S. Oxygen-mediated myocardial damage during ischaemia and reperfusion : Role of the cellular defences against oxygen toxicity. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17: 337-45.
- 62)** Ak A, Oto A. Oksijen serbest radikalleri ve kalp hastalıkları. *Türkiye Klinikleri Kardiyoloji Dergisi* 1988; 1: 35-9.
- 63)** Boris Chertin, Udo Rolle, Amicur Farkas, Prem Puri. The role of nitric oxide in reflux nephropathy. *Pediatr Surg Int* 2002; 18:630-34.
- 64)** Rodriguez-Reynoso S, Leal C, Portilla-de Buen E, Castillo JC, Ramos-Solano F. Melatonin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2004; 116:242-47.
- 65)** Shima H, Ohshiro K, Puri P. Nitric oxide mediates renal damage in reflux nephropathy. *British Association of Paediatric Surgeons, XLV Annual International Congress*, 21-24 July 1998; Bristol, England.
- 66)** Vallance P, Collier J. Biology and clinical relevance of nitric oxide. *BMJ* 1994; 309: 453– 57.
- 67)** Johns RA. EDRF/Nitric oxide: The endogenous nitrovasodilator and a new cellular messenger. *Anesthesiology* 1991;75: 927-33.
- 68)** Kuo PC, Schroder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 1995; 221 : 220 – 35.

- 69)** Rolle U, Shima H, Puri P. Nitric oxide enhanced by macrophage-colony stimulating factor, mediates renal damage in reflux nephropathy. *Kidney Int* 2002; 62(2):507-13.
- 70)** Araujo CB, Barroso U Jr, Barroso VA, Vinhaes AJ, Jacobino M, Calado A et al. Comparative study between intravenous urography and renal scintigraphy with DMSA for the diagnosis of renal scars in children with vesicoureteral reflux. *Int Braz J Urol* 2003; 29(6):535-9.
- 71)** Kobayashi H, Miyakita H, Yamataka A, Koga H, Lane GJ, Miyano T. Serum basic fibroblast growth factor as a marker of reflux nephropathy. *J Pediatr Surg* 2004; 39(12): 1853-5.
- 72)** Kazuhiro Kaneyama, Hiroyuki Kobayashi, Atsuyuki Yamataka, Geoffrey J. Lane, Takeshi Miyano. Serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) concentrations in children with reflux nephropathy. *Pediatr Surg Int* 2005; 21:39-42.
- 73)** S. Cuzzocrea, B. Zingarelli, E. Gilad. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation. *J Pineal Res* 1997; 23: 106–116.
- 74)** A. Menendez-Pelaez, B. Poeggeler, R.J. Reiter. Nuclear localization of melatonin in different mammalian tissues: Immunocytochemical and radioimmunoassay evidence. *J Cell Biochem* 1994; 53: 373–382.
- 75)** J. Cabrer, S. Burkhardt, D.X. Tan. Autoxidation and toxicant-induced oxidation of lipid and DNA in monkey liver: Reduction of molecular damage by melatonin. *Pharmacol Toxicol* 2001; 89: 225–230.
- 76)** A. Wakatsuki, Y. Okatani, C. Izumiya. Melatonin protects against ischemia and reperfusion-induced oxidative lipid and DNA damage in fetal rat brain. *J Pineal Res* 1999; 26:147–152.
- 77)** Sofic E, Rimpapa Z, Kundurovic Z, Sapcanin A, Tahirovic I, Rustembegovic A, et al. Antioxidant capacity of the neurohormone melatonin. *J Neural Transm* 2005; 112:349-58.

78) El-Sokkary GH, Abdel-Rahman GH, Kamel ES. Melatonin protects against lead-induced hepatic and renal toxicity in male rats. *Toxicology* 2005; 15;213(1-2):25-33.

79) Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, Altaner S, Aktas RG. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum. *Life Sci* 2005; 18;76(14):1575-88

10. TEŞEKKÜR

Asistanlık sürem boyunca bizlere bilgi ve tecrübeleri ile ışık tutan tüm hocalarıma, tez hocam ve Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Adnan ABASIYANIK'a, tezimi planlayan ve yürüten fakat tez yazımı tamamlanmadan görevinden ayrılan değerli hocamız Alaeddin DİLSİZ'e, Prof. Dr. Engin GÜNEL hocamıza, deneysel çalışma ve ingilizce tercümedeki yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Müslim YURTÇU'ya, biyokimyasal çalışmayı yapan Uzm. Dr. Öznur KÖYLÜ'ye, patolojik incelemeyi yapan Yrd. Doç. Dr. Hatice TOY'a, Radyoloji Anabilim Dalı Başkanı Kemal ÖDEV'e, istatistiksel çalışmadaki katkılarından dolayı Dr. Lütfi Saltuk DEMİR'e, sintigrafik çalışmada yardımcı olan Konya Nükleer Tıp Merkezi'nin sahibi Uzm. Dr. Nuri Ahmet SEZER'e, biyokimyasal çalışma için laboratuvarını bize açan Veterinerlik Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Behiç SERPEK'e, melatonin hakkında teorik ve pratik bilgi birikiminden faydalandığım Doç. Dr. Abdulkerim Kasım BALTACI'ya, tavşanların özenli bakımını yapan ve deneysel çalışmada yardımcı olan Arif ÇAKIR'a, fotoğraf çekimlerini yapan Metin GÖROĞLU'na teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Ayrıca uzmanlık eğitimim süresince beraber çalıştığım kıdemlilerim ve diğer asistan arkadaşlarıma, Çocuk Cerrahisi Kliniği'nin tüm hemşire ve personeline, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ailem ve yakınlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Şenol BİÇER

Konya-2007