

# DeneySEL Üreter obstrüksiyonunun açılması sonrası böbrekte gelişen iskemi-reperfüzyon hasarının incelenmesi\*

Canan ALDIRMAZ AĞARTAN, Tanju AKTUĞ, Mustafa OLGUNER, Feza M. AKGÜR,  
Oğuz ATEŞ, Güldal KIRKALI

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ve Biyokimya Anabilim Dalları, İzmir

## Özet

**Önbilgi/Amaç:** Akut üreter obstrüksiyonu sonrası meydana gelen renal hasardan, obstrüksiyon dönemi kadar, obstrüksiyonun açılmasını izleyen reperfüzyon döneminin de sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda sıçanlarda 24 saatlik tek taraflı üreter obstrüksiyonu oluşturularak, iskemi-reperfüzyon hasarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Yöntem:** İskemi reperfüzyon hasarının tespiti için lipid pe-roksidasyonu ürünleri olan TBARS ve okside olmamış protein sülfidril gruplarını gösteren okside olmamış proteinlerin sülfidril gruplarının (RSH) doku düzeyleri belirlenmiş ve ilgili renal vende BUN ve kreatinin düzeylerine bakarak böbrek işlevindeki etkiler araştırılmıştır. Oluşması muhtemel hasar da allopurinol ve trasyolol ile önlenmeye çalışılmıştır.

**Bulgular:** Çalışmada grupların doku TBARS düzey ortalamaları arasında bir fark bulunamadı ( $p>0.05$ ), allopurinol ve trasyolol ile tedavi edilen gruplarda ise RSH düzeyleri ortalamaları anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p<0.005$ ). Böbrek işlevlerine yönelik değerlendirdiğimiz BUN ve kreatinin gibi parametrelerde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

**Sonuç:** Bu bulgular bize üreter obstrüksiyonu sonrası serbestleştirme döneminde belirgin iskemi-reperfüzyon hasarının olmadığını göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Üreter, obstrüksiyon, iskemi-reperfüzyon, allopurinol

## Summary

**Investigation of the ischemia-reperfusion injury to the kidney, following release of the experimental ureteral obstruction**

**Background/Aim:** For renal injury occurring during acute ureter obstruction it is thought that, the reperfusion period following the release of the obstruction is as responsible as the obstruction period. In this study a 24 hour unilateral acute ureter obstruction was performed in rats and the ischemia-reperfusion injury was investigated.

**Methods:** We investigated the ischemia-reperfusion injury by evaluating the tissue levels of TBARS, a lipid peroxidation product and RSH, a nonoxidated protein sulfhydryl group. Blood samples were taken from the ipsilateral renal vein and serum BUN and creatinine levels were measured to evaluate renal functions. The expected ischemia-reperfusion injury was attempted to be prevented with allopurinol and trasyolol.

**Results:** In this study no significant difference was identified among the average of tissue TBARS levels of the groups ( $p>0.05$ ). In the low dose allopurinol and trasyolol treatment groups, the average of the RSH levels were found to be significantly higher ( $p<0.005$ ).

**Conclusion:** We can conclude that, after the release of acute ureter obstruction, the ischemia-reperfusion injury is not significant.

**Key words:** Ureter, obstruction, ischemia-reperfusion, allopurinol

## Giriş

Akut üreter obstrüksiyonu, klinikte çeşitli nedenlerle karşımıza çıkabilmektedir. Üreter obstrüksiyonu

\* XVI. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinde sunulmuştur (14-17 Ekim 1998, Antalya)

**Adres:** Dr. Canan Aldırmaz Ağartan Namık Kemal Cad. No: 30/1 Pendik-İstanbul

**Yayına Kabul Tarihi:** 26.06.2001

nu izleyen dramatik patofizyolojik değişiklikler renal kan akımını da ileri derecede etkiler. Bir haftadan daha kısa süren obstrüksiyonlar sonrası fonksiyonların geri döndüğü gösterilmiş ise de (12) kan akımındaki uzun süren azalma, böbreğin hipoksik atrofisi ile sonuçlanabilmektedir (13).

Akut üreter obstrüksiyonunda böbrek hasarının iki

dönemde olduğu öne sürülmektedir; obstrüksiyon sırasında ve obstrüksiyonun kaldırılmasını izleyen dakikalarda. Deneysel olarak üreterin 24 saatlik obstrüksiyonu sonrası, obstrüksiyonun kaldırılmasını izleyen dakikalarda alınan kan örneklerinde, serbest radikal salınımının indirekt göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeylerinin sınırlı yüksekliği saptanarak reperfüzyon hasarı geliştiği bildirilmiştir (13).

Çalışmamızda akut üreter obstrüksiyonunun açılmasından sonra reperfüzyon hasarı gelişip gelişmediğini, eğer gelişiyor ise bunu reperfüzyon hasarı sonucu oluşan lipid peroksidasyonu son ürünleri olan tiyobarbitürik asid ile reaksiyona giren madde (TBARS) ve okside olmamış proteinlerin sülfidril (RSH) gruplarını kullanarak araştırmak istedik. Olası reperfüzyon hasarını da; ksantin oksidaz enzimini inhibe eden allopurinol, lökositlerin lizozomal enzimlerinde üretilen ve salınan süperoksidi inhibe ederek serbest radikal oluşumunu önleyen Trasyolol (9) kullanarak engellemeye çalıştık.

## Gereç ve Yöntem

*Deney hayvanı olarak ağırlıkları yaklaşık olarak 300 gr olan erkek Wistar-Albino türü sıçanlar kullanıldı. Model olarak Young ve arkadaşlarının çalışmasındaki tek taraflı üreter obstrüksiyonu ile oluşturulan göreceli iskemi-reperfüzyon modelini kullandık (13). Sıçanlar, 50 mg/kg intramusküler ketamin enjeksiyon ile anestezileri sağlandıktan sonra, sırt üstü pozisyonda tespit edildiler. Orta hat laparotomi ile batına ulaşılarak, sol üretere 3/0 serbest ipek ile ligasyon uygulandı, vücut ağırlıklarının % 2.5'ü kadar ısıtılmış serum fizyolojik ile volüm replasmanı yapıldı. Batın 4/0 ipek ile kapatıldı.*

*Relaparotomide sol böbrek pelvisinin ve üreterin dolgun olarak gözlenmesi ilk operasyonda üreter obstrüksiyonun yeterli olarak yapıldığını gösteriyordu, sol üreter bağlama bölgesinin hemen üzerinden kesilerek serbestleştirildi, idrar çıkışının olduğu gözlemlendi. Otuzuncu dakikada nefrektomileri yapıldı.*

*Beş adet çalışma grubu oluşturuldu;*

*1. Kontrol grubu; sistemik kan örnekleri alındıktan sonra sol nefrektomi yapıldı (n=7).*

*2. Sham grubu; ilk operasyon ve 24 saat sonraki ikinci operasyonda, iki kez üreter manüplasyonunu takip eden 30. dakikada nefrektomi yapılan grup (n=7).*

*3. Obstrüksiyon grubu; Sol üreter ligasyonunu takiben 24 saat sonraki ikinci operasyon sırasında üreter obstrüksiyonun giderilmesinden 30 dakika sonra sol nefrektomi yapılan grup (n=8).*

*4. Allopurinol tedavi grubu; Sol üreter ligasyonunu takip eden 24 saat sonraki ikinci operasyondan 20 dakika önce intraperitoneal 25 mg/kg allopurinol verilip üreter serbestleştirildikten 30 dakika sonra sol nefrektomi yapılan grup (n=8).*

*5. Trasyolol tedavi grubu; Sol üreter ligasyonunu takiben ikinci operasyonda üreter serbestleştirilmeden 10 dakika önce intravenöz 2500 KIÜ/kg trasyolol verilip üreter serbestleştirilmesinin yaklaşık 30. dakikasında sol nefrektomi yapılan grup (n=8).*

*İkinci operasyonda sıçanların sol renal venlerinden kan alınarak (0.4 ml) üre ve kreatinin değerlerine bakıldı.*

*Nefrektomi metaryelleri, Ependorf plastik, kapalı tüplere konularak -70°C derecedeki derin dondurucuda doku homojenizasyonuna kadar muhafaza edildi. Çözümleri beklenmeden bir bistüri yardımı ile yaklaşık 0.2 gr'lık parçalara teker teker ayrıldı.*

*TBARS düzeylerinin belirlenmesi: Biyolojik serbest radikal reaksiyonlarından lipid peroksidasyonu, malondialdehiti de (MDA) içine alan TBARS ile gösterilebilir. TBARS yaygın olarak, serbest radikal oluşumunu indirek gösteren, fazla özgün olmayan bir belirteç olarak kullanılır (4). Lipid peroksidasyonu ürünleri tiobarbitürik asit ile ısıtılınca renkli bir kimyasal yapı oluştururlar (TBA reaksiyonu). Çalışmamızda kullanılan TBARS ölçümü TBA testi ile spektrofotometrik olarak çalışılan basit ve nonspesifik bir yöntemdir. TBARS konsantrasyonları nmol/mg protein olarak ifade edildi.*

*RSH gruplarının saptanması: 0.5 ml kadar doku homojenatı 1ml solüsyonla (100 mM Tris.HCl, % 1 sodyum dodecyl sulfat ve 2 mM EDTA) karıştırıldı. 1 ml 5-aminosalisilik asid eklenerek 5 dak. 25°C inkübasyon ardından santrifüje edildi. DTNB (0.3 mM) eklenerek 15 dak 37°C bekletildi ve spektrofotometrede okundu.*

Grupların istatistiksel karşılaştırılmalarında non parametrik ANOVA (Kruskal-Wallis) testi kullanıldı. *p*'nin 0.05 den küçük değerleri anlamlı olarak kabul edildi

## Bulgular

Çalışma gruplarının TBARS ve RSH değerlerinin ortalamaları Tablo I'de belirtilmiştir. Sol renal venlerden alınan kanlardaki BUN ve kreatinin değerleri Tablo II'de verilmiştir.

TBARS düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). RSH düzeylerinde ise gruplar arasında istatistiksel anlamlılık bulundu ( $p<0.005$ ). Bu anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak amacıyla Tukey-HSD testi kullanıldı. Grup 4 (allopurinol tedavi grubu) ve Grup 5 (trasyolol ile tedavi edilen grup) in bu anlamlılığa neden oldukları saptandı.

## Tartışma

Ülkemizin de içinde bulunduğu bazı ülkelerde üriner sistem taşları endemik olarak görülmektedir. Bir ulusal çalışmada çocuklarda üriner sistem taş insi-

Tablo II. TBARS ve RSH düzeylerinin gruplara göre ortalama değerleri.

Yerleşim	TBARS nmol/mg protein	RSH nmol/mg protein
Kontrol grubu	44.3±7.6	112.7±4.7
Sham grubu	46.6±5.1	117.1±4.2
Obstrüksiyon grubu	40.4±5.0	124.2±6.7
Allopurinol tedavi grubu	48.5±8.1	129.3±2.5
Trasyolol tedavi grubu	42.5±7.1	129±8.6

Gruplar arasında TBARS düzeyleri ortalamaları açısından istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı ( $p>0.05$ ). Allopurinol ve Trasyolol gruplarında RSH düzeylerindeki yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.005$ ). TBARS: Tiyobarbitürik asid ile reaksiyona giren madde, RSH: Okside olmamış proteinlerin sülfidril

Tablo II. TBARS ve RSH düzeylerinin gruplara göre ortalama değerleri.

Yerleşim	BUN (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)
Kontrol grubu	15.5±1.9	0.5±0.1
Sham grubu	19.4±3.1	0.41±0.1
Obstrüksiyon grubu	27±3.9	0.53±0.5
Allopurinol tedavi grubu	27.1±5.7	0.46±0.5
Trasyolol tedavi grubu	25.6±5.3	0.56±0.0

dansı 1:1000 ve 1:1700 oranında bildirilmiştir (1). Bu olguların % 18.9'luk kısmını üreter taşı oluşturmaktadır. Akut üreter obstrüksiyonuna yol açan birçok neden sayılabilirse de en sık karşılaşılan sorun "taş" gibi görünmektedir. Diğer nadir nedenler arasında, Henoch- Schoenlein purpurası seyrinde peri üretral vaskülit (2), renal fungus topları (6), enfekte urakal kist (8), post operatif üretral reimplantasyon (3), flegmanöz appendektomi sonrası (5,11) akut obstrüksiyonlar literatürde bildirilmektedir.

Akut üreter obstrüksiyonunda meydana gelen patofizyolojik olaylar özellikle de kan akımında azalma, böbreğin hipoksik atrofisine kadar giden süreci başlatır (13). Renal hasardan, obstrüksiyon sonucu üriner yolda yükselen basınç kadar, obstrüksiyon sırasında meydana gelen iskemi ve üreterin açılmasını izleyen kan akımındaki artış sonucu gelişebilecek reperfüzyon yaralanmasının da sorumlu olabileceği düşünülmektedir (13).

Reperfüzyon hasarının en önemli nedeni, artan serbest oksijen radikallerinin, plazma ve organel membranları ile vasküler endotel hücre membranında başlattıkları lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehit yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu sitotoksik metabolitler; malondialdehit (MDA), 4-4 hidroksinonenal gibi aldehidlerdir. TBARS, iskemi reperfüzyon olayında lipid peroksidasyonunun en duyarlı olduğu göstergelerdendir (4). TBARS reperfüzyon döneminde lipid peroksidasyonu ile ortaya çıkan bir çok aldehid grubunu gösterir. RSH düzeyi protein oksidasyonunu gösteren bir biokimyasal belirteçtir. Çalışmamızda bu iki biyo-belirteçlerden faydalanarak akut üreter obstrüksiyonunda iskemi-reperfüzyon hasarını doku düzeyinde araştırdık.

Bir çalışmada, 24 saatlik tek taraflı üreter obstrüksiyonunu izleyen üreter obstrüksiyonunun giderilmesi sonucu ortaya çıkan serbest radikallere bağlı reperfüzyon hasarı, kan örneklerinde MDA artışı HPLC (high performance liquid chromatography) yöntemi ile gösterilmiştir (13). Bu çalışma incelendiğinde; kontrol obstrüksiyon grubu MDA düzeyleri karşılaştırılmasında 10. ve 20. dakikada her iki grup arasındaki farkın anlamlı olduğu belirtilmiş, allopurinol ile serbest radikallerin kısmen azaldığı bildirilmiştir (13). Allopurinol bu çalışmada 100 mg/kg

olarak kullanılmış ve sonuçta reperfüzyon hasarının birçok kaynak tarafından oluşturulduğu, ksantin oksidaz enzimi yolunun ise bunlardan sadece biri olduğu için kısmen etkili olabildiği vurgulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, obstrüksiyon, kontrol grubu ile obstrüksiyon-allopurinol, kontrol-allopurinol gruplarının 0. dakikalarında kanda saptanan MDA düzeyleri allopurinol verilen gruplarda bir miktar yüksek olduğu görülmektedir <sup>(13)</sup>. Bu sonuçların nefrotoksik dozda kullanılmış olan allopurinole bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Diğer bir çalışmada ise, sıçanlara 3 gün süreyle subkutan 100 mg/kg allopurinol vererek nefrotoksisite nedeni araştırılmıştır. Plazma kreatinin konsantrasyonunda, renal MDA, hipoksantin, ksantin içeriği ve ksantin oksidaz aktivitesinde artma, süperoksit dismutaz ve katalaz da ise azalma saptanmıştır. Bu araştırmacılar allopurinol nefrotoksisitesini, lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikal artışı ve koruyucu etmenlerin düşüşüne bağlamışlardır <sup>(10)</sup>. Çalışmamızı planlarken Suzuki ve arkadaşlarının makalesini dikkate alarak nefrotoksisite ve yanıtıcı sonuçlara neden olabileceğinden allopurinolu 100 mg/kg yerine 25 mg/kg dozunda kullandık.

Çalışmamızda, her ne kadar “high performance liquid chromatography (HPLC)” ile MDA düzeyi belirlenmesi kadar duyarlı bir yöntem kullanılsa da, reperfüzyon hasarının önemli göstergelerinden birisi olan lipid yıkım ürünlerinden spektrofotometrik olarak saptanan TBARS düzeyleri ortalamaları gruplar arasında anlamlı bir fark göstermemiştir. Anlamlı bir değişim olmaması, hiç olmaz ise, akut üreter obstrüksiyonu giderildiğinde oluşan kan akımı artışının ağır bir reperfüzyon hasarına yol açmadığının bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Reperfüzyondaki okside olmamış proteinleri gösteren doku RSH düzeylerinin allopurinol ve trasyol verilen gruplarda yükselmesinde ise, doğal antioksidan mekanizmalara adı geçen ilaçların da katkısı olduğunu söyleyebiliriz. Böbrek işlevlerine yönelik değerlendirdiğimiz BUN ve kreatinin gibi parametrelerde gruplar arası bir fark bulunmaması da bu te-

zimizi destekler. Geniş membran yapıları ile işlev gören böbreklerde, işlevin bozulmaması ağır membran lipid yıkımı olmadığının diğer bir dolaylı göstergesidir.

Çalışmamız ve söz konusu çalışmaların sonuçları birleştiğinde; üreter obstrüksiyonu açılmasının sınavlı bir reperfüzyon yükü getirdiğini, ancak ağır bir reperfüzyon hasarı oluşturmadığı söylenebilir.

## Kaynaklar

1. Gökdemir A, Avanoğlu A, Ulman İ: Pediatric urinary lithiasis in Turkey. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 1:299, 1995
2. Bruce RG, Bishof NA, Jackson EC et al: Bilateral ureteral obstruction associated with Henoch-Schoenlein purpura. *Pediatr Nephrol* 11:347, 1997
3. Ellsworth PI, Barraza MA, Stevens PS: Bilateral ureteral obstruction secondary to a retrovesical hematoma following bilateral ureteral reimplantation via the Cohen technique. *J Urol* 154:1498, 1995
4. Gutteridge JMS: Lipid peroxidation and antioksidants as biomarker of tissue damage. *Cilin. Chem* 41:1819, 1995
5. Hugen CA, Mulders PF, Monnens LA, et al: Bilateral ureteral obstruction after appendectomy in children. *J Pediatr Surg* 30:1666, 1995
6. Papaevangelou V, Lawrence R, Kaul A et al: Acute renal failure in a human immunodeficiency virus-infected child secondary to bilateral fungus ball formation. *Pediatr Infect Dis J* 14:401, 1995
7. Rosen GM: A method for the detection of superoxide in biological systems. *Arch Biochem Biophys* 215:367, 1982
8. Sarihan H: Ureteric obstruction due to an infected urachal cyst. *Br J Urol* 76:266, 1995
9. Shandall AA, Williams GT, Hallett MB, et al: Colonic healing: a role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production. *Br J Surg* 73:225, 1986
10. Suzuki Y, Sudo J: Possible mechanism responsible for allopurinol-nephrotoxicity: Lipid peroxidation and systems of producing- and scavenging oxygen radicals. *Jpn J Pharmacol* 45:271, 1987
11. Timm K, Illi OE, Leumann E, et al: Postrenal anuria after appendectomy in childhood. *Eur J Pediatr Surg* 7:237, 1997
12. Vaughan E D and Gillenwater JY: Recovery following complete unilateral ureteral obstruction. *J Urol* 106:27, 1971
13. Young MRA, Young SI, Johnston SR, et al: Lipid peroxidation assessment of free radical production following release of obstructive uropathy. *The J Urol* 156:1828, 1996