

**T. C.  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI SÜRELERDEKİ ÜRİNER  
OBSTRÜKSİYON VARLIĞINDA VÜCUT DIŞI  
ŞOK DALGALARININ BÖBREKTE  
OLUŞTURDUĞU DEĞİŞİKLİKLERİN  
HİSTOPATOLOJİK OLARAK VE HSP-70  
EKSPRESYONU KULLANILARAK  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. M. BAHATTİN ULU**

**AFYONKARAHİSAR 2007**

**T. C.**  
**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARKLI SÜRELERDEKİ ÜRİNER**  
**OBSTRÜKSİYON VARLIĞINDA VÜCUT DIŞI**  
**ŞOK DALGALARININ BÖBREKTE**  
**OLUŞTURDUĞU DEĞİŞİKLİKLERİN**  
**HİSTOPATOLOJİK OLARAK VE HSP-70**  
**EKSPRESYONU KULLANILARAK**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. M. BAHATTİN ULU**

**TEZ DANIŞMANI: YRD. DOÇ. DR. EMRE TÜZEL**  
**AFYONKARAHİSAR 2007**

**T.C.**  
**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tez Başlığı** : Farklı sürelerdeki üriner obstrüksiyon varlığında vücut dışı şok dalgalarının böbrekte oluşturduğu değişikliklerin histopatolojik olarak ve HSP-70 ekspresyonu kullanılarak değerlendirilmesi.

**Tezi Hazırlayan** : Dr. M. Bahattin Ulu

**Tez Savunma Tarihi** :

**Tez Kabul Tarihi** :

**Tez Danışmanı** : Yrd. Doç. Dr. Emre Tüzel

İş bu çalışma jürimiz tarafından ÜROLOJİ ANABİLİM DALI'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**BAŞKAN**  
Doç. Dr. Cem GÜLER

**ÜYE**  
Doç. Dr. Serap DEMİR

**ÜYE**  
Doç. Dr.Coşkun POLAT

**ÜYE**  
Yrd. Doç. Dr. Emre TÜZEL  
YILMAZ

**ÜYE**  
Doç. Dr. Sezgin

**DEKAN**  
Prof. Dr. Ahmet ÇEKİRDEKÇİ

## **Teşekkür...**

Uzmanlık eğitimim süresince eğitimime katkıda bulunan ve başta değerli anabilim dalı başkanımız, hocam sayın Doç. Dr. Cem Güler'e, çalışmamın planlanması ile yürütülmesinde önemli destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli tez danışmanım, hocam Yrd. Doç. Dr. Emre Tüzel'e, ayrıca çalışmamın planlanmasındaki katkılarından dolayı değerli hocalarım Doç. Dr. Murat Demirbaş'a, Doç. Dr. Murat Şamlı'ya, tezin oluşumunda büyük katkıları olan Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Fatma Aktepe'ye, manevi desteğini esirgemeyen tüm asistan arkadaşlarıma, Anabilim Dalı çalışanlarıma, ayrıca anlayışları ve destekleri için sevgili aileme, çalışmalarım süresince bana destek olan sevgili eşim Esra'ya ve oğlum Ali'ye teşekkür ederim.

Dr. M.Bahattin Ulu  
AFYONKARAHİSAR 2007

## İÇİNDEKİLER

I-GİRİŞ .....	1
II-GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. ÜNİLATERAL ÜRETERAL OBSTRÜKSİYON.....	2
2.1.1.ÜRİNER OBSTRÜKSİYON MODELİ OLUŞTURULAN DENEYSEL ÇALIŞMALARDA BÖBREKTE GÖZLENEN DEĞİŞİKLİKLER.....	4
2.2. VÜCUT DIŞI ŞOK DALGALARI (ESWL).....	9
2.2.1. ESWL KOMPLİKASYONLARI.....	13
2.2.2. ESWL VE DENEYSEL HAYVAN ARAŞTIRMALARI.....	16
2.3. HEAT SHOCK PROTEİN (HSP).....	17
III-GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
IV-BULGULAR .....	33
V-TARTIŞMA.....	44
VI-SONUÇLAR.....	53
VII-ÖZET.....	55
VIII-SUMMARY.....	57
IX-KAYNAKLAR.....	59

## TABLÖLAR ÇİZELGESİ

TABLO - I.....	3
Obstrüktif nefropati nedenleri.	
TABLO - II.....	23
Sham grubu, Çalışma grupları ve Kontrol gruplarına yapılan işlemler.	
TABLO - III.....	33
Böbrek boyutlarının makroskopik olarak çalışma, kontrol ve sham grubu arasında karşılaştırılması.	
TABLO- IV.....	33
Proksimal tübülüs hücrelerindeki değişikliklerin ışık mikroskopi bulgularının çalışma, kontrol ve sham grubu arasında karşılaştırılması.	
TABLO- V.....	36
Peritübüler alanda fibrozis, konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonun ışık mikroskopi bulgularının çalışma ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.	
TABLO- VI.....	38
Kortikal kollektör tübülüslerdeki immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının sham grubu ile karşılaştırılması.	
TABLO- VII.....	38
Kortikal kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının çalışma ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.	

TABLO - VIII.....	40
Medüller kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının sham grubu ile karşılaştırılması.	
TABLO- IX.....	40
Medüller kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının çalışma ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.	
TABLO- IX.....	41
Obstrüksiyon ve ESWL sonrası glomerüllerde tespit edilen boyanma skorlarının sham grubu ile karşılaştırılması.	
TABLO- XI.....	41
Glomerüllerde çalışma gruplarında tespit edilen boyanma skorlarının kontrol grupları ile karşılaştırılması.	

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

Şekil-1.....	11
Elektrohidrolik şok dalga jeneratörünün şematik görüntüsü. Şok dalgası yaratmak için kullanılmakta olan elektrot şematize edilmiştir.	
Şekil-2.....	22
Deney hayvanlarının bakımının yapıldığı üniteler.	
Şekil-3.....	24
Steril şartlarda gerekli arıtım ve örtüm işlemi yapılmış hali.	
Şekil-4.....	25
Cilt kesisi yapıldıktan sonraki görüntü.	
Şekil-5.....	26
Proksimal üreterin absorbe olmayan sütürle bağlandığı bölge (ok işareti).	
Şekil-6.....	26
Böbreğe ESWL uygulanırken odaklamaya yardımcı olması için yerleştirilen klipler (ok işaretleri).	
Şekil-7.....	27
Operasyon sonrası pansuman yapılmış hali.	
Şekil-8.....	28
ESWL cihazı (Multimed Classic, 2006, Ankara, Türkiye ).	



Şekil-9.....	29
Anestezi altında tavşana ESWL uygulanması.	
Şekil-10.....	29
Skopide her iki klipin ortasını (böbrek parankimini) hedef alan odak görüntüsü.	
Şekil-11.....	30
Üreteral ligasyon sonrası 4. günde böbreğin makroskopik görünümü.	
Şekil-12.....	31
Dört gün hidronefroz sonrası böbreğin makroskopik boyuna kesiti	
Şekil-13.....	34
Hidronefroz sonrası 6. gün ESWL uygulanmış böbrekte normal görünümlü glomerüller ve tübülüslerde belirgin dilatasyon (H&E, x40).	
Şekil-14.....	35
Hidronefroz sonrası 6. gün ESWL uygulanmış böbrekte, büyük büyütme ile konjesyon ve tübülüslerdeki dilatasyon, epitelde şişme, çizgili kenar kaybı, sitoplazmik eozinifili, nükleer piknoz (H&E, x400).	
Şekil-15.....	35
Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte proksimal tübülüs epitelinde şişme, çizgili kenar kaybı ve sitoplazmik eozinofili (H&E, x400).	
Şekil-16.....	37
Sham grubuna ait böbrek histolojik kesiti. Glomerüller ve tübülüsler normal görünümde (H&E, x200).	

Şekil-17.....	37
Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrek dokusunda interstisyel mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (H&E, x100).	
Şekil-18.....	39
Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte toplayıcı kanallarda HSP-70 antikoruna ile immunohistokimyasal olarak [++] 2 sitoplazmik ve nükleer boyanma (HSP-70, x200).	
Şekil-19.....	39
Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte toplayıcı kanallarda [++] 2 nükleer boyanma (HSP-70, x200).	
Şekil-20.....	42
Sham grubunda immunohistokimyasal olarak HSP-70 ile boyanmanın olmadığı böbrek kesiti (HSP-70, x40).	
Şekil-21.....	42
Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte HSP-70 antikoruna ile kırmızı renkte pozitif boyanan glomerüller görülmektedir (HSP-70, x40).	
Şekil-22.....	43
Büyük büyütme ile glomerüllerde HSP-70 pozitifliği (HSP-70, x400).	

## KISALTMALAR

<b>ACE</b>	: Anjiotensin-konverting enzim
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>CAMP</b>	: Siklik adenozin monofosfat
<b>C<sub>osm</sub></b>	: Absolu osmalar klirens
<b>ESWL</b>	: Extracorporeal shock wave lithotripsy
<b>F1</b>	: Elektrod odağı
<b>F2</b>	: Taşın üzerindeki odak noktası
<b>GFR</b>	: Glomerüler filtrasyon oranı
<b>HSF</b>	: Heat shock factor
<b>HSP-70</b>	: Heat shock protein-70
<b>IM</b>	: İnamusküler
<b>IV</b>	: İnavenöz
<b>K</b>	: Potasyum
<b>kV</b>	: Kilovolt
<b>MNH</b>	: Mononükleer hücre
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentaz
<b>PGE<sub>2</sub></b>	: Prostaglandin E <sub>2</sub>
<b>RKA</b>	: Renal kan akımı
<b>RNA</b>	: Ribonükleik asit
<b>TGF-β</b>	: Transforme edici büyüme faktörü- β
<b>ÜÜO</b>	: Tek taraflı üreter obstrüksiyonu

## I. GİRİŞ

Üriner sistemin herhangi bir yerinde idrar akımını engelleyen bir nedenin varlığı, obstrüktif üropati olarak tanımlanır. Obstrüktif nefropati terimi ise, üriner sistemin herhangi bir yerindeki obstrüksiyon nedeniyle, oluşan böbrek parankim hasarını akla getirmelidir.

Obstrüksiyona neden olan faktörlerden en önemlilerinden biri üriner sistem taş hastalığıdır. Vücut dışı şok dalgaları (ESWL) son yirmi yıldır üriner sistem taş hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkin bir tedavi yöntemidir. Üriner obstrüksiyon ve hidronefroz varlığında ESWL'nin tedavi etkinliğinin değişmediği gösterilmiştir. Ancak literatürde obstrüksiyon varlığında ESWL uygulanmasının böbrekte oluşturabileceği olası hasarları araştıran bir çalışma yoktur.

Bu çalışmada tavşan modelinde değişik sürelerde üriner obstrüksiyon varlığında ESWL'nin böbrekte oluşturduğu zararlı etkilerin histopatolojik olarak ve HSP-70 ekspresyonu kullanılarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## II. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ÜNİLATERAL ÜRETERAL OBSTRÜKSİYON

Böbreğin temel işlevi homeostazisin sürdürülebilmesi için metabolik yolakların son ürünleriyle, uygun miktarda su ve elektrolit içeren ancak protein içermeyen bir ultrafiltrat oluşturmaktır. Üriner sistemin diğer kısımlarının görevi ise, oluşan bu idrarı depolamak ya da boşaltmaktır. Bu sistemin, herhangi bir yerinde idrar akımını engelleyen bir nedenin varlığı, obstrüktif üropati olarak tanımlanmaktadır. Obstrüktif nefropati terimi ise, üriner sistemin herhangi bir yerindeki obstrüksiyon nedeniyle, oluşan böbrek parankim hasarını akla getirmelidir. Hidronefroz terimi; (Yunanca hydro "su"), (Yunanca nefron "böbrek") ve (osis "durum") kelimelerinden türetilmiştir. Genellikle idrar akımının obstrüksiyonu nedeniyle, böbrek pelvisi ve kalikslerin dilatasyonu olarak tanımlanmıştır. Ancak, böbrek pelvisi ve kalikslerin obstrüksiyonsuz da dilate olabilmeleri nedeniyle bu tanım pek de doğru sayılamaz. Hidronefroz, pelvis ve kalikslerin dilatasyonunun nedenini değil, sadece dilatasyon varlığını tanımlayan bir terim olarak kullanılmalıdır.

Böbrek, üreter, mesane ve üretrada görülen patolojiler obstrüktif nefropatiye neden olabilir (Tablo-I) (1).

ÜÜO (ünilateral üreteral obstrüksiyon), üst üriner sistemde birtakım anatomik değişikliklere neden olmaktadır. En önde gelen interstisyel değişiklik fibrozis, kollajen ve diğer ekstrasellüler matriks komponentlerinin birikimidir. Fibrozis ile birlikte interstisyumun selüler kompozisyonundaki değişikliklerin yanı sıra çok sayıda diğer biyolojik aktif moleküllerin ekspresyonunda da değişiklikler olmaktadır. İnterstisyel fibrozisin tübülleri ve interstisyel kapillerleri oblitere ederek böbrek hastalıklarının çoğunda, renal fonksiyon azalmasının majör belirleyicisi olabildiği varsayılmaktadır (2). İnterstisyumdaki değişiklikleri hedef alan deneysel araştırma modelleri geliştirilmektedir. Bu araştırmaların gelecekte ÜÜO'nun medikal tedavisine katkı sağlayabilecekleri düşünülmektedir.

**Tablo-I:** Obstrüktif nefropati nedenleri.

<b>Böbrek</b>	<b>Konjenital nedenler</b>	Polikistik böbrek, renal kist, üreteropelvik bileşkede fibröz obstrüksiyon, parapelvik kist, üreteropelvik bileşkede aberran damar.
	<b>Neoplastik nedenler</b>	Wilms tümörü, renal hücreli karsinom, renal pelvisin transizyonel hücreli karsinomu, multipl myelom.
	<b>İnflamatuvar nedenler</b>	Tüberküloz, ekinokok enfeksiyonu.
	<b>Metabolik ve diğer nedenler</b>	Taş, papiller nekroz, travma, renal arter anevrizması.
<b>Üreter</b>	<b>Konjenital nedenler</b>	Striktür, üreterosal, üreterovezikal reflü, üreteral valv, ektopik böbrek, retrokaval üreter, Prune-belly sendromu.
	<b>Neoplastik nedenler</b>	Üreterin primer karsinomu, metastatik karsinom.
	<b>İnflamatuvar nedenler</b>	Tüberküloz, şistozomiyazis, abse, üreteritis sistika, endometriyozis.
	<b>Diğer nedenler</b>	Retroperitoneal fibrozis, pelvik lipomatozis, aortik anevrizma, radyoterapi, lenfosit, travma, ürinom, gebelik.
<b>Mesane ve üretra</b>	<b>Konjenital nedenler</b>	Posterior üretral valv, fimozis, üretral striktür, hipospadias ve epispadias.
	<b>Neoplastik nedenler</b>	Mesane karsinomu, prostat karsinomu, üretra karsinomu, penis karsinomu.
	<b>İnflamatuvar nedenler</b>	Prostatit, paraüretral abse.
	<b>Diğer nedenler</b>	Benign prostat hipertrofisi, nörojenik mesane.

ÜÜO sonrası insan bubreğinde birtakım anatomik değişiklikler görülmektedir. Üreteral obstrüksiyon sonrası intrarenal ya da ekstrarenal bir

toplayıcı sisteminin varlığı, obstrüksiyonun süresi, derecesi ve enfeksiyon olup olmamasına bağlı olarak böbreğin görünümü değişmektedir. İntrarenal toplayıcı sisteminin etrafında renal parankimin varlığı, sistemin dilate olabilmemesini kısıtlamaktadır. Bununla birlikte, toplayıcı sistemin ekstrarenal olduğu durumlarda ekspansiyon renal parankim tarafından engellenememektedir. Bundan dolayı, ekstrarenal sistemle aynı derece ve sürede obstrükte olsalar bile intrarenal sistemde aynı derecede hidronefroz görülmeyebilir. Ancak renal hasarın derecesi daha kötü olabilir (1).

Akut komplet üreteral oklüzyonda, özellikle de intrarenal toplayıcı sistem varsa, toplayıcı sistemdeki değişiklikler çok az olabilir. Bu koşullarda toplayıcı sistemde dilatasyonun gelişmesi birkaç gün alabilir. Kronik obstrüksiyonda, yine obstrüksiyonun süresi ve derecesine göre aynı zamanda toplayıcı sistemin intrarenal ya da ekstrarenal oluşuna göre böbrek genişlemiş, normal ya da atrofik olabilir (3).

Toplayıcı sistem dilatasyonu, özellikle de ekstrarenal toplayıcı sistemi olanlarda, genellikle zamanla oluşmaktadır. Renal papillaya yavaş yavaş giderek artan kompresyona yol açmaktadır. Zaman içerisinde toplayıcı sistem öyle bir noktaya kadar genişler ki, kaliksler arasındaki doku inceler. En sonunda, kaliksler aralarındaki ince septa ile birleşir ve parankim periferde bir "kenar" ya da "kabuk" şeklinde kalır (1).

### **2.1.1. ÜRİNER OBSTRÜKSİYON MODELİ OLUŞTURULAN DENEYSEL ÇALIŞMALARDA BÖBREKTE GÖZLENEN DEĞİŞİKLİKLER**

Tavşanlarda hidronefrozun üreteral ligasyondan hemen bir gün sonra böbrek ağırlığında artış, papiller ve medüller yapıların kaybıyla beraber geliştiği gösterilmiştir. Tavşanlarda, üriner obstrüksiyon oluşturulduğunda böbrek ağırlığı ve pelvik sıvı volümündeki artışın üreteral ligasyondan 4 ay sonrasına kadar progresif olarak devam ettiği gösterilmiştir (4). Normal böbrek dokusu ile karşılaştırıldığında çok az bir böbrek dokusuyla birlikte renal parankimde kabuk gibi belirgin incelme olduğu gözlenmiştir (5).

Başlangıçta, mikroskopik değişikliklerin çoğu tübülüslerde sınırlı olup glomerüllerdeki etkilenme çok az olmaktadır. Boyutlarında hafif bir artış ve Bowman kapsülündeki kalınlaşma dışında glomerüller değişikliklere nispeten dirençlidir. Deneysel üreteral ligasyonun 231. gününe dek bağ dokusu proliferasyonu ve hyalinizasyon gelişimi görülmez; ve göreceli olarak sadece birkaç glomerülde vardır. İlk olarak, epitelin yassılaşması ile tübüllerin lümeni dilate olur. Obstrüksiyonun yaklaşık 21. gününde mikroskopik kesitte renal parankimin birkaç alanında zor ayırdedilebilen tübüller vardır (1).

Ratlarda 24 saatlik ÜÜO'dan sonra böbreğin papilla ve fornixinde hemoraji ve nekroz tespit edilmiştir. Obstrüksiyondan 30 dakika sonra bile apoptozise uğrayan hücreler görülmüştür. Henle kulpunun çıkan kolunda hafif hasar saptanmıştır (6).

ÜÜO sonrası böbrekte oluşan fibrozisi araştıran çalışmalar yapılmıştır. Tavşanlarda ÜÜO' dan sonraki 32. günde korteks ve dış medullada yaygın interstisyel kollajen artışı görülmüştür (7). Kollajen subtiplerinin immunohistokimyasal lokalizasyonları çalışılmıştır. ÜÜO'nun 16. günündeki tavşanlarda kollajen mRNA'sını lokalize edebilmek için insitu hibridizasyon kullanılmıştır. Bu çalışmalarda, interstisyel kollajen III ve IV ve fibronektin artışı ile birlikte interstisyel volumde artış gözlenmiştir. Kollajen I'deki artışın ise sadece fokal, peritübüler birikimler şeklinde olduğu bulunmuştur (7).

Doku yaralanmasının iyileşme sürecinde hem proliferasyon hem de apoptozis yer alır. Doku bu işlemlerin koordinasyonu ile iyileşebilir. Apoptozis ve/veya proliferasyon düzensiz olursa, dokuda fibrozis meydana gelir. ÜÜO'lu tavşanda interstisyel hücrelerin proliferasyonunu incelemek için yapılan çalışmalarda en fazla işaretlenmenin interstisyel fibroblastlarda olduğu bulunmuştur. Fazla işaretlenmiş olan korteks ve dış medullada hücreler genişlemiş bir interstisyel mesafe ile ayrılmıştır. İşaretlenmenin az olduğu iç medullada ise hücreler normal uzaysal ilişkilerini sürdürmüşlerdir (8). Tübüler apoptozis 15. günde maksimum iken, interstisyel apoptozisin 45. günde hala arttığı görülmüştür. Üç günlük ÜÜO'lu erişkin ratlarda apoptozis ve proliferasyon incelendiğinde hem tübüler hem de interstisyel kompartmanlarda apoptozis ve proliferasyonda artış olduğu tespit edilmiştir (9).



ÜÜO sonrası interstisyel hücrelerde değişiklikler oluşmaktadır. Tavşan böbreklerinde ÜÜO dan 24 saat sonrası kadar erken dönemde, kortikal interstisyel mesafenin genişlediği görülmüştür. Zamanla, kortikal interstisyel mesafede daha fazla genişleme ve fibroblastlar ile mononükleer hücrelerde bir artış tespit edilmiştir. Obstrüksiyonda interstisyumda bulunan bir kısım fibroblastların myofibroblastlara transforme olduğu gösterilmiştir (10). Morfolojik inceleme ile obstrükte böbrekte makrofajlar da lokalize edilmiştir. ÜÜO'dan 12 saat sonra interstisyel dokudaki makrofajlarda artış görülmüştür. 96 saat boyunca bu artışın devam ettiği bulunmuştur. ÜÜO'da interstisyel makrofajların varlığı diğer araştırmacılarca da doğrulanmıştır (11).

Obstrüksiyondan 10 saat sonra Transforming growth faktör –  $\beta$  (TGF- $\beta$ )'nın, mRNA ekspresyonunun arttığı ve bu artışın 96 saat boyunca devam ettiği bulunmuştur (12).

**Tübüler değişiklikler:** Gillenwater ve ark. yedisi üreteropelvik bileşke obstrüksiyonuna ve 3'ü de üreteral obstrüksiyona sekonder toplam 10 ünilateral üreteral obstrüksiyonlu (ÜÜO) hastanın verilerini sunmuşlardır (13). Obstrüksiyonun şiddeti tüm olgularda, ortadan-ağıra kadar derecelendirilmiştir. Obstrükte böbrekteki fonksiyon, obstrüksiyonun giderilmesinden bir hafta sonra değerlendirilmiştir. Obstrükte böbrekteki GFR (24ml/dak), nonobstrükte böbrekten (60ml/dak) belirgin olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.0002$ ). Ortalama idrar osmolalitesi, absolu osmolar klirens ( $C_{osm}$ ) ve absolu ve fraksiyone serbest su klirenslerinin hepsi obstrükte böbrekte belirgin olarak düşük saptanmıştır. Bu nedenle, obstrüksiyonun giderilmesinden bir hafta sonra obstrükte ve obstrükte olmayan böbrek arasında gerçek bir konsantrasyon defekti mevcut olduğu düşünülmüştür. Ancak, hastaların hiçbirinde postobstrüktif diürez saptanmamıştır. Obstrükte böbreğin, absolu sodyum ekskresyonu daha düşük, ancak fraksiyone sodyum ekskresyonu her iki böbrekte de aynı bulunmuştur. Üreteral obstrüksiyondan sonra proksimal tübüler transportun da bozulduğu saptanmıştır.

Ancak bu değer, obstrüksiyondaki GFR düşüşüne uyarlandığında her iki böbrek arasında farklılık görülmemiştir (14).

Ratlarda yapılan bir çalışmada ÜÜO düzeltildikten sonra, benzer tübüler değişiklikler gözlenmiştir. (15). Ratlarda onsekiz saatlik ÜÜO esnasında, medullanın iç kısmındaki plazma akımının azaldığı ve bu akımın, üreteral obstrüksiyonun giderilmesinden sonra arttığı bulunmuştur (16). Histolojik çalışmalarda, hem iç hem de dış medullada nekroz görülmüştür. Obstrüksiyonun, medulla üzerindeki bu fiziksel etkisi, ÜÜO sonrası, böbrekte idrarı konsantre edebilme yeteneğinin azalmasının nedeni olabilir (16).

Böbreğin, obstrüksiyondan sonra, idrarı konsantre edemediği belirtilmiştir. İdrarın konsantre edilememesinin, toplayıcı kanalların, ya antidiüretik hormon (vazopressin) ya da siklik adenozin monofosfat (cAMP) stimülasyonuna yanıtızlığı ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu stimuluslardan herhangi birine toplayıcı kanalların yanıtında %76 oranında azalma görüldüğü bildirilmiştir (17). ÜÜO ile birlikte prostoglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) üretiminde bir artış olmaktadır. PGE<sub>2</sub>'nin vazopressinin tübüler etkilerini inhibe ederek, ÜÜO sonrası böbrekte serbest su kaybını arttırdığı da bilinmektedir (17).

Akuaporinler, membran su kanalları ailesinden olup, transmembran su hareketine moleküler bir taban oluşturmaktadırlar. Akuaporin-2, toplayıcı kanalın predominant vazopressin-sensitif su kanalıdır. Yapılan bir çalışmada ÜÜO'da akuaporin ekspresyonundaki değişiklikler incelenmiştir. Yirmidört saatlik ÜÜO ile, akuaporin ekspresyonunda % 77 oranında azalma olmuştur. ÜÜO giderilmesinden sonra en az 24 saat sürmüştür. Obstrükte böbrekte, serbest su klirensinin artması, akuaporin ekspresyonu azalması ile uyumlu olarak bulunmuştur (18). Su ve tuzdaki ekskresyon artışı, distal nefrondaki azalmış reabsorbsiyona sekonderdir (19).

Obstrüksiyondan sonra, böbreğin distal hidrojen iyon sekresyonu bozulmaktadır (20). Yirmidört saatlik ÜÜO'dan sonra ipsilateral böbrekte potasyum eksresyonunun belirgin azaldığı görülmüştür (20).

**Fizyolojik değişiklikler:** Renal Kan Akımı, Glomerüler Filtrasyon Hızı ve Üreteral Basınçta ÜÜO sonrası birtakım değişiklikler olmaktadır. Üreterin unilateral

oklüzyonu, renal kan akımı (RKA) ve üreteral basınç arasındaki karakteristik trifazik ilişkiyle sonuçlanır (21). Faz-I hem üreteral basınçta, hem de RKA'da yaklaşık 1 ila 1,5 saat süren bir yükselmeye karakterizedir. Faz-II'de RKA'da azalma ve üreteral basınçta oklüzyonun beşinci saatine kadar süren yükselme izlenir. Faz-III üreteral basınçta progresif bir düşme ile birlikte, RKA'da daha fazla azalma ile devam eder. Hemodinamik olarak, faz-I'de afferent arteriyolde vazodilatasyon görülür. Faz-II'de efferent arteriyolde vazokonstriksiyon görülürken faz-III'de afferent arteriyolde vazokonstriksiyon meydana gelir. ÜÜO' nun üçüncü fazı, vazokonstriktif fazdır. Bu faz hem RKA'da hem de üreteral basınç azalmasına yol açan preglomerüler ve postglomerüler vazokonstriksiyon ile karakterizedir (21).

ÜÜO' dan 24 saat sonra, superfisiyal kortikal doku perfüzyonunda anlamlı bir azalma ve jukstaglomerüler glomerüllerin perfüzyonunda bir yükselme olduğu tespit edilmiştir. ÜÜO'nun başlangıcından sonra GFR'de %75'lik bir azalma olduğu görülmüştür (22).

ÜÜO' nun, faz I ve III'ündeki fizyolojik değişikliklerin, karakteristikleri bilinmesine karşın, altta yatan selüler ve moleküler değişiklikleri anlayabilmek için yapılan çalışmalara halen devam edilmektedir. Daha önceki çalışmalar, afferent ve efferent arteriol tonuslarındaki değişiklikleri açıklamak amacı ile lokal fiziksel etkileşimlere odaklanmıştı (1). Artık bu değişikliklerin, önemli bir kısmından biyokimyasal mediyatörlerin sorumlu olduğu bilinmektedir. RKA'daki akut ve kronik değişikliklerde, anjiotensin II (AII), nitrik oksit (NO), endotelin ve eikosanoidlerin prostaglandinler (PG) ve tromboksan (TXA) rolünü belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır (23-27).

Faz I'deki, vazodilatasyonda eikosanoidlerin rolü kabul edilmiş görülmektedir. Ancak, vazokonstriktör eikosanoidlerin ÜÜO'nun III. fazındaki rolü hala tartışmalıdır (23). Domuzlarda yapılan bir çalışmada ÜÜO' dan sonra karşı taraf böbrekte PGE<sub>2</sub>'nin üriner ekresyonunda bir artış olduğu gösterilmiştir (24).

ÜÜO esnasında plazma renin seviyelerinin yükseldiği tanımlanmıştır. Onbeş saatlik üreteral oklüzyon sırasında obstrükte böbrekte intraneral anjiotensin II (AII) üretiminde artış bulunmuştur (25).

Nitrik oksit (NO), moleküler oksijen ve kofaktörlerin varlığında arginin'in NO'ya enzimatik dönüşümü ile oluşur. Nitrik oksit sentaz'ın (NOS) hem yapısal (eNOS ve nNOS), hem de indüklenebilir (iNOS) izoformları bulunur. Normal böbrekte hem eNOS ve hem de nNOS mevcuttur, fakat ÜÜO'daki rolleri incelenmemiştir. Çalışmalar obstrükte tavşan böbreğinde aktif iNOS varlığını göstermektedir (26-28).

Normal bir böbreğe endotelin uygulanması, lokal aktif bir preglomerüler vazokonstriksiyon aracılığıyla hem GFR ve hem de RKA'da azalmaya yol açar. Ondokuz saatlik ÜÜO'lu köpeklerde endotelin-1 artışı olduğu ortaya konulmuştur. Postobstrüktif böbrekten, endotelin-1'in üriner ekskresyonunda önemli bir artış olduğu görülmüştür. Uzun süren ÜÜO'da karşı böbrekte böyle bir artışın olmadığı gösterilmiştir. Endotelin, kan damarlarının düz kas hücrelerine kalsiyum girişini arttırarak vazokonstriksiyona aracılık eder (29).

Daha önceden bildirilen sonuçlar, GFR'deki ve ÜÜO'daki değişikliklerin karmaşıklığını ortaya koymuştur. Gözlenen bütün değişikliklerden tek bir mediyatör sorumlu olmayabilir. Ayrıca, böbrekteki anatomik değişiklikler fonksiyondaki değişikliklere de katkıda bulunur. Bu nedenle, bu değişikliklerin anlaşılmasının üroloğun ÜÜO'yu tedavi etme becerisine katkısı olabilir.

## **2.2. VÜCUT DIŞI ŞOK DALGALARI (ESWL)**

Vücut dışı şok dalgaları (ESWL) teknolojisi dünyada 20 yıldır yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. ESWL başarı oranları taşın büyüklüğü ile ilişkilidir. Taşın büyüklüğüne ek olarak taşın böbrekteki lokalizasyonu ve kompozisyonu da tedavi başarılarını etkilemektedir (30).

Çapı 4mm'den küçük olan taşlar için %80 pasaj beklenirken, çapı 7mm'den büyük taşlar için spontan pasaj ihtimali çok düşüktür. Çapı 6-7 mm olan taşların tedavi edilmesi gerekmektedir. Çalışmalar göstermiştir ki böbrekte asemptomatik olarak duran taşlar takiplerinde klinik problemlere neden olmaktadır (31).

Hamilelik, ciddi iskelet anomalisi, ciddi şişmanlık, aortik ve renal arter anevrizması, kontrol edilemeyen koagülasyon bozukluğu ve idrar yolu enfeksiyonu durumlarında ESWL kontraendikedir (32).

ESWL uygulanırken seans sayısının 3-5'i geçmemesi önerilmektedir. Litotriptörün tipi de önemlidir. İki seans arasında ne kadar zaman olması gerektiği konusunda belirgin kural yoktur. Piezoelektrik litotriptörlere göre elektrohidrolik ve elektromanyetik litotriptörlerde daha uzun aralıklarla ESWL yapılması önerilmektedir. 10-14 günlük aralığın uygun olabileceği düşünülmektedir (33).

ESWL uygulanırken her seansta uygulanacak maksimum şok sayısı konusunda fikirbirliği yoktur. Sayı litotriptör tipine göre ve şok dalgası gücüne göre değişir.

ESWL ve perkütan cerrahi ile başarısız olunan böbrek taşlarına, intrarenal anatomik bozukluğu olanlara, infundibular stenoz, kaliks divertikülünde taş, morbid obezite, iskelet anomalisi olanlarda, aynı seansta başka bir açık cerrahi endikasyonu bulunanlarda, nonfonksiyone böbrek ve ektopik böbrekteki taşlara açık cerrahi uygulanabilir.

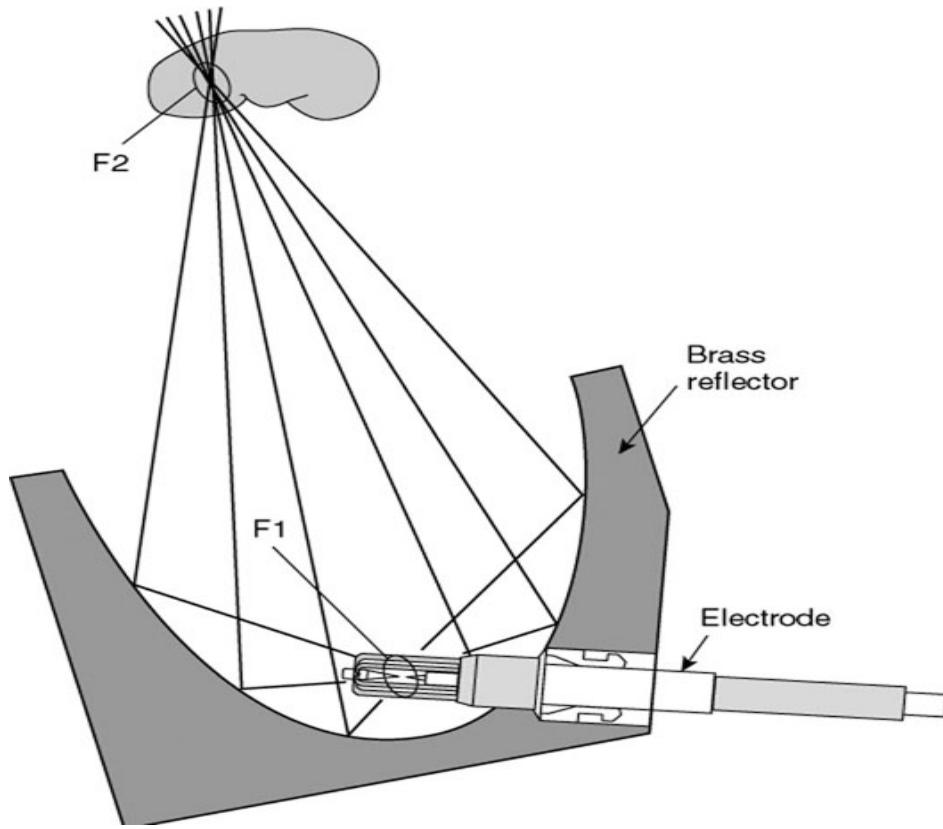
Ekstrakorporeal şok dalga litotripsi metodları ve fiziksel prensipleri tanımlanmıştır. ESWL'de şok dalgaları vücut dışındaki bir kaynaktan üretilip, taş odaklanarak vücuda ve taş verilmektedir. Bu aletin üstünlüğü şok dalgası odaklamasını kendi yararına kullanmasıdır. Göreceli olarak zayıf olan ve vücuda izinsiz giremeyen dalgalar, vücut dışında üretilerek ve vücuda yayılarak gücünü sadece hedef bölgede taşı kırmak için gösterir (1).

Enerji sıvı içinde biriktiğinde şok dalgasını oluşturmaktadır. Şok dalgaları kaynak seviyesinde dağılıma uğramaz ve önündeki materyali bölebilmektedir (35). Bu dalgalar, ses hızından daha hızlı hareket ederler ve şok ne kadar güçlü ise dalganın hareketi o kadar hızlı olur. Bu davranış, lineer olmayan dalgaların tipik yayılımı gibidir. Litotriptörler içinde şok dalgaları büyük basınçlar üretmelerine rağmen göreceli olarak zayıftırlar ve bu yüzden materyalde sadece hafif kompresyon ve deformasyon yaparlar (34).

3 tip primer şok dalga jeneratörü mevcuttur. Elektrohidrolik, elektromanyetik, piezoelektrik jeneratördür.

Elektrohidrolik şok dalga litotriptörlerinde sferik olarak genişleyen şok dalgası sualtı kıvılcımının deşarjı ile meydana gelmektedir (35). Bir milimetre uzaklığa yerleştirilmiş iki zıt elektroda yüksek voltaj uygulanır. Yüksek voltajdaki kıvılcım deşarjı, elektrodun ucundaki suda buharlaşmaya neden olur. Küresel

olarak genişleyen şok dalgasını taşta odaklamak için elektrod, elipsoid bir odağa (F1) ve hedef (böbrek taşı) diğer odağa (F2) yerleştirilir (Şekil-1). Bir hemielipsoid reflektörü eski elektrohidrolik makinelerde kullanılan tipik bir kıvrılcım göstermektedir. Bu düzenleme elektrod ucundan taşta giden orijinal şok dalga enerjisinin çoğunun projeksiyonuna izin verir. Bu jeneratörün belirgin avantajı böbrek taşlarını kırmadaki etkinliğidir. Dezavantajları ise, göreceli olarak kısa elektrod ömrü ve şoktan şoka büyük basınç dalgalanmalarıdır. Bozulan elektroddaki bir diğer problem de elektrod ucunun F1'de sadece 1 mm uzaklıkta yerleşmesi ile odağın F2'den 1 cm kadar laterale sapmasıdır (1).



**Şekil-1:** Elektrohidrolik şok dalga jeneratörünün şematik görüntüsü (Şok dalgası yaratmak için kullanılmakta olan elektrod şematize edilmiştir).

Elektrohidrolik litotriptör elipsoidal bir reflektörden sferik yayılan odaklanmış şok dalgaları üretmesine rağmen, elektromanyetik jeneratörler hem düz hem de silindirik şok dalgaları üretirler. Düz dalgalar akustik bir lens ile odaklanmakta iken, silindirik dalgalar, parabolik reflektör ile yansıtılmakta ve sferik dalgaya dönüşmektedir. Her 2 sistemde de basınç sadece hedefte yerleşmiş olan tek fokus

noktasına (F1) gönderilmektedir. Elektromanyetik jeneratörler elektrohidrolik jeneratörlerden daha kontrollü ve tekrarlanabilen yapıdadırlar. Çünkü dizaynlarında sualtı kıvılcım akımı gibi değişkenlikleri bulunmamaktadır. Diğer bir avantaj da üretilen enerjinin hastanın vücudunda geniş bir cilt alanına yayıldığı için daha az ağrıya neden olmasıdır. Piezoelektrik litotriptör şok bölgesine direkt olarak yaklaşan düz şok dalgaları meydana getirmektedir. Bu jeneratörler mozaik oluşturan küçük polarize polikristalize seramik elemanlardan oluşmakta ve her biri yüksek voltaj ile hızla genişleme göstermektedir. Piezoelektrik elemanlar genellikle sferik bir çanağın iç tarafına yerleştirilmişlerdir. Bu sistemin fokusu sferik çanağın geometrik merkezidir. Bu jeneratörün avantajları doğru fokuslama, uzun servis süresi ve şok dalgasının vücuda girdiği yerde düşük enerji yoğunluğuna bağlı anestezi ihtiyacının az olmasıdır. Bu nedenle piezoelektrik litotriptörler, diğer enerji kaynakları ile çalışan litotriptörlere göre daha az rahatsızlık vermektedirler. Bu sistemin en büyük dezavantajı ise böbrek taşlarını kırmak için yetersiz enerji oluşturmasıdır (1).

Taş lokalizasyonu için litotriptör üreticileri tarafından üç ana dizayn yapılmıştır. Bunlar tek başına ultrason, tek başına floroskopi ve ultrason ile floroskopinin kombinasyonudur.

ESWL uygulanırken taşların parçalara ayrılmasında bazı mekanizmalar rol almaktadır. Basınç çatlağı, çekirdek reaksiyonu (Spallasyon), akustik kavitasyon, dinamik yorgunluk olmak üzere dört potansiyel mekanizma tanımlanmıştır.

**1- Basınç çatlağı:** Taşın ön yüzünde şok dalgası ile oluşturulan büyük pozitif basınçlar ile taşın çökmesi sağlanır.

**2- Çekirdek reaksiyonu:** Önden girdikten sonra taşın arkasından yansıtılan dalgalar taşın gerilmesine sebep olan büyük negatif basınçları oluşturur. Negatif basınçların arka yüzde oluşturdukları gerilme ile taşın çökmesi gerçekleşir (Spallasyon).

**3- Kavitasyon:** Kavitasyona bağlı kabarcıklar oluşur. Oluşan kabarcıklar taş üzerinde dinamik etkilerde bulunur.

**4-Dinamik yorgunluk:** ESWL'nin oluşturduğu hasar işlem süresince birikir. Bu süreç taşın kırılması ile sonuçlanır. Dinamik kırılma gerçekleşmiş olur (1).

### 2.2.1. ESWL KOMPLİKASYONLARI:

1980'lerde Batı Almanya'da uygulanmaya başlayan ESWL zamanla taş hastalığının tedavisinde önemli yer edindi (36). ESWL kullanma kolaylığı, invaziv olmaması, üreter ve böbrek taşlarındaki yüksek etkinliği ve litotriptörlerin uygun olmasından dolayı çabuk yaygınlaştı. ESWL uygulanırken kavitasyon, gerilme ve çekirdek reaksiyonu gibi taşın parçalanmasına neden olan mekanik ve dinamik güçler oluşmaktadır. En önemli güç kavitasyon etkisidir. Kavitasyon kabarcıkları taş kırılmasında yıkıcı güç oluştururken, böbrekte ve ince duvarlı damarlarda travmaya neden olmaktadır (37).

Bu travma sonucunda hemoraji, sitokinler ve inflamatuvar hücre mediyatörleri ve inflamatuvar cevap hücreleri doku infiltrasyonu oluşturur ve bunun sonucunda da skar oluşumu veya doku fonksiyonlarında kronik kayıp oluşur. Erken komplikasyonlar olarak böbrekte taş parçalarına bağlı enfeksiyonlar gelişebilir. Ayrıca renal (hematom, hemoraji), kardiovasküler, gastrointestinal ve genital sistem ve fetüs üzerine doku etkileri olmaktadır. Geç dönemde de renal fonksiyonlarda bozulma, hipertansiyon, diabetes mellitus ve fertilité üzerine etkileri olduğu düşünülmektedir (38,39).

**Taş parçalarına bağlı oluşan komplikasyonlar:** Taş kompozisyonu, büyüklüğü, lokalizasyonu, sayısı, renal morfoloji, şok dalga sayısı ve enerji düzeyi ESWL başarı oranlarını etkileyen faktörlerdir. Sistin ve kalsiyum oksalat monohidrat taşlarının kırılması zordur. ESWL başarı oranları taş büyüklüğü arttıkça azalmaktadır (36). 2 cm'den küçük taşlarda başarı oranları %91 iken, 2-3 cm'lik taşlarda başarı oranları %50-70'e kadar gerilemektedir. Staghorn taşlarda başarı oranları daha da düşmektedir. Alt pol taşlarında ESWL başarısı diğer lokalizasyonlara göre daha düşüktür. Çok sayıda taş olması, ESWL sonrası rekürensi etkileyen faktörlerdendir. ESWL, üreterdeki taşlar için de etkili bir tedavi yöntemidir. ESWL'nin üreterdeki başarı oranları taşın üreterdeki lokalizasyonuna bağlıdır. Proksimal üreter taşları için yüksek başarı oranları (%65-81) vardır. Distal üreter taşlarında %58-67 başarı oranları bildirilmiştir. 10 mm'den küçük üreter taşlarında ilk tedavi olarak ESWL uygulanabilir.



Taş parçalarına bağlı komplikasyonları önlemek için büyük taşlara perkütan nefrolitotomi yapılabilir. Büyük taşlara ESWL uygulanacak ise üreteral stent takılabilir.

**Enfeksiyon:** ESWL sonrası oluşan renal travma ve vasküler hasar idrarda varolan bakterilerin kana karışmasına neden olabilir. Bununla birlikte enfekte kalkül parçalandığında taştan açığa çıkan bakteriler idrara karışıp sistemik olarak absorbe olabirler. ESWL sonrası bakteriüri, bakteriyemi, semptomatik üriner sistem enfeksiyonu, ürosepsis, perinefritik abse formasyonu, endokardit, kandida ve klebsiella endoftalmi, kandidal septisemi ve tüberküloz görülebilir (40).

ESWL sonrası üriner sistem enfeksiyonu strivüt taşı, kompleks veya multipl taşları olanlarda daha sıktır. Bakteriyemi oranları %14 kadar yüksek oranlarda tespit edilmiş olup sepsis %1'den daha az oranda görülmektedir. Sepsis riski ESWL öncesi idrar kültürü pozitif olan veya üriner obstrüksiyonu olanlarda daha yüksek bulunmuştur (40).

**Renal komplikasyonlar:** Hematüri ve hematom gibi erken komplikasyonların yanı sıra böbrek fonksiyonlarını etkileyen sistemik hipertansiyona neden olan geç komplikasyonları da mevcuttur (39).

Hayvan ve insan böbreklerinde ESWL sonrası yapılan histopatolojik incelemelerde orta büyüklükteki arterlerde, venlerde ve glomerüler kapillerde endotelial hasar gösterilmiştir. Kortikomedüller bölgedeki ince duvarlı arkuat venlerin şok dalgalarına karşı daha hassas olduğu tespit edilmiştir. Lezyonlar fokal olarak izlenmekte olup renal parankimin büyük kısmının etkilenmediği gözlenmiştir (41). ESWL'ye sekonder gelişen renal hasar interstisyel dokuda nefronda ve mikroveziküler yapıda oluşan ciddi hasara bağlı olabilir.

**Renal anatomi üzerine olan etkileri:** Renal travmanın en sık rastlanan klinik manifestasyonu birkaç günde kendiliğinden düzelen hematüridir. ESWL uygulanan hastaların %1'inden azında semptomatik intrarenal, subkapsüler veya perirenal sıvı kolleksiyonları izlenebilir. Bununla birlikte bilgisayarlı tomografi ve manyetik rezonans görüntüleme ESWL sonrası rutin olarak uygulandığında hematom oranları %20-25'lere kadar çıkabilmektedir. Hematomun tedavisi konservatiftir. Soliter böbreklerde akut böbrek yetmezliği ve hipertansiyon açısından yakın takip gereklidir (42).

**ESWL sonrası renal fonksiyon:** ESWL sonrası, renal hasarı gösteren biyokimyasal belirleyiciler belirgin hale gelir. Kan ve idrar belirleyicileri örneğin renin, kreatinin, N-Asetil- $\beta$ -D-Gulukozaaminidaz (NAG),  $\beta$ -galaktozidaz ( $\beta$ GAL),  $\beta$ -2-mikroglobulin ( $\beta$ 2M) ve proteinüri birkaç günde normale döner (43). İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, özellikle piyelonefrit eşlik ediyorsa, ESWL sonrası glomerüler filtrasyon oranında (GFR) ve renal plazma akımında azalma tespit edilmiştir. Bir kaç gün veya bir iki aya kadar renal hasara ait bulgular kaybolmaktadır.

**ESWL ve kardiyovasküler sistem:** ESWL uygulananlarda kardiyak aritmi insidansı %11-59 olarak tespit edilmiştir. Elektrokardiyogram nabzına göre şok dalgasını ayarlamak kalbe olan hasarı azaltmaktadır. Taş büyüklüğünün, lokalizasyonunun, şok sayısının, kullanılan taş kırma cihazı tipinin ve hasta yaşının ventriküler prematür kontraksiyonlarla bağlantısı bulunmamıştır (44).

**ESWL ve gastrointestinal sistem:** ESWL sonrası hastaların %1.81'inde gastrointestinal hasar tespit edilmiştir. Literatürde ince barsak ve kolon perforasyonu rapor edilmiştir. Hematemez, pankreatit, peripankreatik hematoma ve abse formasyonu bildirilmiştir (45).

**ESWL ve fertilizasyon:** ESWL'nin testis ve over fonksiyonlarına ciddi bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (38).

**ESWL ve hipertansiyon:** ESWL sonrası yeni teşhis edilen hipertansiyon oranı (%8), normal popülasyondaki hipertansiyon oranına (%6) yakın olarak bulunmuştur. ESWL sonrası sistolik hipertansiyon hiçbir çalışmada tespit edilmezken diastolik hipertansiyon bir çok çalışmada tespit edilmiştir (46).

Yapılan çalışmalarda 24 aylık takiplerde üriner sistem taş hastalığının tedavi yönteminden bağımsız olarak hipertansiyona neden olabileceği tespit edilmiştir. ESWL sonrası hipertansiyonun nedeni multifaktöriyel olabilir. Direkt ilişkili olan bir bağlantı bulunmamıştır. Ancak yakın zamanda yayınlanan bir makalede ESWL'nin hipertansiyona neden olabileceği belirtilmiştir. Ondokuz yıl önce ESWL uygulanan 630 hastanın 578'ine 2004 yılında ulaşılmış ve hastaların hipertansiyonu sorgulandığında ESWL uygulanan hastalarda hipertansiyon görülme oranı istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. Bilateral ESWL tedavisi uygulananlarda hipertansiyon görülme oranlarının aynı şekilde yüksek olduğu

bulunmuştur (39). ESWL uygulananlarda uzun dönemde diabetes mellitus gelişme sıklığının daha yüksek olduğu bulunmuştur. ESWL uygulanan bu hastalarda yeni tanı alan diabetes mellitusun uygulanan şok sayısı ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (39).

### **2.2.2. ESWL VE DENEYSEL HAYVAN ARAŞTIRMALARI**

Makroskopik açıdan klinik dozdaki şok dalgaları ile tedavi edilen köpek ve domuz böbreklerinde görülen akut değişiklikler, insandakilere çarpıcı bir şekilde benzemektedir (47). Bu lezyonun büyüklüğü tahmin edilebilir, yeri fokaldır ve sebep olunan yaralanma tipleri açısından (özellikle vasküler hasar) özgündür. Hematüri, kontüzyon benzeri lezyonlar, subkapsüler hematomlar, hemoraji ve böbrek büyümesi gibi değişiklikleri içermektedir. Hemoraji üç genel bölgede perirenal, subkapsüler ve intraparakimal bölgede görülmüştür. Ancak genellikle F2'de ya da bunun yakınındaki bölgededir. Perirenal yağlı bölge, hemorajinin en sık görüldüğü yerdir. Subkapsüler hemorajinin kapsülün uzunluğu boyunca diffüz olarak yayıldığı ya da farklı hematomları oluşturduğu bilinmektedir. İntraparakimal hemoraji bölgeleri genellikle üçgen şeklindedir, kortikomedüller birleşim noktasında en ciddi duruma gelmektedir ve papiller bölgeden kapsüle doğru uzanır. Renal parankim ya da subkapsüler bölgede bulunan hematomların çapı 0.5 cm'ye kadar değişmektedir ve sayıları böbrek başına 1 ila 10 adet arasında değişmektedir (47).

Histolojik analizler, hemoraji bölgelerinin genellikle F2 bölgesinin yakınında olduğunu göstermiştir. Hasar bölgeleri yakındaki ince cidarlı damarların ve küçük arterlerin ve glomerüller ve peritübüler kapillerlerin duvarlarında yırtılmaları ile ortaya çıkar. Bu durum hem tedavi edilen ve hem de tedavi edilmeyen böbreklerde ölçülen vazokonstriksiyon ile bağlantılıdır (48).

Venöz trombuslar genelde hemoraji bölgelerinde bulunan interlobüller ve arkuat damarlarda görülür. Bu damarlardaki aşırı endotel hasarının belirtileri; endotel hücrelerin kaybı, polimorfonükleer hücrelerin hemen bağlanması ve bu damarların luminal yüzeyine plateletlerin aktive olmasıdır. Bu durum bir vaskülit gösterir. Masif hemoraji bölgelerinin yakınındaki nefronlar hasar

belirtileri gösterirler. Bu değişiklikler hücrelerde vaküolar değişiklikler, tübüler dilatasyon, kast oluşumu (hyaline benzer, kırmızı kan hücreleri) ve hafif tübüler nekrozdan ibarettir. Bu gözlemler mikrovasküler yapılar ve nefrona şok dalgasının kolaylıkla zarar verebileceğini gösterir, ancak ilk yaralanma vasküler hasar olarak görülmektedir (49).

Şok sayısı arttıkça (1000-8000) daha fazla hematoma oluştuğu, lezyon boyutunun arttığını, ancak bu durumun şok sayısı ile doğrudan bağlantılı olmadığı gösterilmiştir. Yine, daha fazla şok adedi daha büyük hematomlarla bağlantılıdır, bunun sebebi tahminen daha yüksek şok adedinde daha büyük arterlerin yaralanmasıdır. Şok dalgalarının uygulanma hızı arttığında (1 şok/sn - 100 şok/sn) ve şok dalgaları eş dalgalar halinde uygulandığında daha fazla hemoraji ve tübüler hasarın söz konusu olduğu gösterilmiştir. Böbrek boyutları intraparakimal hemorajiyi arttıran bir risk faktörüdür (48).

### 2.3. HEAT SHOCK PROTEİN

Modern stres araştırmaları Ritossa'nın yaptığı araştırmalar ile başlamıştır. Ritossa, rutin hücre gen ekspresyon mekanizmasının stres durumlarında tekrar programlanma ile hücre stres cevabı oluşturduğunu ilk tespit eden kişidir (50). *Drosophila melanogaster*'da ısıya bağlı spesifik değişiklikleri tanımlamıştır. Bu gözlemden 10 yıl sonra araştırmalar protein düzeyine çıkmıştır. Hücrede normalde geniş bir protein dağılımı görülmektedir. Stres durumlarında rutin sentezlenen protein miktarlarında azalma ile birlikte strese bağlı protein sentezinde artma görülmüştür. Stres durumlarında sentezi artan bu grup proteinler heat shock protein (HSP) olarak tanımlanmıştır ve moleküler ağırlıklarına göre gruplandırılmışlardır. HSP-70 insan vücudunda iyi tanımlanmış tip olup 70-kDa'luk bir proteindir (51).

**HSP'nin hücrenin korunmasındaki rolü:** HSP yapımı ısı, ultraviyole ışık ve sitotoksik ajanlar tarafından uyarılır. HSP yapımını uyaran bu faktörler proteinlere toksik olan yapılardır. Denatüre proteinlerin düzeyinde artma görülür (52). Heat Shock Factor (HSF) transkripsiyon faktörünü oluşturur. HSF'nin HSP regülasyonunu yaptığı kabul görmüş en yaygın hipotezdir. Denatüre ve dağılmış

proteinler HSP'ye bağlanmak için uygundur. HSF aktivasyonu gerçekleşir. Bunun sonucu olarak HSP gen transkripsiyonunda artma görülür (53). HSP-70'in hücre tamir sürecindeki rolü tam olarak açığa çıkarılmalıdır. HSP-70 oluşuktan sonra yeni transle olmuş immatür proteinlere bağlanır. Bu proteinlerde oluşabilecek erken ve düzensiz bağlanmaları önler. Yeni polipeptit zincirinin aminoasidleri en son ürünü oluşturmak için gerekli bütün bilgileri sağlarlar. Fizikokimyasal güçlerle üç boyutlu proteinin katlanması oluşur. Daha önceleri bu olayların kendiliğinden oluştuğuna inanılırdı. HSP'nin tespiti ile bu kavram değişmiştir. İnsanda mitokondride benzer "koruyucu transport" gözlenmiştir. HSP 70 molekülü immatür polipeptit zincirlerine bağlanmaktadır ve bu yapıların yetersiz bağlanmasını ve katlanmasını önlemektedir. HSP'nin bu fonksiyonu "moleküler koruyucular" olarak bilinir (54).

Bugün bilinmektedir ki proteinlere toksik olan ve koruyan durum arasında süreklilik gösteren bir denge vardır. Protein denatürasyonu sonucu protein bütünlüğü kaybolmakta bunun sonucu olarak HSP gibi proteinlerin yapısını korumaya yönelik olan araçların üretimi artmaktadır (54).

Moleküler koruyucular proteinlerin kendi yapılarını değiştirmeden taşınmasını ve katlanmasını sağlarlar. HSP-70 moleküler koruyucuların prototipidir. İmmatür ve bozulmuş proteinlerin gizlenmiş hidrofobik zincirlerine bağlanırlar. Hasar görmüş proteinlerin bir araya gelmesini önlerler. Hasar görmüş proteinleri çözünür hale getirirler. HSP-70'e ek olarak diğer HSP'ler de protein degradasyonu ve hücre sinyal mekanizmasında yer alırlar. HSP'ler "homeostasis"i sağlayarak hücrenin devamlılığını sürdürebilmesi için pozitif etkide bulunurlar. Hücrelere olan bu katkılarında dolayı stres durumlarında tüm organizmanın korunmasına yönelik faydaları vardır (54).

**Renal iskemi ve HSP:** İskemi sonrası iyileşme sürecinde HSP'nin rolüne dair bir çok kanıt bulunmaktadır (55,56). Hücre düzeyinde olan renal iskemide hücre disfonksiyonundan hücre ölümüne kadar değişen belirgin hasarlar oluşur. Nekroz hücre ölümünün görüldüğü genellikle çabucak ortaya çıkan bir yıkım sürecidir. Apoptozis (programlanmış hücre ölümü) dikkatli bir şekilde düzenlenmiş aktif bir süreçtir. Klinik ve deneysel akut renal hasarda apoptozis hücre ölümünün ana nedenidir (57).

Tedavi yaklaşımları açısından canlı hasarlı hücelere müdahale en önemli hedefdir. Hücre hasarı, tamir ve ölüm yolu arasında bir denge vardır. Her bir renal hücre epiteli iyileşip hayatta kalır ya da apoptozise uğrayıp ölür. Stresin uyardığı apoptoziste hasar tespit edilir. Hücre tamir mekanizmasının yardımı ile hücrede oluşan hasarın daha fazla devam etmesine izin verilmez. Renal tübül hücrelerde enerji tükendiği zaman protein-protein arasındaki etkileşimle regüle edilen spesifik moleküler yollar aracılığıyla apoptozis gerçekleşir (58). HSP, proteinlerin toplanmasına, katlanmasına, taşınmasına etki eder. Apoptotik yolların yürütülmesini ya da inhibe olmasını etkileyen önemli bir adaydır. Yeni yapılan deneysel bir çalışmada HSP'nin apoptozise karşı hücre koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir (59). Enerjisi tükenmiş renal epitel hücrelerde HSP-70 aracılığı ile apoptozis azalır. HSP-70 mitokondride sitokrom c'nin strese bağlı salınımını baskılar. Apoptozise neden olan faktörlerin nükleer translokasyonu HSP tarafından baskılanır. Bu çalışmaları in vivo sisteme taşıyan çalışma yoktur. Son yıllarda renal iskemiye takiben hücre hasarı oluştuğunda hücre iskeletinin yeniden organize olmasına HSP'nin katkıları konusunda yapılmış in vitro ve in vivo çalışma sayısında artış bulunmaktadır.

Renal iskemi veya enerji tükenmesi sonucu renal tübül hücrelerinde aktin hücre iskeleti birikiminde artma olur (60). Mikrovilluslar parçalanır. Hücre-hücre ve hücre-substrat bağlantıları ayrılır. Bütün bunların sonucu olarak hücre polaritesi bozulur. Hücre polaritesi tübül hücrelerinin fonksiyon göstermesi için gayet önemlidir. Belirli yönde substrat taşınmasında hücre polaritesi önemlidir. Renal sodyum kaybı ve azalmış glomerüler filtrasyon oranı stres durumlarında hücre polaritesi bozulması ile açıklanabilir (60). HSP'nin hücre iskeletinin bütünlüğünü sağladığını ve hücre polaritesinin restorasyonunda yer aldığını gösteren çok sayıda deneysel kanıt vardır. Renal iskemi oluştuğunda ve hücredeki enerji azaldığı zaman hücre stres cevabı ile HSP uyarılır. Diğer proteinlerin yapımı azalır. Örneğin Na-K adenozin trifosfat (ATP) kanalı proteinlerinin yapımı azalır. HSP'nin hasarlı ve bozulmuş proteinlerin stabilizasyonunu aktive ettiği düşünülmektedir. HSP-70 açığa çıkınca hücre iskeletinin parçası olarak Na-K ATP'ase stabilize olur (61). Organizmada oluşan iskemilerden sonra HSP miktarı artar. HSP miktarının arttığı hücreler daha

ağır olan stres durumlarına dirençlidirler. Tekrarlayan hücre hasarlarına direncin artması hücre koruma olarak adlandırılır. Renal iskemi durumu oluşturulduğunda HSP-70'in uyarılması ile beraber hücre iskeletinin bozulması da önlenir. HSP antikorları ile stabilizasyon önlenirse hücre hasarının daha kötü olduğu tespit edilmiştir (62).

İmmatür böbrekte hipoksik ve iskemik hasara karşı korunmayla bağlantılı olarak HSP-70 düzeyleri yüksek bulunmuştur. Deneysel çalışmalarda immatür tübül hücrelerinde matür tübül hücrelerine göre HSF miktarının fazla olduğu tespit edilmiştir. İmmatür hücrelerdeki yüksek HSF miktarına bağlı olarak, HSP-70 yapımı artmaktadır. Bu durum immatür tübülüs hücrelerini hipoksiye karşı daha korunaklı hale getirir (63).

**HSP ve ünilateral obstrüksiyon:** Obstrüktif nefropati, iskemi ve takipeden reperfüzyon aracılığıyla hücrel ve moleküler mekanizmaları tetikler. Birtakım dokularda iskemi stresine bağlı HSP-70 sentezi uyarılmaktadır (64).

Ratlarda yapılan çalışmada ünilateral üreteral obstrüksiyon sonucu yaygın oksidatif stres cevabı görölmüştür. Obstrükte ve kontralateral böbrekte oksidatif stresin arttığı tespit edilmiştir. Ünilateral üreteral obstrüksiyonun 7. gününde HSP-70'in 3.7 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (65). Obstrüksiyon giderildikten 24 saat sonra HSP-70 düzeyinde azalma tespit edilmiştir. 7 gün sonra ise HSP-70 düzeyi kontrol grubu ile eşit düzeye inmiştir. Kontralateral böbrekte HSP-70 düzeyleri kontrol grubu ile deneyin her aşamasında paralellik göstermiştir. Sonuç olarak oksidatif stres ünilateral obstrüksiyon sonrası bilateral görülür iken, HSP-70 pozitifliği yalnızca obstrükte böbrekte tespit edilmiştir. Ünilateral obstrüksiyonda HSP-70 cevabı, spesifik ve lokalize oksidatif strese bağlı oluşmaktadır denilebilir (65).

**HSP ve ESWL:** Klinik ve deneysel çalışmalar ESWL sonrası böbrekte morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler olduğunu göstermektedir. Bu tür değişikliklerin nedeni ile araştırmaya yönelik olarak vasküler destek ve total etkin renal plazma akımındaki değişiklikler incelenmiştir (66). Sonuç olarak ESWL sonrası renal perfüzyonda daha sonra düzelen geçici azalmalar olduğu tespit edilmiştir. İskemi sonrası hasar serbest oksijen radikallerinin oluşmasına yol açar

(66). Serbest oksijen radikallerinin oluşması patofizyolojik ve patolojik stresin varlığını gösterir. Bu yüzden bu tür hasarlar sitoplazmik proteinlerin denatüre olmasını artırabilir ve HSP cevabı tetiklenebilir (67). Daha önce yapılan deneysel çalışmada ESWL 1000-1500-2000 şok dozunda ve 14 kV güç altında tavşan böbreğine uygulanmıştır. Bu dozda (1500-2000 şok) ESWL uygulanan böbreklerde HSP pozitifliğinin, 1000 şok uygulanan grup ve kontrol grubuna göre 24. saatte daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Şok dalga sayısı arttıkça glomerül ve tübüllerin HSP-70 pozitifliğinin arttığı görülmüştür (68). Sonuç olarak doku hasarının şok dalga sayısı ile fazlaşması sonucu HSP pozitifliğinin arttığı düşünülmüştür. Diğer ilginç bir bulgu ise distal tübüllerde ve toplayıcı kanallarda nefronun diğer parçalarına göre daha yaygın pozitifliğin görülmesi olmuştur (68). ESWL uygulandıktan 7 gün sonra incelenen dokularda HSP-70 pozitifliğinin orta düzeyde ya da belirli bir düzeyde olduğu gözlenmiştir. Kontralateral böbrekte HSP pozitifliğinin çok az miktarda olduğu ya da hiç olmadığı görülmüştür (68).

Daha önce yapılan klinik çalışmalarda üriner obstrüksiyon ve hidronefroz varlığında ESWL'nin klinik etkinliğinin ve tedavi başarısının değişmediği bulunmuştur (69,70). Her ne kadar üriner obstrüksiyon ve hidronefroz varlığında taşsızlık oranları hidronefrozun derecesine göre değişiklik göstermiyor ise de, üriner obstrüksiyon varlığında ESWL uygulamak böbrekte ilave zararlı etkiler oluşturabilir. ESWL'ye bağlı birçok komplikasyon bildirilmiştir. ESWL'nin böbrek dokusuna olan zararlı etkilerini araştıran birçok klinik ve deneysel çalışma yapılmıştır. Ancak literatürde üriner obstrüksiyon varlığında ESWL uygulamasının böbrekte oluşturabileceği olası hasarı inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Genel ürolojik pratikte obstrüksiyon oluşturan böbrek ve üreter taşlarına ESWL uygulanmaktadır. Ancak zaten obstrüksiyon nedeniyle bozulmuş olabilecek böbrek fonksiyonları ve renal dokunun ESWL ile daha da hasarlanıp hasarlanmadığı sorusunun yanıtı bilinmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada amaç değişik derecelerde hidronefroz varlığında, ESWL'nin böbrek parankiminde oluşturduğu histopatolojik değişiklikler ile birlikte, böbrekte stres durumlarında arttığı bilinen HSP-70 ekspresyonunu araştırmaktır.



### III. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma; Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu onayı alınarak, Veteriner Fakültesi'nin Hayvan Laboratuvar'ında yapıldı. Deney için 25 adet erkek, Yeni Zelanda tipi deney tavşanı kullanıldı. Hayvanlar için 12 saat ışık, 12 saat karanlık döngüsü sağlandı. Onbeş gün süre ile uygun sıcaklık ve beslenme şartlarında hayvanların bakımı yapıldı. Veteriner Fakültesi yetkililerince de onaylanan 1996 yılında yeniden gözden geçirilen Amerikan Sağlık Kurumu'nun yayınladığı "Laboratuvar Hayvanlarının Bakımı ve Kullanım Kılavuzu" (The Guide for the care and use of laboratory animals published by the United States National Institutes of Health) doğrultusunda hayvanların bakımı yapıldı. Tavşanlar, yaklaşık 16 haftalık erişkin tavşanlardı ve ağırlıkları, 2500 - 4500 gr arasındaydı (Şekil-2).



**Şekil-2:**Deney hayvanlarının bakımının yapıldığı üniteler.

Çalışmaya alınan 25 tavşanın 3'ü sham grubu geri kalan 22 tanesi ise çalışma gruplarını oluşturdu.

Yirmiki tavşan 4 ve 7 günlük hidronefroz grupları olmak üzere ikiye ayrıldı (Tablo-2).

**Tablo-II:** Sham grubuna, Çalışma ve Kontrol gruplarına yapılan işlemler.

<b>Gruplar</b>	<b>n</b>	<b>Deneyisel işlem</b>	<b>ESWL</b>
<b>Sham*</b>	6	Laparotomi, üreter disseksiyonu, batın kapatıldıktan 24 saat sonra nefrektomi	-
<b>Grup 1</b>	6	Üreter bağlandıktan 3 gün sonra ESWL uygulandı. 4. gün nefrektomi	14 kV güç altında 1500 şok
<b>Grup 1-kontrol</b>	5	Üreter bağlandıktan 4 gün sonra nefrektomi	-
<b>Grup 2</b>	6	Üreter bağlandıktan 6 gün sonra ESWL uygulandı.7. gün nefrektomi	14 kVgüç altında 1500 şok
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	Üreter bağlandıktan 7 gün sonra nefrektomi	-

\* Sham grubundaki 3 tavşanın altı böbreği histopatolojik inceleme için alındı.

Grup-1 ve Grup-2'deki tavşanların böbreklerine ikişer adet hemoklip yerleştirildi. ESWL yerleştirilen hemokliplerin merkezi odaklanarak uygulandı.

Anestezi ve çevre koşullarının etkileri ile oluşabilecek değişikliklerin, araştırmanın doğruluğunu ve güvenilirliğini etkilememesi amacı ile sham grubu oluşturuldu. Sham grubundaki üç tavşana laparotomi yapıldıktan sonra üreterler diseke edilerek tanımlandı. Disseksiyon sonrası üreterler bağlanmaksızın katlar anatomisine uygun kapatıldı. Yirmidört saat sonra her iki böbreğe nefrektomi uygulanarak, toplam 6 böbrek dokusu, sham grubu olarak histopatolojik incelemeye alındı.

## ANESTEZİ VE DENEYSEL İŞLEMLER

Çalışma grubundaki tavşanlara anestezi altında laparotomi uygulanarak sağ üreteral ligasyon yapıldı.

Tavşanlara yapılan işlemler sırasında, anestezi sağlamak için toplam 40 mg/kg'dan ketamin HCl intramusküler (IM) yolla verildi. 10 dakika sonra daha derin anestezi sağlamak amacı ile 10mg/kg'dan ksilazin HCl IM yolla uygulandı. Tavşanlar, operasyon öncesi 6 saat aç bırakıldı. Profilaksi sağlamak amacı ile operasyondan 20 dakika önce tavşanlara 100 mg/kg'dan ampicillin IM yolla verildi. %5'lik kokospropilen-diamin-guanidin diasetat, fenoksipropanol, benzalkonyum klorür içeren solüsyon kullanılarak, operasyon için gerekli cerrahi aletler en az 30 dakika süre ile dezenfekte edildi. Dezenfeksiyon solüsyonundan çıkarılan cerrahi aletler, distile steril su ile yıkandı. Bu işlemler yapılır iken cerraha steril olmayan ikinci bir kişi yardım etti. Yukarıda tarif edildiği şekilde uygulanan anestezi sonrası, tavşanların karın bölgelerindeki tüyleri traş edildi.

%10'luk Polivinil pirolidon iyot ile bölge temizliği yapıldıktan sonra, steril şartlar altında gerekli örtüm ve arıtım işlemleri yapıldı (Şekil-3).



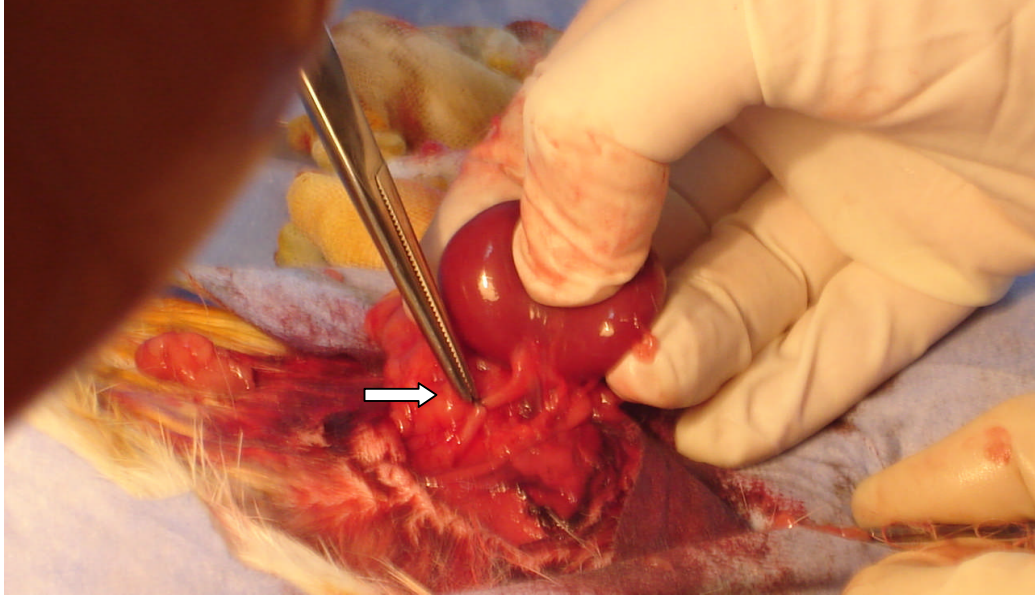
**Şekil-3** : Steril şartlarda gerekli arıtım ve örtüm işlemi yapılmış hali.

15 numara bistüri ile subkostal insizyon yapılarak, cilt ve kas dokuları geçildi (Şekil-4).

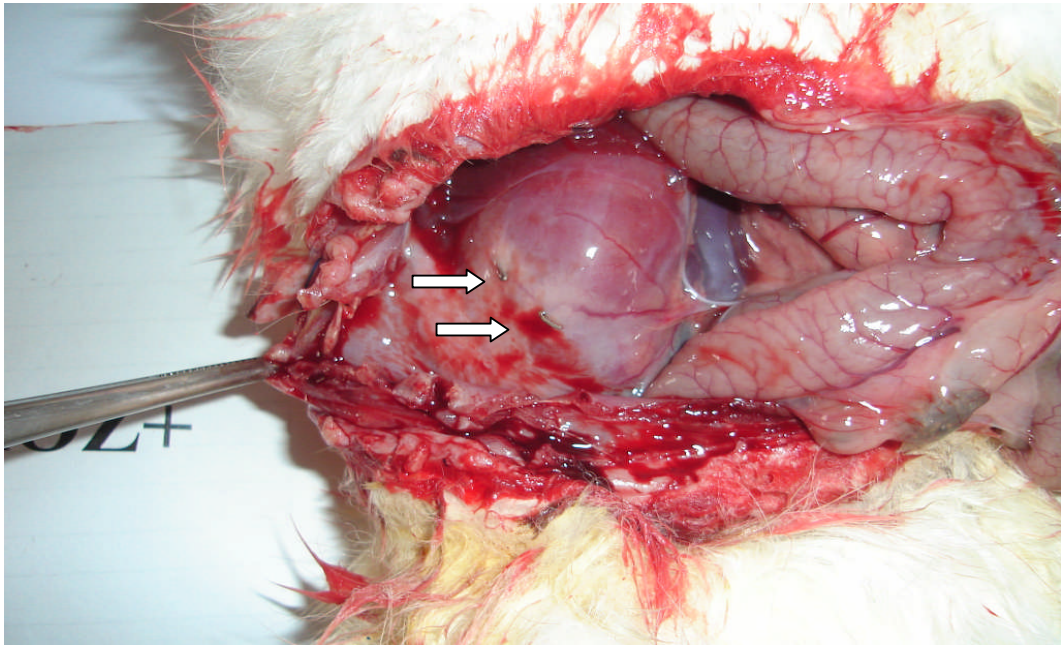


**Şekil-4** : Cilt kesisi yapıldıktan sonraki görüntü.

Periton açılarak batına ulaşıldı. Steril serbest gazlı bez kullanılarak, çıkan kolon mediale yönlendirildi. Üreter ve renal hilus tanımlandı. Üreter 1/3 proksimal kısmından, absorbe olmayan sütür ile hidronefroz oluşturmak amacı ile komplet bağlandı (Şekil-5). Yukarıdaki işlemlere ek olarak, ESWL uygulanılacak olan gruptaki tavşanların böbreklerine, hemoklip ile ikişer adet işaret konuldu (Şekil-6).



**Şekil-5:** Proksimal üreterin absorbe olmayan sütürle bağlandığı bölge (ok işareti).



**Şekil-6:** Böbreğe ESWL uygulanırken odaklamaya yardımcı olması için yerleştirilen klipler (ok işaretleri).

Daha sonra, kas dokusu ve cilt devamlı sütür ile ayrı ayrı kapatıldı. %10'luk Polivinil pirolidon iyot ile cilt bakımı yapıldıktan sonra, yara yeri steril spanç ile kapatılarak hipofiks ile tespitlendi (ekil-7).



**Şekil-7:** Operasyon sonrası pansuman yapılmış hali.

Postoperatif ağrıyı azaltmak amacı ile diclofenac sodium 3mg/kg'dan IM yolla verildi. Postoperatif 1. ve 2. günlerde, %10'luk polivinil pirolidon iyot ile tavşanların yara yeri pansumanları yapıldı. Tavanların uygun sıcaklık ve beslenme şartlarında bakımları yapıldı. Dördüncü gün ve 7. gün hidronefroz grubu olmak üzere iki kontrol grubu oluşturuldu. 6'ar tavana, hidronefrozun 3. gününde (Grup-1) ve 6. gününde (Grup-2) anestezi uygulandı. Uygun pozisyon verilerek Multimed Classic, 2006, Ankara, Türkiye ESWL cihazında (ekil-9) 1500 çok ve 14 kV gc ile anestezi altındaki tavanlara ESWL yapıldı. İşlem sırasında, tavşanların acı çekmemesi için yeterli anestezi desteği sağlandı. nc gün ESWL uygulanan 6 tavana, 24 saat sonra tekrar anestezi altında eski insizyon yerinden, laparotomi yapılarak, sağ hidronefrotik böbreğe nefrektomi

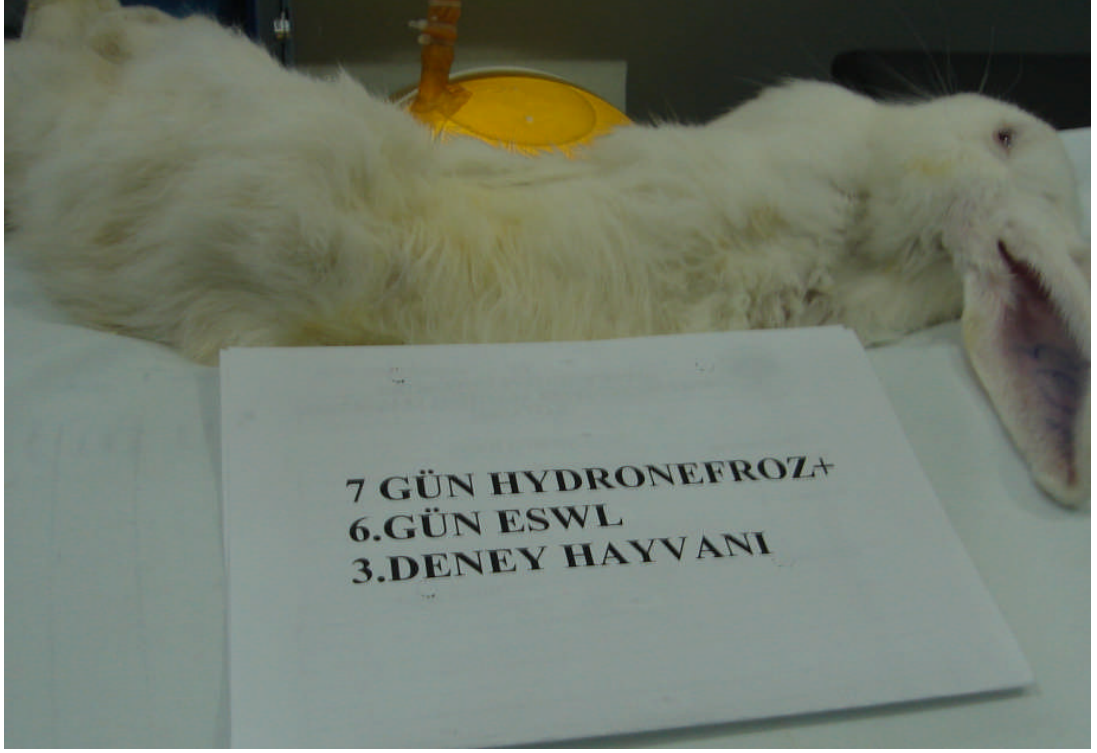
yapıldı. İnsizyon sola doğru genişletilerek, sol böbreğe de aynı seansta nefrektomi uygulandı (Grup-1). ESWL uygulanmayan, diğer 5 tavşana da hidronefrozun 4. günü, anestezi altında laparotomi yapılarak, bilateral nefrektomi yapıldı (Grup 1-kontrol). Bütün cerrahi işlemler, aynı klinisyenler tarafından gerçekleştirildi. 6. gün ESWL uygulanan, 6 tavşana, 24 saat sonra anestezi altında laparotomi yapılarak, sağ ESWL uygulanan hidronefrotik böbreğe ve kontralateral böbreğe nefrektomi uygulandı (Grup-2). ESWL uygulanmayan, diğer 5 tavşana da, hidronefrozun 7. günü anestezi altında laparotomi yapılarak, bilateral nefrektomi yapıldı (Grup 2-kontrol). Böbrek dokuları alındıktan hemen sonra %10'luk formaldehit çözeltisi içeren kaplara konularak, histopatolojik inceleme için patoloji bölümüne gönderildi.

## ESWL UYGULAMASI

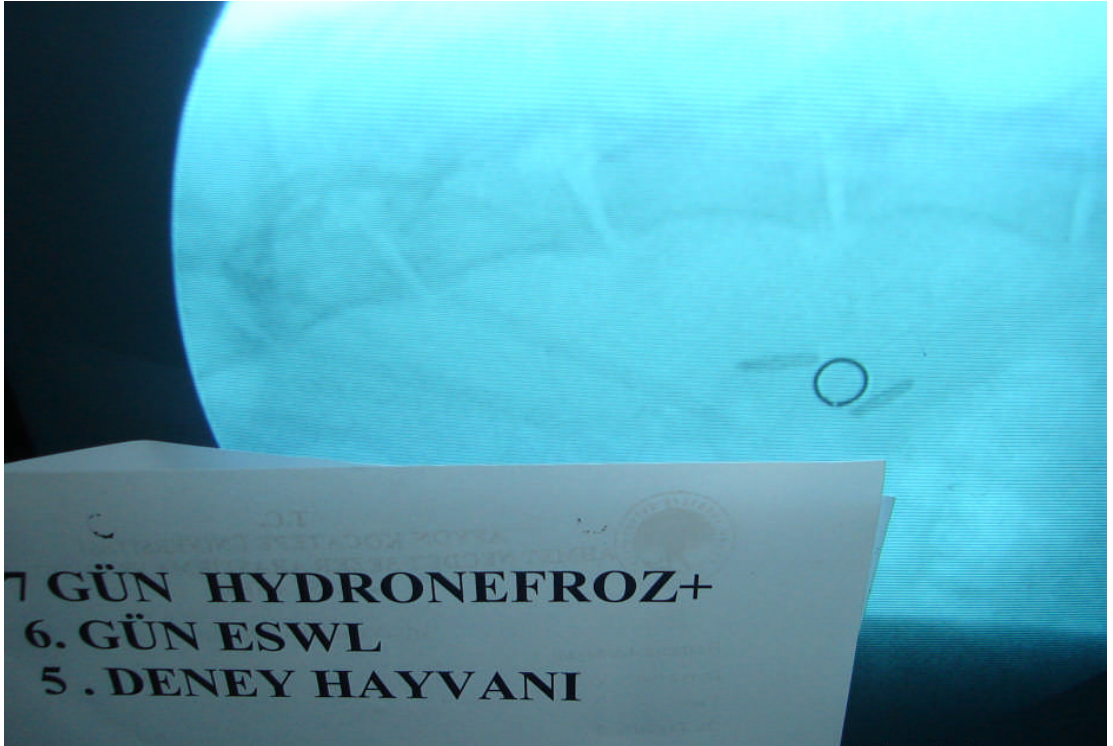
ESWL cihazında (Şekil-8), tavşanlara uygun pozisyon verildi (Şekil-9). Skopi cihazında, üreteri bağlama işlemi sırasında, böbreğe konulan hemokliplerin merkezinin böbrek parankimini işaret ettiği düşünülerek odaklama yapıldı (Şekil-10).



**Şekil-8** : ESWL cihazı (Multimed Classic, 2006, Ankara, Türkiye ).



**Şekil-9:** Anestezi altında tavşana ESWL uygulanması.

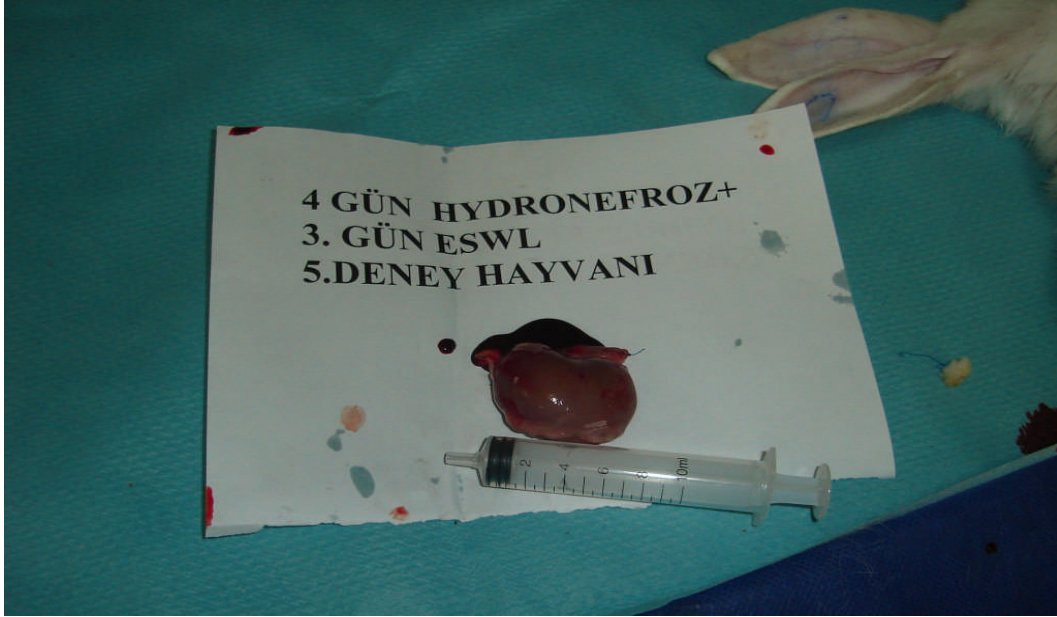


**Şekil-10:** Skopide her iki klipin ortasını (böbrek parankimini) hedef alan odak görüntüsü.



1500 şok ve 14 kV güç uygulanırken, belirli aralıklarda odağın değişip değişmediği kontrol edildi. Tavşanlar, anestezi altında oldukları için genelde odağın değişmediği gözlemlendi. Sonuç olarak, böbrek dokusunu hedef alan 1500 şok ve 14 kV güç ile ESWL uygulanmış oldu. Her 1500 şok sonrası ESWL elektrodu yenisiyle değiştirildi.

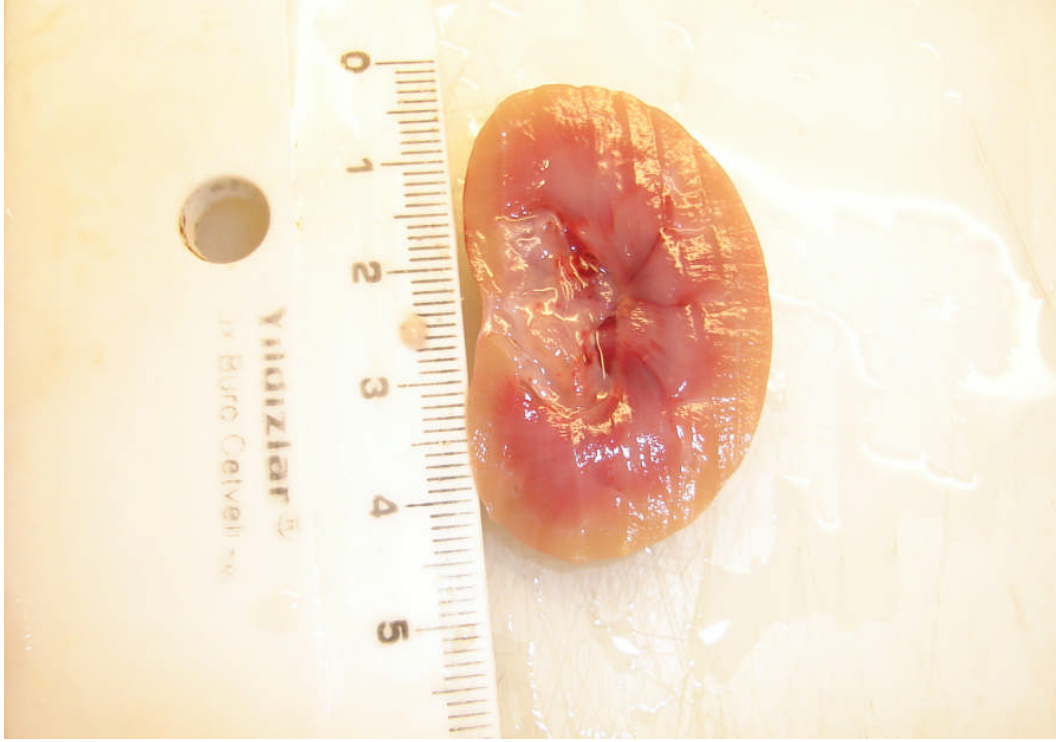
Her bir deneğe ait böbrekler, patolojik çalışmada makroskopik olarak incelenerek büyüklükleri kaydedildi (Şekil-11).



**Şekil-11:** Üreteral ligasyon sonrası 4. günde böbreğin makroskopik görünümü.

## **HİSTOPATOLOJİK İNCELEME**

Tavşanlara ait nefrektomi spesimenleri, makroskopik olarak değerlendirilip her bir böbreğin ağırlığı kaydedildi. Böbrekler sagittal olarak açılıp korteks, medulla ve kalikslerin durumu değerlendirilip, boylu boyunca bir kesit alındı (Şekil-12). Bu kesit, 3 parçaya bölünerek, doku örnekleri bir gece tamponlu % 10'luk formaldehit ile tespit edildi. Rutin takibe alınan dokulardan hazırlanan kesitler, hematoksilin-eozin ile boyanarak incelendi.



**Şekil-12:** Dört gün hidronefroz sonrası böbreğin makroskopik boyuna kesiti.

Kesitlerin mikroskopik incelenmesinde, proksimal tübüllerde görülen değişikliklere 0 dan 3 e kadar skor verildi.

0: Normal histoloji.

1: Kesitte görülen proksimal tübül hücrelerinin 1/3'ünden azında, tübül epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı ve hücrelerde dökülmenin görülmesi.

2: Değişikliklerin tübüllerin 1/3'ünden fazla 2/3'ünden azında görülmesi.

3: Değişikliklerin tübüllerin 2/3'ünden fazlasında görülmesi (71).

Her bir grup için toplam skor bulundu. Kesitlerde, ayrıca tübüllerde dilatasyon, konjesyon, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve fibrozis olup olmadığı kaydedildi. Gruplar arası toplam skorlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**İmmünohistokimyasal boyama ve değerlendirme:** Poly-L-lisinli lamlara alınan kesitlere, hücre proliferasyonunu değerlendirmek için immünohistokimyasal boyama şu şekilde uygulandı. Kesitler, deparafinizasyon ve dehidratasyon

aşamasından geçirildi. “Citrat buffer” (ph 6.0) içerisinde, mikrodalga fırında 90 watt güçte 2 kez 10’ar dakika kaynatıldı. Tris buffer ile yıkandı. Endojen peroksit aktivitesini gidermek için, %1’lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 5 dakika inkübe edildi ve tris buffer ile yıkandı. Hücre proliferasyonunu değerlendirmek için HSP-70 antikoru (1:200 dilüsyon, Neomarkers, USA) ile 30 dakika inkübe edildi. Tris buffer ile yıkandı. Daha sonra biotinlenmiş “horseradish peroksidaz” (Labvision, USA) solüsyonunda 10 dakika inkübe edildi. Tris buffer ile yıkandı. Kromojen olarak 3-amino-9-ethylcarbazole solüsyonunda, boyanma yoğunluğu kontrol edilerek 5-15 dakika bekletildi ve tekrar distile sudan geçirildi. Zıt boyama olarak Mayers hematoksilen (10 dakika) kullanıldı. Son olarak preparatlar distile suda yıkandı ve kurutularak montajlandı. Boyanan preparatlar ışık mikroskobu altında incelendi.

**İmmünohistokimyasal değerlendirme:** Öncelikle her bir kesitte, HSP-70 antikoru ile pozitif boyanan alanlar (böbrekte pozitif boyanan hücreler ve yapılar) ve bu alanlarda boyanmanın özelliği (nükleer, sitoplazmik, membranöz) değerlendirildi. Bunun sonucunda, her bir glomerülde %5’in üzerinde kapiller ve mezengial sitoplazmik boyanma olması pozitif olarak kabul edildi. Her bir böbrek kesitinde, 20 glomerül sayılarak pozitif glomerül sayısı kaydedildi ve her bir grup için pozitif glomerül ortalaması bulundu. Boyanmanın yoğunluğu ve yaygınlığı temel alınarak, kortikal toplayıcı kanallardaki nükleer boyanma ve medüller toplayıcı kanallardaki nükleer ve sitoplazmik boyanma semi-kantitatif olarak; [-] 0 ÷ %5’in altında; [+] 1 ÷ %5-%50 boyanma; [++] 2 ÷ %50’nin üzerinde olacak şekilde derecelendirildi.

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS v.12 (Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Böbreklerin ortalama makroskopik boyutlarının karşılaştırılmasında “student’s t” testi kullanıldı. Işık mikroskopi skorları ve glomerüler HSP-70 boyanma skorları arasındaki ilişki Mann-Whitney-U testi ile değerlendirildi. Kortikal ve medüller kollektör tübüllerdeki boyanma dereceleri arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanıldı. p değerinin <0.05 olması istatistiksel anlamlılık olarak kabul edildi.

## IV. BULGULAR

### Makroskopik boyutlar:

**Tablo-III:** Böbrek boyutlarının makroskopik olarak çalışma, kontrol ve sham grubu arasında karşılaştırılması.

	n	Böbrek boyutu (cm)	p
<b>Grup-1</b>	6	4.36±0.58	0.41
<b>Grup 1-kontrol</b>	5	4.1±0.18	
<b>Grup-2</b>	6	4.61±0.54	0.46
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	4.36±0.56	
<b>Sham Grubu</b>	6	3±0.54	p<0.0001

p: Student's t testi

Sham grubuyla karşılaştırıldığında çalışma gruplarında böbrek boyutlarında anlamlı artma olduğu tespit edildi (p<0.0001).

Grup-1, Grup 1-kontrol arasında böbreğin makroskopik boyutu açısından anlamlı fark saptanmadı (p=0.41). Grup-2, Grup 2- kontrol arasında da aynı şekilde makroskopik boyut açısından anlamlı fark bulunmadı (p=0.46).

### 4.1. IŞIK MİKROSKOPU BULGULARI

#### 4.1.1. Proksimal tübülüs bulguları:

**Tablo-IV:** Proksimal tübülüs hücrelerindeki değişikliklerin ışık mikroskopu bulgularının çalışma, kontrol ve sham grubu arasında karşılaştırılması.

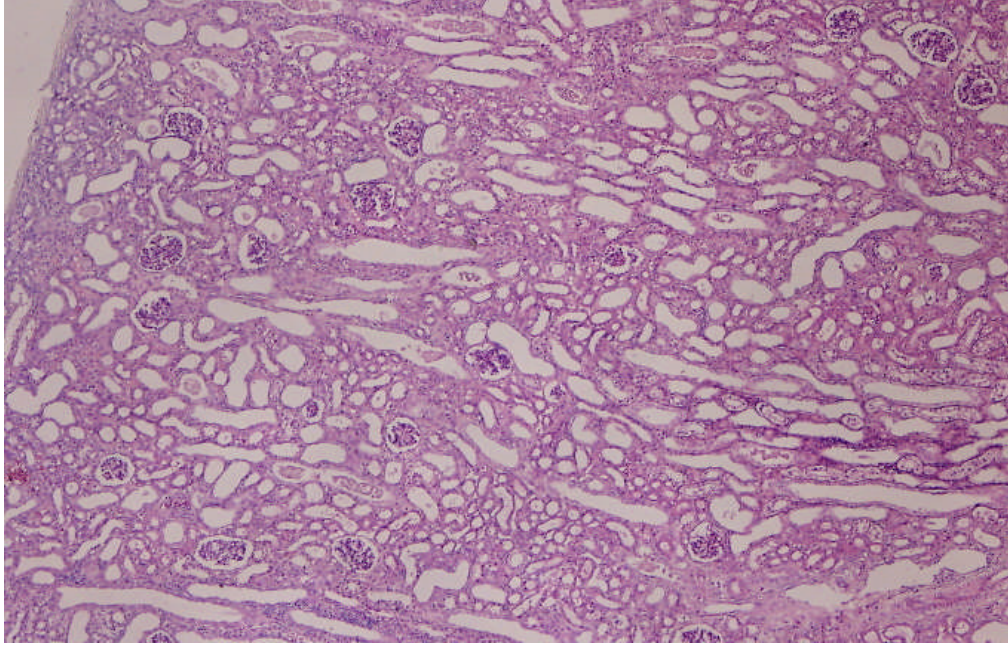
	n	Proksimal tübülüs ışık mikroskopu skoru	p
<b>Grup-1</b>	6	4.17±0.31	0.43
<b>Grup 1-kontrol</b>	5	3.80±0.37	
<b>Grup-2</b>	6	9.00±0.37	0.006
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	4.80±0.66	
<b>Sham grubu</b>	6	0.50±0.34	0.004

p: Mann-Whitney-U testi

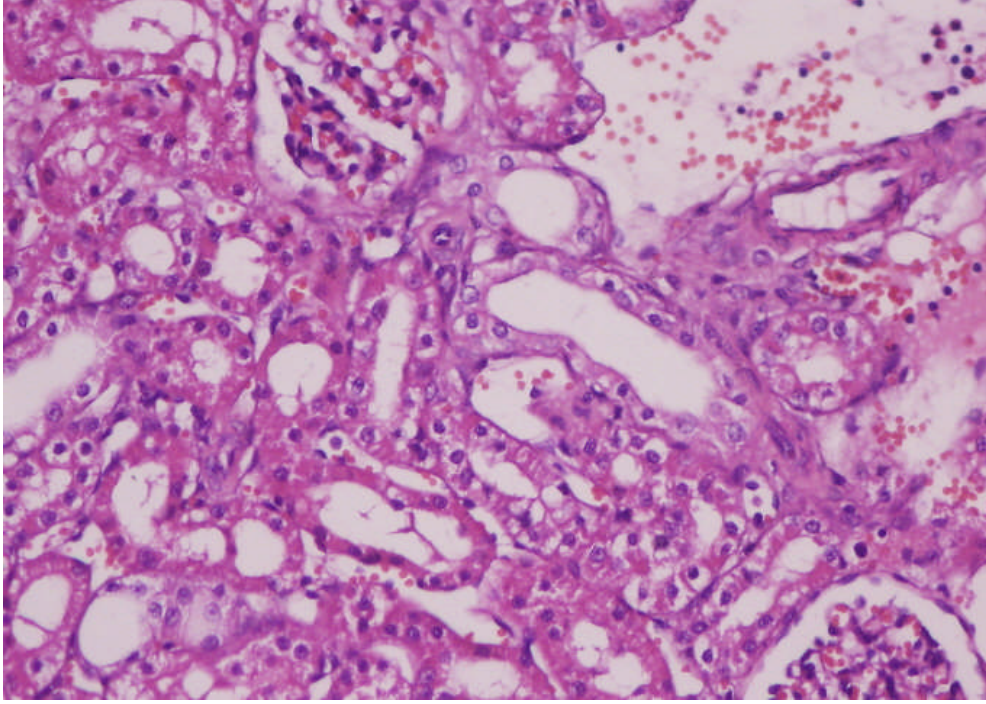
Sham grubunun değerlendirme skorları çalışma gruplarına göre anlamlı olarak daha düşüktü (p=0.004).

Grup-1 ve Grup 1-kontrol grupları arasında proksimal tübülüslerde ışık mikroskopu bulguları açısından anlamlı fark saptanmadı (p=0.43).

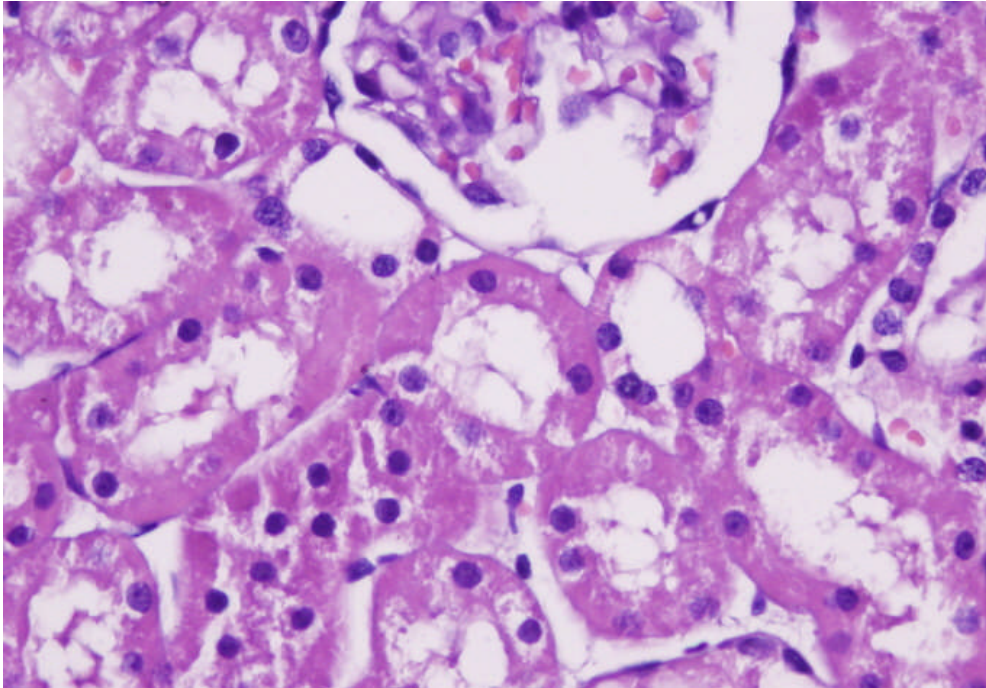
Grup-2 ve Grup 2-kontrol grupları arasında ise proksimal tübülüslerde ışık mikroskopu bulguları açısından anlamlı fark görüldü. Grup-2'nin proksimal tübülüslerdeki ışık mikroskopu değerlendirme skorları Grup 2-kontrol 'e göre anlamlı derecede yüksek idi (p=0.006) (şekil-13-15).



**şekil- 13:** Hidronefroz sonrası 6. gün ESWL uygulanmış böbrekte normal görünümlü glomerüller ve tübülüslerde belirgin dilatasyon (H&E, x40).



**Şekil-14.** Hidronefroz sonrası 6. gün ESWL uygulanmış böbrekte büyük büyütme ile konjesyon ve tübülüslerdeki dilatasyon, epitelde şişme, çizgili kenar kaybı, sitoplazmik eozinofili, nükleer piknoz (H&E, x400).



**Şekil-15:** Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte proksimal tübülüs epitelinde şişme, çizgili kenar kaybı ve sitoplazmik eozinofili (H&E, x400).

**4.1.2. Peritübüler alanda fibrozis, konjesyon, mononükleer hücre (MNH) infiltrasyonun ışık mikroskopu ile değerlendirilmesi:**

**Tablo-V:** Peritübüler alanda fibrozis, konjesyon, mononükleer hücre infiltrasyonun ışık mikroskopu bulgularının çalışma ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

	n	Fibrozis		P	Konjesyon		p	MNH infiltrasyonu		p
		Var	Yok		Var	Yok		Var	Yok	
<b>Grup-1</b>	6	5	1	0.38	0	6	0.19	2	4	0.61
<b>Grup 1-Kontrol</b>	5	3	2		1	4		1	4	
<b>Grup-2</b>	6	3	3	0.29	0	6	0.19	1	5	0.13
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	4	1		1	4		3	2	

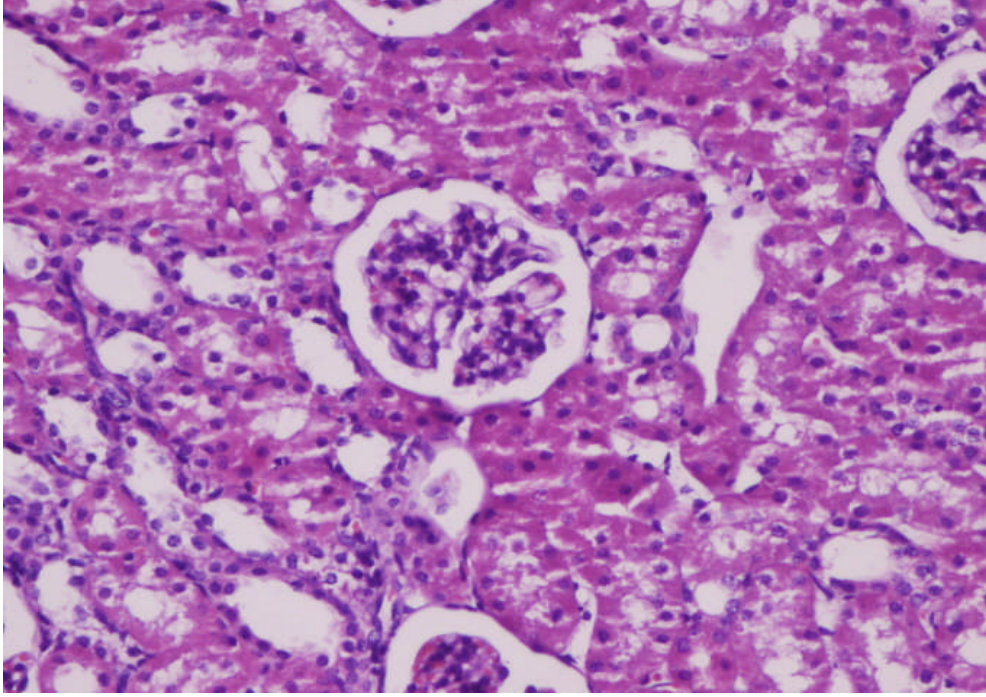
p: Mann-Whitney-U testi

Sham grubunda fibrozis, konjesyon ve MNH infiltrasyonu hiç görülmedi (Şekil-16).

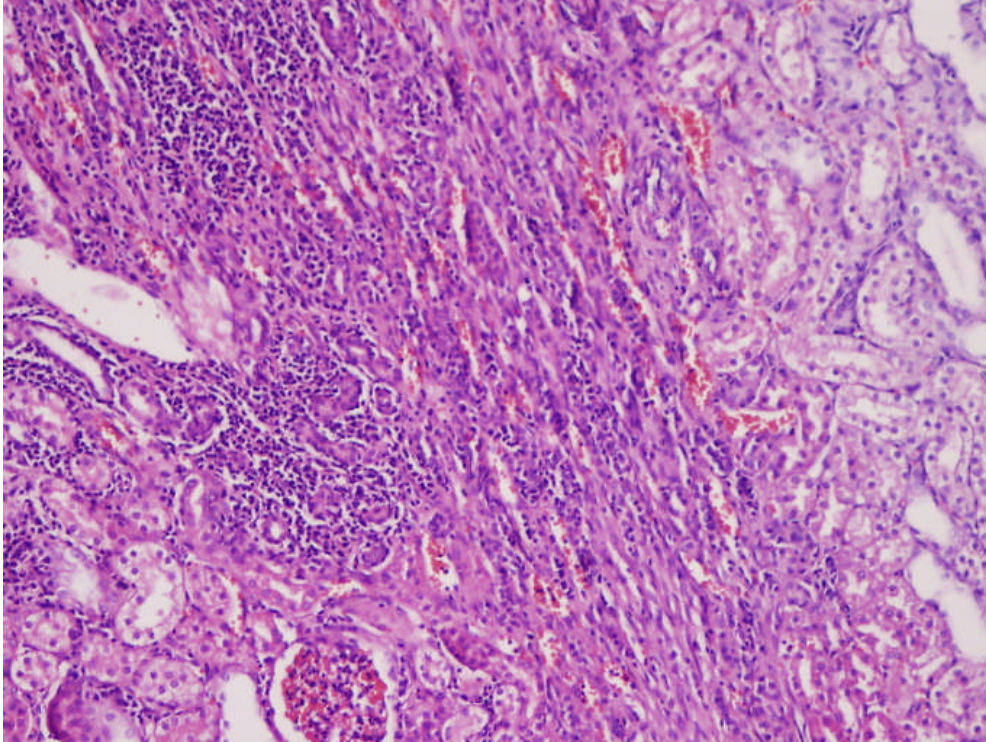
Kontrol grupları ile çalışma grupları arasında fibrozis, konjesyon MNH infiltrasyonu açısından bir fark saptanmadı (Şekil-17).

**4.1.3. Glomerüllerin değerlendirilmesi:**

Işık mikroskopu altında yapılan değerlendirmede gruplar arasında herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanmadı.



**Şekil-16:** Sham grubuna ait böbrek histolojik kesiti. Glomerüller ve tübüller normal görünümde (H&E, x200).



**Şekil-17:** Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrek dokusunda interstisyel mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu (H&E, x100).



## 4.2. HSP-70 BULGULARI

### 4.2.1. Kortikal kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulguları:

**Tablo-VI:** Kortikal kollektör tübülüslerdeki immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının sham grubu ile karşılaştırılması.

	n	[-]	[+]	[++]	p
<b>Gruplar</b>	22	7	11	4	0.03
<b>Sham grubu</b>	6	5	1	0	

p: Ki-kare testi.

Kontrol ve çalışma gruplarının kortikal kollektör tübülüslerdeki HSP-70 boyanması sham grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu ( $p=0.03$ ), (Şekil-18, 19).

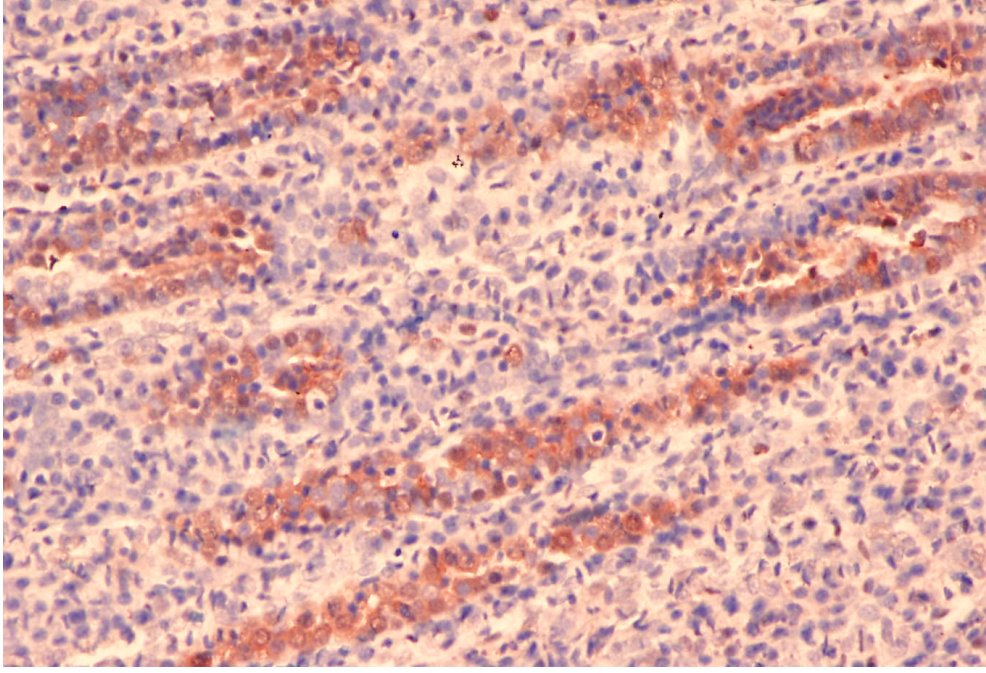
**Tablo-VII:** Kortikal kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının çalışma ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

	Sayı	[-]	[+]	[++]	p
<b>Grup-1</b>	6	0	4	2	0.006
<b>Grup 1- kontrol</b>	5	4	1	0	
<b>Grup-2</b>	6	1	4	1	0.62
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	2	2	1	

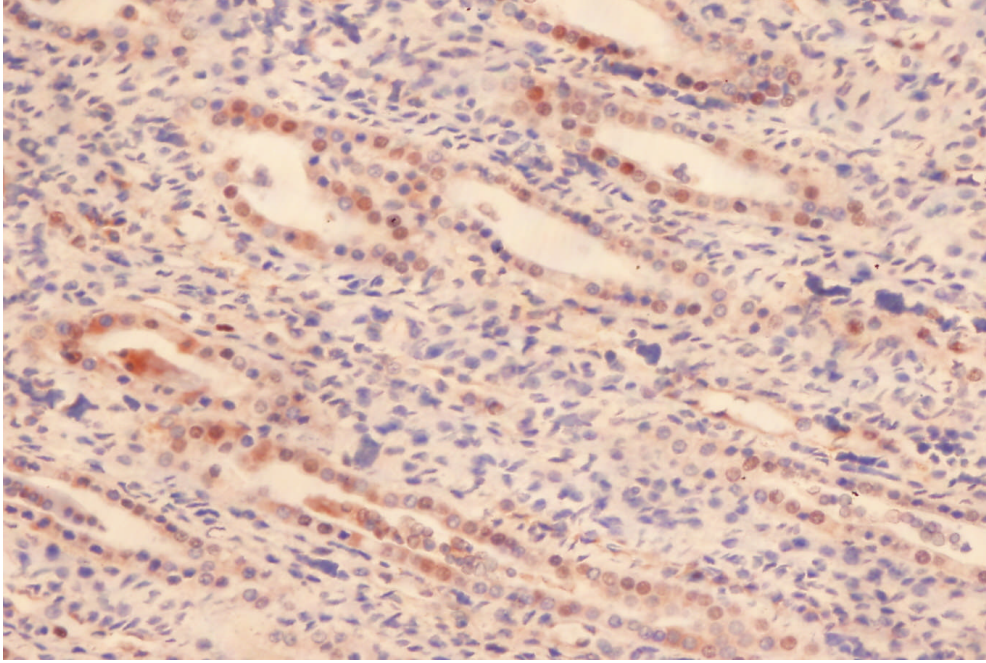
p: Ki-kare testi.

Grup-1'de, Grup 1-kontrol'e göre kortikal kollektör tübülüslerde anlamlı ölçüde HSP-70 boyanma skoru yüksek tespit edildi ( $p=0.006$ ).

Grup-2'de, Grup 2-kontrol'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p=0.62$ ).



**Şekil-18:** Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte toplayıcı kanallarda HSP-70 antikoruna ile immunohistokimyasal olarak [++] 2 sitoplazmik ve nükleer boyanma (HSP-70, x200).



**Şekil-19:** Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte toplayıcı kanallarda [++] 2 nükleer boyanma (HSP-70, x200).

#### 4.2.2. Proksimal tübülüs hücrelerinde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulguları:

Proksimal tübülüs hücrelerinde hiçbir grupta HSP-70 boyanması olmamıştır.

#### 4.2.3. Medüller kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulguları:

**Tablo-VIII:** Medüller kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının sham grubu ile karşılaştırılması.

	<b>n</b>	<b>[-]</b>	<b>[+]</b>	<b>[++]</b>	<b>p</b>
<b>Gruplar</b>	22	5	11	6	0.042
<b>Sham grubu</b>	6	4	2	0	

p: Ki-kare testi.

Kontrol ve çalışma gruplarının medllar kollektör tübülüslerdeki HSP-70 boyanması sham grubuna göre anlamlı lde yüksek bulundu ( $p=0.042$ ).

**Tablo-IX:** Medüller kollektör tübülüslerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulgularının çalışma ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması.

	<b>n</b>	<b>[-]</b>	<b>[+]</b>	<b>[++]</b>	<b>p</b>
<b>Grup-1</b>	6	0	3	3	0.033
<b>Grup1-kontrol</b>	5	2	3	0	
<b>Grup-2</b>	6	3	1	2	0.042
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	0	4	1	

p: Ki-kare testi.

Grup-1'de Grup 1-kontrol'e göre medüller kollektör tübülüslerde HSP-70 boyanma skoru anlamlı lde yüksek tespit edildi ( $p=0.033$ ).

Grup-2'de Grup 2-kontrol'e göre medüller kollektör tübülüslerde HSP-70 boyanma skoru anlamlı lde düşük tespit edildi ( $p=0.042$ ).

#### 4.2.4. Glomerüllerde immünohistokimyasal HSP-70 boyanma bulguları:

**Tablo-X:** Obstrüksiyon ve ESWL sonrası glomerüllerde tespit edilen boyanma skorlarının sham grubu ile karşılaştırılması.

	<b>n</b>	<b>Glomerüller HSP-70 skoru</b>	<b>p</b>
<b>Gruplar</b>	22	5.72	p<0.001
<b>Sham grubu</b>	6	0	

p: Mann-Whitney-U testi.

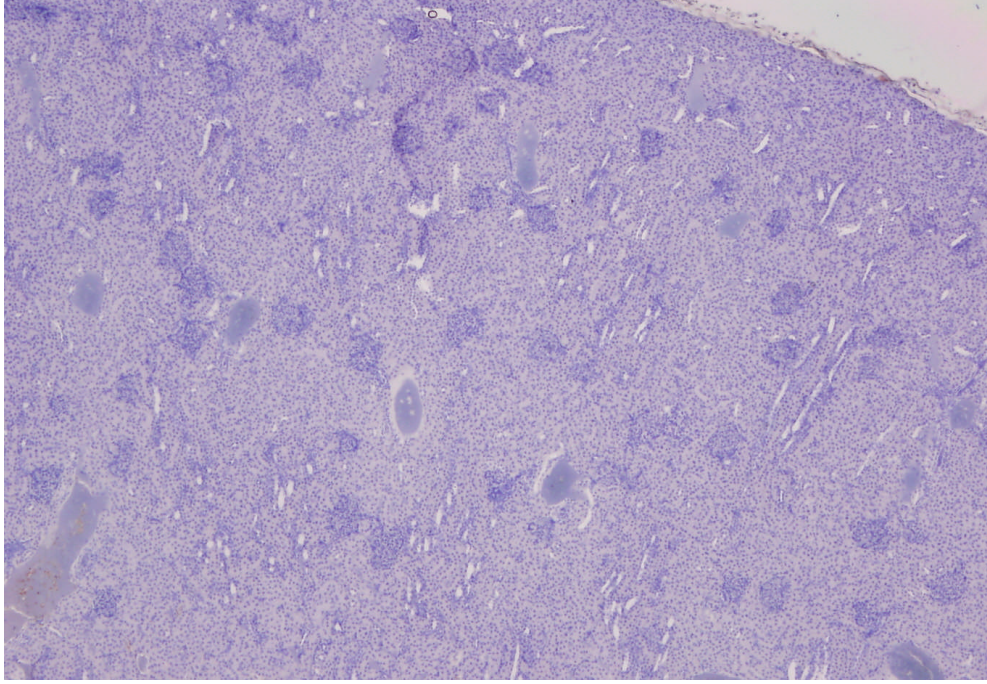
Gruplarda değişik derecede HSP-70 boyanması görülürken; sham grubunda glomerüller HSP-70 boyanması görülmedi (P<0.001), (Şekil-20).

**Tablo XI:** Glomerüllerde çalışma gruplarında tespit edilen boyanma skorlarının kontrol grupları ile karşılaştırılması.

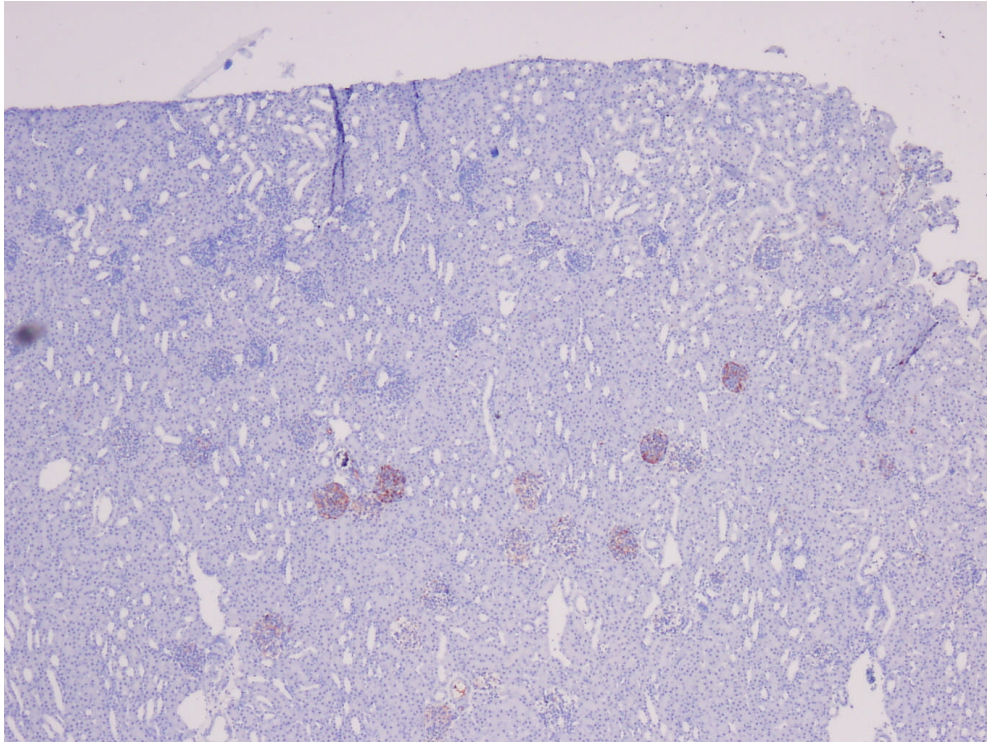
	<b>n</b>	<b>Skor</b>	<b>p</b>
<b>Grup-1</b>	6	6.00±1.13	0.57
<b>Grup 1-kontrol</b>	5	4.60±1.57	
<b>Grup-2</b>	6	6.33±1.12	0.70
<b>Grup 2-kontrol</b>	5	5.80±1.11	

p: Mann-Whitney-U testi.

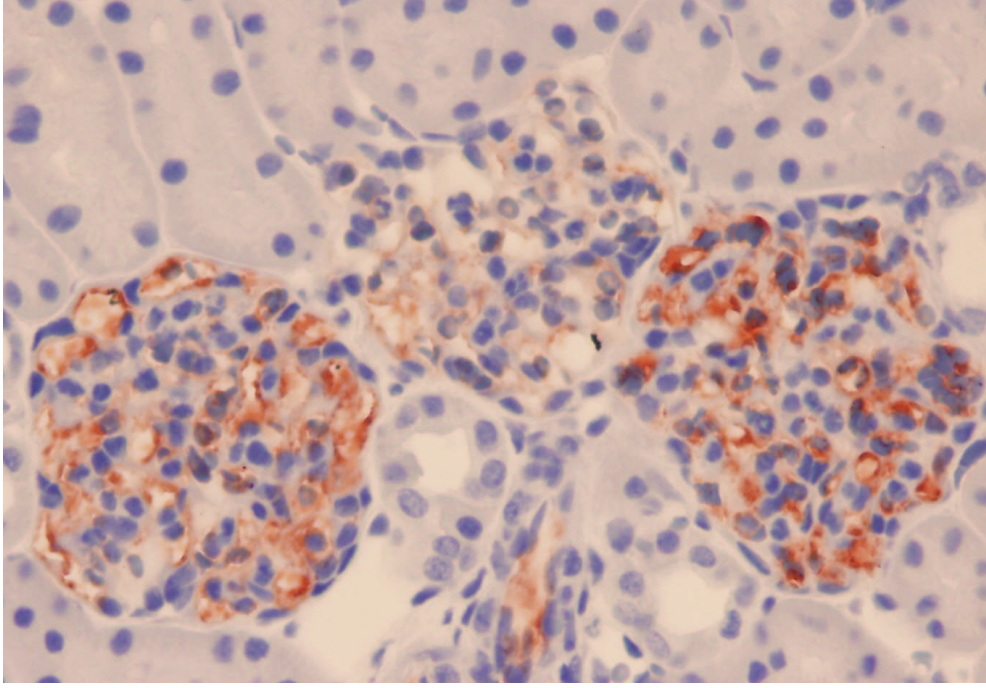
Her ne kadar ESWL uygulanan böbreklerde (Grup-1 ve Grup-2) HSP-70 boyanma skor ortalaması, ESWL uygulanmayanlara göre (Grup 1-kontrol ve Grup 2-kontrol) daha yüksek tespit edildi ise de; aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.57,p=0.70), (Şekil-21,22).



**Şekil-20:** Sham grubunda immunohistokimyasal olarak HSP-70 ile boyanmanın olmadığı böbrek kesiti (HSP-70, x40).



**Şekil-21:** Hidronefroz sonrası altıncı gün ESWL uygulanmış böbrekte HSP-70 antikoru ile kırmızı renkte pozitif boyanan glomerüller görülmektedir (HSP-70, x40).



**Şekil-22:** Büyük büyütme ile glomerüllerde HSP-70 pozitifliği (HSP-70, x400).

## V. TARTIŞMA

Literatürde birçok deneysel çalışmada cerrahi olarak ünilateral obstrüksiyon modelleri üzerinde değişik hayvanlarda çeşitli çalışmalar yapılmıştır (72-76). Bizim çalışmamızda da 25 adet erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanılmıştır.

Bizim çalışmamızda 4 ve 7 günlük obstrüksiyon süreleri oluşturulmuştur. Renal hasarın ciddiyeti obstrüksiyonun süresi ile ilişkilidir. Obstrüksiyon periyodu uzadıkça obstrüksiyon sonrası fonksiyonlarda düzelme bozulmaktadır. Köpeklerde obstrüksiyondan dört gün sonra düzeltme yapılırsa fonksiyonlarda tama yakın geri dönüş olduğu görülmüştür (77). Obstrüksiyondan 14 gün sonra düzeltme yapılırsa ise yaklaşık 4 ay içinde GFR ve tübüler fonksiyonların kontrol düzeylerinin %46'sına kadar düzeldiği tespit edilmiştir. Dördüncü aydan sonra fonksiyonlarda bir değişiklik görülmemiştir (77). Bununla birlikte bir diğer çalışmada, farelerde 24 saatlik obstrüksiyon oluşturulmuştur. Obstrükte böbreğin yüzeysel ve jukstamedüller nefronlarının 24 saatlik obstrüksiyon sonucu %15'nin kaybedildiği tespit edilmiş ve bu kaybın 60 gün kadar sürdüğü görülmüştür (78). Tübülüs fonksiyonlardaki geri dönüş incelendiğinde bir haftalık obstrüksiyon sonrası konsantrasyonun tamamen düzeldiği izlenmiştir. Dört haftalık obstrüksiyonda ise idrarı konsantre etme yeteneğinin belirgin bozulduğu saptanmıştır (79). Bütün bu bilgilerin ışığında bizim çalışmamızda obstrüksiyonun böbrekte geri dönüşümsüz hasar oluşturmadığı süreçle obstrüksiyon süresi sınırlandırılmaya çalışıldı. Bu nedenle de çalışmamızda (dört ve yedi gün) ureter obstrüksiyon modeli oluşturuldu. Amacımız üriner sistem taş hastalığına sekonder oluşan obstrüksiyon modeli oluşturmaktır. Çalışmamızda değişik sürelerde obstrüksiyon varlığında (üç ve altı gün) ESWL sonrası böbrekte oluşabilecek histopatolojik değişiklikleri ve HSP-70 ekspresyonunu incelemeyi amaçladık.

Bizim çalışmamızda ESWL 1500 şok 14 kV güçte uygulandı. ESWL uygulanırken böbrekte oluşan hasarın şok dalga sayısı ile bağlantısı olduğu ilk kez köpeklerde tanımlanmıştır. Şok sayısı 500'den 3000'e çıktığında subkapsüler hematom sayısında artma ve intraparakimal kanamaların büyüklüğünde ve sayısında artma olduğu gösterilmiştir (49). Diğer araştırmacılar

rat, tavşan, köpek ve domuzlarda benzer çalışmalar gerçekleştirmişlerdir (80,81). Bir başka çalışmada şok sayısı 500'den 5000'e çıktığında fibrotik skarların sayı ve büyüklüğünde artma tespit edilmiştir (80). 500 şok uygulanan yedi ratın birinde skar oluşumu görülürken 5000 şok uygulanan dört ratın dördünde de skar oluşumu saptanmıştır (80). Bu bulguları destekleyen bir başka çalışma Dornier HM3 litotriptör kullanılarak 6-7 haftalık domuzlarda yapılmıştır. Bir gruba 2000 şok 24 kV güçte ikinci gruba ise 8000 şok 24 kV güçte ESWL uygulanmış ve ışık mikroskopu bulguları incelenmiştir. Sekizbin şok uygulanan grupta venlerde ve arterlerde papillar uçlara kadar uzanan hasar tespit edilmiştir. Bu hasarın renal volümün %13.8±%1.4'üne karşılık geldiği gösterilmiştir (81). İkibin şok uygulanan grupta ise hasar böbrek volümünün %6.1±%1.7'sinde görülmüştür. Bin şok 24 kV güç ile uygulandığında, hasar böbrek volümünün %0.2±%0.1'inde saptanmıştır. Düşük doz şok dalgası verilenlerde renal hasarın anlamlı derecede az olduğu bulunmuştur (81). Bir başka çalışmada domuz böbreklerinde 1000 şok dalgası ile 2000 şok dalgası karşılaştırılmıştır. İkibin şok dalgası 24 kV güçle uygulanmış ve toplam böbrek volümünün %6'sında hasar tespit edilmiştir. Bin şok dalgası 24 kV güçle uygulandığında ise hasar büyüklüğünün %95 azaldığı izlenmiştir. Sonuç olarak 2000 şok uygulanan bir tedavide böbrekte asıl hasarın 1000 şoktan sonra oluştuğu görülmüştür (82). Biz de çalışmamızda 1500 şok dalgasını 14 kV güç altında uygulamayı tercih ettik. Çünkü seçilen şok dalga sayısı hem klinik uygulamalarda kullanılan şok dalga sayısına yakın hem de daha önceki deneysel çalışmalarda gösterilmiş olduğu gibi, böbrek için güvenli sınırlarda olan bir değerdir.

Bizim çalışmamızda ESWL'den 24 saat sonra doku örnekleri incelendi. ESWL'ye sekonder oluşan travmatik lezyonlar insan böbreği, köpek, rat, tavşan ve domuzlarda araştırılmıştır (48,83,84). Bu çalışmaların çoğunda kan damarlarında gelişen hasar incelenmiştir. Primer hasarın ilk planda damarsal dokuda olduğu düşünülmüştür. Akut vasküler hasar olarak da intraparakimal hemoraji ve ödem tespit edilmiştir (83). Vasküler hasarla birlikte nefronlarda ve toplayıcı kanallarda da hasar olduğu gösterilmiştir (48). Birçok çalışmada ESWL'nin zararlı etkileri araştırılırken ESWL'nin direk etkisine bağlı zararlı etkiler yanında doku incelemeleri saatler ve günler sonra yapıldığı için hipoksiye



sekonder zararlı etkiler de çalışılmıştır. Domuzlarda yapılan bir çalışmada 1000 şok 24 kV güç ile uygulanmıştır. Sadece ESWL'nin direk olarak oluşturduğu hasarı tespit etmek için, doku örnekleri ESWL uygulanır uygulanmaz alınmıştır (84). Yaptığımız çalışmada değişik derecede hidronefroz varlığında ESWL'nin oluşturduğu histopatolojik etkilerin yanısıra stres durumlarında böbrek dokusunda artan HSP-70 immünoreaktivitesinin incelenmesi amaçlanmıştır. Literatürde ESWL sonrası HSP-70 pozitifliğinin incelendiği bir çalışmada, 1000-1500-2000 şok 14 kV güçte değişik gruptaki tavşanlara ESWL uygulanmış ve ESWL'den 24 saat sonra ve 7 gün sonra böbrek dokuları histopatolojik olarak incelenmiştir. Binbeşyüz-ikibin şok uygulanan gruplarda 1000 şok uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre ESWL'den 24 saat sonra anlamlı derecede HSP-70 pozitifliği tespit edilmiştir. ESWL'den yedi gün sonra alınan böbrek dokularında ise 1500-2000 şok uygulanan gruplarda bile sınırlı düzeyde HSP-70 pozitifliği tespit edilmiştir (68). Bizim çalışmamızda da benzer olarak 1500 şok ESWL, 14 kV güç ile uygulanmıştır. Stres durumlarında oluşan HSP-70 pozitifliğini gösterebilmek için de doku incelemesi ESWL'den 24 saat sonra yapılmıştır.

Ratlarda oluşturulan obstrüksiyon modelinde ilk haftalarda böbrek ağırlığında artma görülürken, dördüncü haftada böbreğin vücut kitlesine oranı belirgin şekilde azalmıştır (85). Tavşanlarda yaptığımız bu çalışmada da hidronefrozun 4. ve 7. günlerinde sham grubuna göre böbrek boyutlarında istatistiksel olarak anlamlı olan artış tespit edilmiştir ( $p < 0.0001$ ). ESWL uygulanması böbreğin makroskopik boyutunda anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Hidronefroza bağlı makroskopik boyutlardaki artış açısından daha önceki çalışmalara paralel bir sonuç elde edilmiştir (85).

Daha önce yapılan çalışmalarda obstrüksiyonun birinci haftasında proksimal tübülüslerde dilatasyon tespit edilmiştir. Bu çalışmalardan birinde komplet obstrüksiyon yapılmıştır (85). Diğerinde de parsiyel obstrüksiyon yapılmıştır (86). Her iki modelde de tübülüslerde birinci haftada obstrüksiyona sekonder dilatasyon bildirilmiştir. ESWL'nin proksimal tübülüs üzerine olan etkileri incelendiğinde ise, domuzlarda yapılan bir çalışmada 1000 şok 24 kV saat uygulanmış ve doku örnekleri ESWL'den hemen sonra alınmıştır. Işık mikroskopu ve elektron mikroskopu ile incelendiğinde proksimal tübülüs bazal membranında kırılmalar

ve bazal membrana tutunmuş nekrotik hücreler görülmüştür. Bazal membrana komşu bazı hücrelerde şişme tespit edilmiştir. Tübülüslerin lümeninde ise kırmızı kan hücreleri saptanmıştır. Bazı hücrelerde mitokondride şişme izlenmiştir. Ancak bu bulgular elektron mikroskopu ile elde edilmiştir (84). Yaptığımız çalışmada ise kesitlerin mikroskopik olarak incelenmesinde; proksimal tübülüs epitel hücrelerinde şişme, epitel hücrelerinde çizgili kenar kaybı, nükleer piknoz, sitoplazmik eozinofili, nükleus kaybı ve hücrelerde dökülme görüldü. Bu değişiklikler skorlandı ve gruplar arasında karşılaştırma yapıldı. Yedi günlük grupta (Grup-2, Grup 2-kontrol) proksimal tübülüs hücrelerinde görülen değişiklikler açısından anlamlı farklılık saptanmıştır. Yani obstrüksiyon süresi uzadığında ESWL uygulanırsa, proksimal tübülüslerdeki hasar daha fazla olmaktadır. Dört günlük grupta (Grup-1 ve Grup 1-kontrol) proksimal tübülüslerde ESWL sonrası herhangi bir değişiklik saptanmamış olması, obstrüksiyon süresi uzadığında ESWL'ye bağlı proksimal tübülüs hasarının arttığını düşündürmektedir.

Son çalışmalarda ilerleyen renal hasarın, glomerüllerde ve tübülointerstisyel alanlardaki mononükleer hücre infiltrasyonu ile bağlantısı olduğu gösterilmiştir (87). Obstrüksiyonun ilk 24 saatinde mononükleer hücrelerin kortekse ve medullaya göç ettikleri görülmüştür (87). Ünilateral üreteral obstrüksiyonda mononükleer hücrelerin interstisyumdaki fibrozisde rol alabileceği gösterilmiştir (88). Bunlara ek olarak makrofajlar glomerüllere ciddi zarar veren bazı ürünler açığa çıkarabilir [Proteinleri yıkan enzimler, reaktif oksijen ürünleri, koagülasyon faktörleri...gibi] (88). Deneysel olarak obstrüksiyonda lökosit invazyonu önlendiğinde, postobstrüktif dönemde GFR ve renal kan akım oranlarının kontrol grubuna göre daha iyi olduğu görülmüştür (89). Lökosit invazyonunun obstrüktif nefropatide önemli rol oynadığı düşünülmektedir (89). Obstrüksiyona sekonder oluşan vazokonstriksiyonda ve fibrozisde makrofajların yanı sıra önemli rolleri olduğu düşünülen vazoaktif maddeler de unutulmamalıdır. Ratlarda yapılan bir çalışmada obstrüksiyondan bir hafta sonra İnterstisyumda mononükleer hücre infiltrasyonu, orta düzey ödem ve fibrozis görülmüştür. Obstrüksiyonun 2. ve 3. haftalarında ise inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu korteks ve medullada maksimuma çıkmıştır. Etkilenen tübülüslerin etrafında yoğun bir şekilde

interstisyel fibrozis görülmüştür. Obstrüksiyonun 4. haftasında ise inflamatuvar hücre infiltrasyonu azalmış, interstisyel bölge genişlemiş ve böbrekte yoğun fibrozis görülmüştür (85). Birçok tübülüste belirgin atrofi saptanmış ve bazı tübülslerin belirgin dilate olduğu izlenmiştir (85). ESWL sonrası oluşan fibrozisi inceleyen çalışmalardan biri tavşanlarda yapılmış olup, birinci gruba 1000 şok, ikinci gruba 7 gün ara ile 2000 şok, üçüncü gruba ise bir seansta 2000 şok ESWL uygulanmıştır (90). Bir ay sonra yapılan histopatolojik incelemede periglomerüler ve peritübüler alanda fibrozis tespit edilmiştir (90). Tavşanlarda yapılan başka bir çalışmada ise 3000 şok 18 kV güçte ESWL uygulanmıştır. Yedinci gün yapılan incelemede subkapsüler hematoma, kapsüler fibrozis, tübüler hemoraji ve tübülslerde dilatasyon tespit edilmiştir. Sekiz hafta sonra yapılan incelemede ise hemorajiye ait bulgular, interstisyel fibrozis, tübül kaybı ve glomerüllerde toplanma izlenmiştir (91). Bizim çalışmamızda sham grubunda peritübüler alanda fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu görülmemiştir. Hidronefroz oluşturulan gruplarda ve ESWL uygulanan gruplarda ise peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis ve konjesyon olduğu gözlenmiştir. Hidronefroz varlığında ESWL uygulanan gruplarda mononükleer hücre infiltrasyonu, fibrozis ve konjesyon açısından istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır. Dört günlük hidronefroz ve 7 günlük hidronefroz varlığında ESWL uygulanmasının mononükleer hücre infiltrasyonu ve fibrozis açısından bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür. Sonuç olarak değişik derecelerde hidronefroz varlığında ESWL uygulanmasının fibrozis ve mononükleer hücre infiltrasyonu açısından bir farklılık oluşturmadığını düşünüyoruz. Daha önceki çalışmalarda ESWL sonrası birinci ayda doku örneği alındığında anlamlı derecede fibrozis tespit edilmiştir (85). Yaptığımız çalışmada ise ESWL sonrası fibrozis açısından istatistiksel olarak anlamlı fark çıkmamasının nedeni doku örneklerinin ESWL'den 24 saat sonra alınmış olması olabilir. Mononükleer hücre infiltrasyonunun hidronefroza sekonder geliştiğini düşünmekteyiz. Ancak ESWL'nin böbrek parankiminde mononükleer hücre infiltrasyonuna etkisini araştıran ek araştırmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

Yaptığımız çalışmada glomerüllerde ışık mikroskopi bulguları açısından gruplar arasında bir değişiklik saptanmamıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada

tavşanlarda oluşturulan komplet üreter obstrüksiyonundan iki hafta sonra alınan böbrek dokuları ışık mikroskopunda incelendiğinde glomerüloskleroz görülmüştür (92). Tavşanlarda yapılan başka bir çalışmada ise ESWL'den üç ay sonra böbrek dokusu mikroskopik olarak incelendiğinde glomerüllerde toplanma ve avasküler alanlar tespit edilmiştir (93). Yedi haftalık tavşanlarda yapılan diğer bir çalışmada ESWL, değişik gruplara, 500-3000 şok arası 26 kV güç ile uygulanmış ve ESWL'den 9 hafta sonra böbrekler histopatolojik olarak incelendiğinde interstisyel fibrozis, tübüler atrofi, glomerüler hasar ve perivasküler fibrozis görülmüştür (96). Domuzlarda yapılan bir çalışmada 7 haftalık domuzlara, 1000 şok 24 kV güç ile uygulanmış ve ESWL'den hemen sonra böbrek dokusu örnekleri ışık mikroskopu ve elektron mikroskopunda incelenmek üzere alınmıştır. Elektron mikroskopunda glomerülde pariyetal tabakanın hasara uğradığı ve pariyetal hücrelerin bazal membranının bozulduğu tespit edilmiştir. Kırmızı kan hücrelerinin Bowman aralığına girdiği, bazı podosit hücrelerinin nekrotik olduğu görülmüştür (84). Bizim çalışmamızda ise glomerüllerde obstrüksiyon sonrası değişiklik saptanmamasının nedeninin obstrüksiyon süresinin dört ve yedi günle sınırlandırılmasının olduğu düşünüldü. Çünkü daha önce yapılan çalışmada doku örnekleri 14 günlük obstrüksiyon sonrası incelenmiştir (92). Ayrıca ESWL sonrası glomerüllerde değişiklik olmamasının nedeninin ise, yaptığımız çalışmada ESWL'nin 1500 şok 14 kV güçle uygulanması ve böbrek dokusunun ESWL'den 24 saat sonra alınıp ışık mikroskopunda incelenmiş olması olabilir. ESWL'ye sekonder glomerüllerde değişikliklerin ışık mikroskopu ile görüldüğü çalışmalarda ise doku örnekleri 9 hafta ve üç ay sonra alınmıştır (93,94). Domuzlarda yapılan bir çalışmada ESWL'den hemen sonra elektron mikroskopu ile yapılan incelemede glomerüllerde bazı değişiklikler tespit edilmiştir (84). Bizim çalışmamızda da belki ışık mikroskopu yerine elektron mikroskopu kullanılsaydı muhtemel glomerül değişikliklerini tespit etmek mümkün olabilirdi. Glomerüllerde ışık mikroskopu ile hasar görülmemesinin diğer bir nedeni de yaptığımız çalışmada 14 kV gibi düşük şiddette güç kullanılmış olması olabilir. Glomerüllerde oluşan hasarın şok sayısı, uygulanan güç ve ESWL sonrası geçen süre ile ilişkisini açıklayacak ek çalışmalara gerek olduğunu düşünüyoruz.

Yaptığımız çalışmada gruplarda HSP-70 pozitifliği kortikal kollektör ve medüller kollektör tübülüslerde ve glomerüllerde değişik düzeylerde tespit edilmiştir. Proksimal tübülüs hücrelerinde ise HSP-70 boyanması hiçbir grupta tespit edilmemiştir.

Çalışmamızda obstrüksiyonun üçüncü gününde uygulanan ESWL, kortikal kollektör tübülüslerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede HSP-70 boyanması oluşturdu. Obstrüksiyonun 6. günü uygulanan ESWL ise kortikal kollektör tübülüslerde görülen HSP-70 boyanmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadı. Obstrüksiyona sekonder oluşan HSP-70 boyanmasının obstrüksiyon süresi uzadıkça arttığı düşünüldü. Ratlarda yapılan bir çalışmada ünilateral ve bilateral obstrüksiyon oluşturulduktan 24 saat sonra doku örnekleri incelenmiş ve obstrüksiyondan 24 saat sonra HSP-70 pozitifliğinin oluşmadığı tespit edilmiştir (95). Ratlarda obstrüksiyonun 10. günü böbrekteki HSP-70 pozitifliğinin 3.7 kat arttığı tespit edilmiştir (65). Bizim çalışmamızda obstrüksiyon süresinin uzamasına bağlı oluşan HSP-70 boyanmasındaki artışın, ESWL'ye sekonder oluşması muhtemel artışı gizlemiş olabileceğini düşünüyoruz.

Çalışmamızda hidronefrozun üçüncü gününde uygulanan ESWL sonucu medüller kollektör tübülüslerde de HSP-70 boyanmasının arttığı görüldü. Hidronefrozun 7. gününde görülen HSP-70 boyanması istatistiksel olarak, ESWL uygulanan gruba göre fazla tespit edildi. Obstrüksiyon süresi uzadıkça artan HSP-70 boyanmasının, ESWL'ye sekonder oluşması muhtemel HSP-70 boyanmasını maskeleydiğini düşünüyoruz (65,95).

Bizim çalışmamızda proksimal tübülüslerde HSP-70 boyanması görülmemiştir. Çocuklarda yapılan çalışmada bir yıllık obstrüksiyon sonucu proksimal tübülüslerde HSP-70 pozitifliği görülmüştür (96). Ratlarda yapılan bir çalışmada ünilateral ve bilateral obstrüksiyon oluşturulduktan 24 saat sonra doku örnekleri incelenmiş ve obstrüksiyondan 24 saat sonra HSP-70 pozitifliğinin oluşmadığı tespit edilmiştir (95). Yaptığımız çalışmada yedi günlük obstrüksiyon süresi proksimal tübülüsdeki HSP-70 boyanmasını sağlamak için yeterli bir süre olmayabilir. Daha önce yapılan bir çalışmada, ESWL uygulanan tavşanlarda distal tübülüslerde ve toplayıcı kanallarda nefronun diğer kısımlarına göre daha fazla

HSP-70 pozitifliği tespit edilmiştir (68). Bizim alışmamızda medüller ve kortikal kollektör tübülüslerde HSP-70 boyanması saptanırken, proksimal tübülüsde HSP-70 boyanması saptanmamıştır.

Glomerüllerde HSP-70 pozitifliği incelendiğinde hidronefroz grubuna ESWL uygulandığında glomerüllerdeki HSP-70 pozitifliğinde artma saptandı. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Literatürde ocuklarda yapılan bir çalışmada bir yıllık obtrksiyon sonucu glomerüllerde görülen HSP-70 düzeyi kontrol grubu ile paralel olarak bulunmuştur (96). Obtrksiyonun süresine bağlı olarak glomerüllerde görülen HSP-70 pozitifliği konusunda ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada şok sayısı arttıķça (2000) glomerül ve tübülüslerde HSP-70 pozitifliği görülen hücre sayısında artış saptanmıştır (68). HSP-70 pozitifliği yaygınlığının uygulanan şok sayısı ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Bizim alışmamızda glomerüllerde HSP-70 immünoreaktivitesinin ESWL sonrası artmasına rağmen, istatistiksel olarak fark çıkmamasının nedeninin uyguladığımız şok sayısının az olmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak daha önce yapılan klinik çalışmalarda hidronefroz varlığında ESWL uygulandığında taştan arınma oranlarının, hidronefroz olmayan olgularla benzer olduğu bulunmuştur (69,70). Soliter distal üreter taşına bağlı değişik derecelerde hidronefrozu olan 152 hasta hidronefroz derecesine göre gruplara ayrılmış ve tedavi sonuçları incelenmiştir. ESWL tedavisi sonrası taşsızlık oranlarına hidronefrozun derecesinin bir etkisinin olmadığı görülmüştür (69). Bir başka çalışmada ise 130 proksimal üreter taşı olan hasta çalışmaya dahil edilmiş ve 4-15 mm'lik proksimal üreter taşlarına ESWL uygulanmıştır. Bu çalışmada da hidronefrozun derecesinin ESWL ile elde edilen taşsızlık oranlarını etkilemediği görülmüştür (70). Yukarıdaki bu iki çalışmada üriner obstrüksiyon ve hidronefroz varlığında ESWL'nin teropatik etkinliği araştırılmış, ancak obstrüksiyon varlığında ESWL uygulamasının böbrekte oluşturabileceği olası hasarlar araştırılmamıştır. Üriner obstrüksiyon varlığında, renal hasarın oluştuğu bilinmektedir (64,65,96). Ayrıca ESWL'nin de masum bir tedavi olmadığı bilinmektedir (39). Üriner obstrüksiyon varlığında ESWL uygulamak böbrek dokusu üzerinde daha da zararlı bir etki oluşturabilir. Bizim çalışmamızın

bulguları bu yöndedir. Bu çalışmada hidronefroz varlığında uygulanan ESWL'nin, proksimal tübülüste, glomerülde, kortikal ve medüller kollektör tübülüste hasarı gösteren değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir. Obstrüksiyon süresi uzadığında uygulanan ESWL'nin proksimal tübülüsteki hasarı artırdığı görülmüştür. Her ne kadar klinik uygulamalarda hidronefroz ve üriner obstrüksiyon varlığında ESWL uygulamak taştan arınma açısından iyi sonuçlar verse de, kanımızca böyle bir durumda örneğin üreteropelvik bileşkeye oturmuş ve ciddi derecede hidronefroz oluşturmuş taş varlığında öncelikle obstrüksiyonun giderilmesi (double J stent yada perkütan nefrostomi), sonra ESWL yapılması, daha uygun olabilir, diye düşünüyoruz.

## VI. SONUÇLAR

Çalışmamızda obstrüksiyon süresi uzadıkça (7 gün), ESWL'nin proksimal tübülüslerde daha zararlı etki yaptığı ışık mikroskobu ile tespit edildi. Proksimal tübülüs hücrelerinde, hiçbir grupta HSP-70 boyanması olmadığı saptandı.

Obstrüksiyon varlığında uygulanan ESWL, glomerüllerde ışık mikroskobu bulgusu olarak değişiklik yapmadı. Ancak HSP-70 pozitifliğinde artmaya neden olduğu bulundu.

Obstrüksiyona sekonder, kortikal ve medüller kollektör tübülüslerde anlamlı ölçüde hasar oluştuğu saptandı. 4. gün hidronefroz grubuna ESWL uygulandığında, ESWL'nin kortikal ve medüller kollektör tübülüsteki HSP-70 boyanmasını artırdığı izlendi.

Obstrüksiyonun süresi uzadıkça kortikal ve medüller kollektör tübülüslerdeki hasarın arttığı görüldü. Obstrüksiyona bağlı oluşan hasarın, ESWL'ye sekonder oluşması muhtemel hasarı maskeleyiği düşünüldü.

Obstrüksiyon böbreğin makroskopik boyutunda anlamlı derecede artışa neden oldu.

ESWL uygulanması, böbreğin makroskopik boyutunda anlamlı bir değişikliğe neden olmadı.

Obstrüksiyon varlığında, peritübüler alanda fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu saptandı.

Obstrüksiyon varlığında ESWL uygulanması ile, peritübüler alanda fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu görülen böbrek dokusu sayısında artış saptanmadı.



Obstrüksiyon varlığında uygulanan ESWL, peritübüler alanda fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu açısından farklılık oluşturmadı.

Obstrüksiyon böbreğin makroskopik boyutunda istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe neden olurken, ESWL uygulanması böbreğin makroskopik boyutunda değişiklik yapmadı.

Obstrüksiyon varlığında uygulanan ESWL, proksimal tübülüsde, glomerülde, kortikal ve medüller kollektör tübülüsde hasarı gösteren değişikliklere neden oldu. Obstrüksiyon süresi uzadığında uygulanan ESWL'nin proksimal tübülüsteki hasarı artırdığı görüldü.

## VII. ÖZET

**AMAC:** Tavşan modelinde, değişik sürelerde obstrüksiyon varlığında, ESWL'nin böbrek parankiminde neden olduğu histopatolojik değişiklikler ile birlikte HSP-70 ekspresyonunun incelenmesi hedeflendi.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** 25 adet Yeni Zelanda tavşanında 4 ve 7 günlük obstrüksiyon modeli oluşturuldu. 3 tavşan sham grubunu oluşturmak için kullanıldı. Sham grubundaki tavşanlara laparotomi yapıldı, üreterler diseke edildi. Üreterler bağlanmadan kapatıldı. 24 saat sonra doku örneği alındı. Grup-1'e hidronefrozun 3. günü, Grup-2'ye hidronefrozun 6. günü 1500 şok 14 kV güçte ESWL uygulandı. ESWL'den 24 saat sonra doku örnekleri histopatolojik olarak incelendi. Grup 1-kontrol grubu için beş tavşanda 4 günlük hidronefroz, Grup 2- kontrol grubu için beş tavşanda 7 günlük hidronefroz oluşturuldu. Obstrüksiyonun 3. günü ve 6. günü ESWL uygulanan grupların sonuçları kontrol ve sham grubu ile karşılaştırıldı. Işık mikroskopu ile proksimal tübülsler, peritübüler alanda fibrozis, mononükleer hücre infiltrasyonu ve glomerüller incelendi. Yaptığımız çalışmada ESWL sonrası böbrekte iskemik hasara cevap olarak oluşan HSP-70 ekspresyonu da araştırıldı.

**BULGULAR:** Sham grubuyla karşılaştırıldığında (Kontrol-1-2) ve (Grup-1-2)'de böbrek boyutlarında anlamlı artma olduğu tespit edildi ( $p<0.0001$ ). Kontrol grupları ile çalışma grupları arasında fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre (MNH) infiltrasyonu açısından bir fark saptanmadı (Fibrozis; Grup-1  $p=0.38$ , Grup-2  $p=0.29$ ), (Konjesyon; Grup-1  $p=0.19$ , Grup-2  $p=0.19$ ), (Mononükleer hücre infiltrasyonu; Grup-1  $p=0.61$ , Grup-2  $p=0.13$ ). Sham grubunda ise fibrozis, konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu hiç görülmedi. Işık mikroskopunda glomerüllerde herhangi bir histopatolojik değişiklik saptanmadı. Grup-1'de Grup 1-kontrol 'e göre kortikal kollektör tübülslerde anlamlı ölçüde HSP-70 pozitifliği tespit edildi ( $p=0.006$ ). Grup-2 ile Grup 2-kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p=0.62$ ). Proksimal tübüls hücrelerinde hiçbir grupta

HSP-70 boyanması olmadı. Grup-1 Grup 1-kontrol'e göre medüller kollektör túbülüslerde HSP-70 pozitifliği anlamlı ölçüde yüksek tespit edildi ( $p=0.033$ ). Grup-2 Grup 2-kontrol 'e göre medüller kollektör túbülüslerde HSP-70 pozitifliği anlamlı ölçüde düşük tespit edildi ( $p=0.042$ ). Kontrol ve çalışma gruplarının medüller kollektör túbülüslerdeki HSP-70 pozitifliği sham grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek bulundu ( $p=0.042$ ). Grup-1 Grup 1-kontrol'e göre ( $p=0.57$ ) ve Grup-2 Grup 2-kontrol'e göre ( $p=0.7$ ) glomerüllerde HSP-70 pozitifliği açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Gruplarda değişik derecede HSP-70 pozitifliği görülürken; sham grubunda glomerüler HSP-70 boyanması görülmedi ( $p=0.001$ ).

**SONUÇ:** Literatürde hidronefroz varlığında ESWL'nin zararlı etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Yaptığımız çalışmada, hidronefroz varlığında uygulanan ESWL'nin proksimal túbülüsde, glomerülde, kortikal ve medüller kollektör túbülüsde hasar oluşturduğu tespit edildi. Obstrüksiyon süresi uzadığında uygulanan ESWL'nin proksimal túbülüsteki hasarı artırdığı görüldü. Ancak bu sonuçları destekleyecek ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

## VIII. SUMMARY

**Aim:** To evaluate the histopathological changes and expression of HSP-70 in renal parenchyma exposed to ESWL in different periods of obstruction.

**Material and method:** Twenty-eight rabbits (New Zealand type) were included in our study. Four and seven days obstruction models were formed in twenty-five rabbits by laparotomy and binding the ureter during the operation. Another three rabbits constituted the sham group. Laparotomy and ureter dissection was performed in rabbits in the sham group. Then the operation was ended without binding the ureter. After twenty-four hours, tissue samples were obtained. ESWL with 1500 shock and 14 kV power was applied to Group-1 and Group-2 in the third and the sixth days of hydronephrosis respectively. After twenty-four hours, tissue samples were examined histopathologically. Four and seven days hydronephrosis were formed for Group1-control and Group 2-control in each five rabbits respectively. The results of the groups exposed to ESWL in third and sixth days of obstruction were compared with the the results of the control and sham groups. Proximal tubules, peritubular fibrosis, mononuclear cell infiltration and glomerules were examined with the light microscope. In our study, we also examined the positivity of HSP-70 in kidneys that forms as a response to ischemic injury.

**Results:** If we compare (Control-1-2) and (Group-1-2) with the sham group, the increase in the renal size was detected in (Control-1-2) and (Group:1-2) and that was statistically significant ( $p < 0.0001$ ). There was no difference between the control and the study groups in case of fibrosis, congestion and mononuclear cell infiltration (Fibrosis; Group-1  $p=0.38$ , Group-2  $p=0.29$ ), (Congestion; Group-1  $p=0.19$ , Group-2  $p=0.19$ ), (Mononuclear cell infiltration; Group-1  $p= 0.61$ , Group-2  $p=0.13$ ). There wasn't any fibrosis, congestion or mononuclear cell infiltration in the sham group. Light microscope did not show any

histopathological changes in the glomerules. HSP-70 positivity was detected in cortical collecting tubules in Group-1 and Group 1-control . The value of HSP-70 positivity in cortical collecting tubules of Group-1 was higher than in Group-1 control . The result was statistically significant ( $p=0.006$ ). There was no statistically significant difference between Group-2 and Group 2-control ( $p=0.62$ ) in case of HSP-70 positivity in cortical collecting tubules. There was no HSP-70 staining in any of the proximal tubule cells. The value of HSP-70 positivity in medullary collecting tubules of Group-1 was higher than in Group 1-control that was statistically significant ( $p=0.033$ ). The value of HSP-70 positivity in medullary collecting tubules of Group-2 was lower than in Group 2-control that was statistically significant ( $p=0.042$ ). HSP-70 positivity in medullary collecting tubules of the control and study groups was higher than the sham group and that was statistically significant ( $p=0.042$ ). There was no statistically significant difference between Group 1 compared to Group 1-control and Group-2 compared to Group 2-control ( $p=0.57$  and  $p=0.7$ , respectively) in case of HSP-70 positivity in the glomerules. Although there was different degrees of HSP-70 positivity in groups, there was no glomerular staining of HSP-70 in sham group ( $p=0.001$ ).

**Conclusion:** There is no study about the harmful effects of ESWL in the presence of hydronephrosis in the literature. In our study, we determined the harmful effects of ESWL in the presence of hydronephrosis in the proximal tubules, glomerules and cortical and medullary tubules. It was seem that if period of obstruction increased, the harmful effects of ESWL on proximal tubules increased as well. To support these results, more studies are required in the future.

## **IX. KAYNAKLAR**

- 1-Frederick A, Gulmi, Diane Felsen, E. Darracott Vaughan, Jr. Pathophysiology of urinary tract obstruction. In Walsh PC, Retik AB, Vaughen ED, Wein AJ, eds. Campbell's Urology, 8th. ed Philadelphia: WB Saunders, 2002; 1:411-456.
- 2-Eddy A. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7:2495-2508.
- 3-Talner L. Urinary obstruction. In: Pollack H ed. *Clinical Urology: An Atlas and Textbook of Urological Imaging*. Philadelphia: WB Saunders, 1990; 1535-1628.
- 4-Hulland H, Gonerman D. Pathophysiology of hydronephrotic atrophy: The cause and role of active preglomerular vasoconstriction. *Urol Int* 1983; 38:193-198.
- 5- Strong K. Plastic studies in abnormal renal architecture. *Arc Pathol* 1940; 29:77-119.
- 6-Heyman SN, Fuchs S, Jaffe R, Shina A, Ellizian L, Brezis M, Rosen S. Renal microcirculation and tissue damage during acute ureter obstruction in the rat: Effect of saline infusion, indomethacin and radiocontrast. *Kidney Int* 1997; 51:653-663.
- 7-Sharma A, Mauer S, Kim Y, Michael A. Interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Kidney Int* 1993; 44:774-788.
- 8-Nagle RB, Johnson ME, Jervis HR. Proliferation of renal interstitial cells following injury induced by ureteral obstruction. *Lab Invest* 1976; 35:18-22.
- 9-Chevalier RL, Smith CD, Wolstenhoime J, Krayewskky S, Reed JC. Chronic ureteral obstruction in the rat suppresses renal tubular Bcl-2 and stimulates apoptosis. *Exp Nephrol* 2000; 8:115-121.
- 10-Nagle RB, Bulger RE, Cutler RE. Unilateral obstructive nephropathy in the rabbit. Early morphologic, physiologic, and histochemical changes. *Lab Invest* 1973; 28:456-467.
- 11-Wright EJ, McCaffrey TA, Robertson AP, Vaughen ED, Felsen D. Chronic unilateral ureteral obstruction is associated with interstitial fibrosis and tubular expression of transforming growth factor-beta. *Lab Invest* 1996; 74:528-537.

- 12-Walton G, Buttyan R, Gartia-Montes E, Olsson CA, Hensle TW, Sawczuk IS. Renal growth factor expression during the early phase of experimental hydronephrosis. *J Urol* 1992; 148:510-514.
- 13-Gillenwater JY, Westervelt FB, Vaughan ED, Howards SS. Renal function after release of chronic unilateral hydronephrosis in man. *Kidney Int* 1975; 7:179-186.
- 14-Schlossberg SM, Vaughan ED. The mechanism of unilateral post-obstructive diuresis. *J Urol* 1984; 131:534-536.
- 15-Wilson DR: Pathophysiology of obstructive nephropathy: *Kidney Int* 1980; 18:281-292.84;131:534-536.
- 16-Solez K, Ponchak S, Buono RA, Vernan N, Finer PM, Miller M, Heptinstall RH. Inner medullary plasma flow in the kidney with ureteral obstruction. *Am J Physiol* 1976; 231:1315-1321.
- 17-Hanley MJ, Davidson K. Isolated nephron segments from rabbit models of obstructive nephropathy. *J Clin Invest* 1982; 69:165-174.
- 18-Frokiaer J, Christensen BM, Marples D, Durhuus JC, Jensen VB, Krepper MA, Nielsen S. Downregulation of aquaporin-2 parallels changes in renal water excretion in unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol* 1997; 273:213-223.
- 19-Purkerson ML, Rolf DB, Chase LR, Slatopolsky E, Klahr S. Tubular reabsorption of phosphate after release of complete ureteral obstruction in the rat. *Kidney Int* 1974; 5:326-336.
- 20-Thirakomen K, Kozlov N, Arruda JA, Kurtzman NA. Renal hydrogen ion secretion after release of unilateral ureteral obstruction. *Am J Physiol* 1976; 231:1233-1239.
- 21-Moody TE, Vaughn ED Jr, Gillenwater JY. Relationship between renal blood flow and ureteral pressure during 18 hours of total unilateral ureteral occlusion. Implications for changing sites of increased renal resistance. *Investig Urol* 1975; 13:246-251.
- 22-Hvinstendahl JJ, Pedersen TS, Jorgensen HH, Rehling M, Frokier J. Renal hemodynamic response to graded ureter obstruction in the pig. *Nephron* 1996; 74:168-174.

- 23-Blackshear J, Wathen R. Effects of indomethacin on renal blood flow and renin secretory responses to ureteral occlusion in the dog. *Miner Electrolyte Metab* 1978; 1:271-276.
- 24-Frokiaer J, Sorensen SS. Eicosanoid excretion from the contralateral kidney in pigs with complete unilateral ureteral obstruction. *J Urol* 1995; 154:1205-1209.
- 25-Frokiaer J, Knudsen L, Nielsen AS. Enhanced intrarenal angiotensin II generation in response to obstruction of the pig ureter. *Am J Physiol* 1992; 263:527-533.
- 26-Miyajima A, Chen J, Poppas DP, Vaughen ED, Jr, Felsen D. Role of nitric oxide in renal tubular apoptosis of unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* 2001; 59:1290-1303.
- 27-Lanzone JA, Gulmi FA, Chou SY, Mooppan UM, Kim H. Renal hemodynamics in acute unilateral ureteral obstruction: Contribution of endothelium-derived relaxing factor. *J Urol* 1995; 153:2055-2059.
- 28-Salvemini D, Seibert K, Masferrer JL. Endogenous nitric oxide enhances prostaglandin production in a model of renal inflammation *Clin Invest* 1994; 93:1940-1947.
- 29-Kahn SA, Gulmi FA, Chou SY, Mooppan UM, Kim H. Contribution of endothelin to renal vasoconstriction in unilateral ureteral obstruction: Reversal by verapamil. *J Urol* 1995; 153:411-414.
- 30-Galluci M, Alpi G, Cassenalli A. Six-year follow-up in patients treated with PCNL and ESWL for Stoghorn stones. *J Endourol* 1993; 1:105-109.
- 31-Lingeman JE, Newmann D, Mertz JH, Mosbaugh PG, Steele RE, Kahnoski RJ, Coury TA, Woods JR. ESWL. The methodist Hospital of Indiana experience. *J Urol* 1986; 135:1134-1137.
- 32-Loughlin KR. Management of urologic problems during pregnancy. *Urology* 1994; 44:159-169.
- 33-Villanyi KK, Szekely JG, Farkas LM, Javor E, Pusztai C. Short term changes in renal function after ESWL in children. *J Urol* 2001; 166:222-224.
- 34-Sturtevant B. The shock wave physics of lithotripsy. In Smith AD, Badian DH, Clayman RV, eds. *Smith's textbook of endourology*. St. Louis, Quality Medical, 1996; 1-29.



- 35-Cleveland RO, Bailey MR, Hartennaum B. Design and characterization of a research electrohydraulic lithotriptor patterned after Dornier HM3. *Rev Scientific Inst* 2000; 71:2514-2525.
- 36-Chaussy C, Schuller J, Schmiedt E, Brandl H, Jocham D, Liedl B. ESWL for treatment of urolithiasis. *Urology* 1984; 23:59-66.
- 37-Evan AP, Mc Ateer JA. Q-effects of shock-wave lithotripsy. In: Coe FL, Favus MJ, Pak CYC, Parks JH, Preminger GM, Eds. *Kidney stones: Medical and Surgical Management*. Philadelphia: Lippincott Raven, 1996; 549-70.
- 38-Başar MM, Şamlı MM, Erbil M, Ozergin O, Basar R, Atan A. Early effects of extracorporeal shock-wave lithotripsy exposure on testicular sperm morphology. *Scand J Urol Nephrol* 2004; 38:38-41.
- 39-Amy E, Krambeck, Matthew T, Gettman, Audrey L, Rohlinger, Christine M, Lohse, David E, Patterson, Joseph W, Segura. Diabetes mellitus and hypertension associated with shock wave lithotripsy of renal and proximal ureteral stones at 19 years of followup. *J Urol* 2006; 175 :1742-1747.
- 40-Zink RA, Frohmueller HG, Eberhardt JE. Urosepsis following ESWL. *J Urol* 1988; 139:265.
- 41-Karlsen SJ, Smevik B, Hovig T. Acute morphological changes in canine kidneys after exposure to extracorporeal shock waves: A light and electron microscopic study. *Urol Res* 1991; 19:105-15.
- 42-Tuteja AK, Pullium JP, Lehman TH, Elzinga LW. Anuric renal failure from massive bilateral renal hematoma following extracorporeal shock wave lithotripsy. A primate model. *J Urol* 1991; 146:548-50.
- 43-Perez-Balonco FJ, Arrabal Martin M, Ocete Martin C, Arias Puerta JJ, Garcia-Valdecasas Bernal J, Rodriguez Cuartero A, Zulvega Gamez A. Urinary glycosaminoglycans after extracorporeal shock wave lithotripsy in patients with kidney lithiasis. *Arch Esp Urol* 2001; 54:875-83.
- 44-Zannetti G, Ostini F, Montanari E, Russo R, Elena A, Trincheri A, Pisani E. Cardiac dysrhythmias induced by extracorporeal shockwave lithotripsy. *J Urol* 1999; 13:409-12.
- 45-Maker V, Layke J. Gastrointestinal injury secondary to extracorporeal shock wave lithotripsy: *Am Coll. Surg* 2004; 198:128-35

- 46-Lingeman JE, Kulb TB. Hypertension following extracorporeal shock-wave lithotripsy. *J Urol* 1987; 137:142-47.
- 47-Newman R, Hackett R, Senioer D, Brack K, Feldman J, Sosnowski J, Finlayson B. Pathologic effects of ESWL on canine renal tissue. *Urology* 1987; 29:194-200.
- 48-Willis LR, Evan AP, Connors BA, Blomgren P, Fineberg NS, Lingeman JE. Relationship between kidney size, renal injury, and renal impairment induced by shock wave lithotripsy. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:1753-1762.
- 49-Delius M, Enders G, Xuan ZIR, Liebich HG, Brendel W. Biologic effects of shock waves: Kidney damage by shock waves in dogs: Dose dependence. *Ultrasound Med. Biol* 1988; 14:117-122.
- 50-Ritossa FM. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experimenta* 1962; 18:571-573.
- 51-Cristoph aufricht. Heat-shock protein 70: molecular supertool? *Pediatr Nephrol* 2005; 20:707-713.
- 52-Hightower LE. Heat shock stress proteins, chaperons and proteotoxicity. *Cell* 1991; 66:191-197.
- 53-Mifflin LC, Cohen RE. HSC 70 moderates the heat shock (stress) response in *Xenopus laevis* oocytes and binds to denaturated protein inducers. *J Biol Chem* 1994; 269:15718-15723.
- 54-Pelham HRB. HSP-70 accelerates the recovery of nuclear morphology after heat shock. *EMBO J* 1984; 3:3095-3100.
- 55-Van Why SK Siegel NJ. Heat shock proteins renal injury and recovery. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1994; 7:407-412.
- 56-Smoyer WE, Ransom R, Harris RC, Welsh MJ, Lutsch G, Benndorf R. Ischemic acute renal failure induces differential expression of small heat shock proteins. *J Am Soc Nephrol* 1998; 11:211-221.
- 57-Bonegio R, Lieberthal W. Role of apoptosis in the pathogenesis of acute renal renal failure. *Curr Opin Nephrol Hipertens* 2002; 11:301-308.
- 58-Green DR, Reed JC. Mitochondria and apoptosis. *Science* 1998; 281:1309-1312.

- 59-Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 286:433-442.
- 60-Molitoris BA, Dahl R, Geerdes A. Cytoskeletal disruption and apical redistribution of proximal tubule Na-K ATPase during ischemia. *Am J Physiol* 1992; 263: 488-495
- 61-Aufricht C, Lu E, Thulin G, Kashgarian M, Siegel NJ, Van Why SK. ATP releases HSP-72 from protein aggregates after renal ischemia. *Am J Physiol* 1998; 274:268-274.
- 62-Riordion M, Garg V, Thulin G, Kashgarian M, Siegel J. Differential inhibition of HSP 72 and HSP 25 produces profound impairment of cellular integrity. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1557-1566.
- 63-Gaudio KM, Thulin G, Mann A, Kashgarian M, Siegel NJ. Role of heat stress response in the tolerance of the immature renal tubules to anoxia. *Am J Physiol* 1998; 274:1029-1036.
- 64-Williams RS, Thomas JA, Fina M, German Z, Benjamin IJ. Human heat shock protein-70 protects murine cells from injury during metabolic stress. *J Clin Invest* 1993; 92:503-508.
- 65-Kwei Chi Lin, Richard J Krieg, Jr. Pablo Saborio, James C, M Chan. Increased heat shock protein-70 in unilateral ureteral obstruction in rats. *Molecular genetics and metabolism* 1998; 65:303-310.
- 66-Sarıca K, Koşar A, Yaman O, Beduk Y, Durak I, Gogus O, Kavukcu M. Evaluation of ischemia after ESW: Detection of free oxygen radical scavenger enzymes in renal parenchyma subjected to high-energy shock waves. *Urol Int* 1996; 57: 22-27
- 67-Akçetin Z, Pregla R, Busch A, Kessler G, Hynemann H, Holtz J, Bromme H. Lipid peroxidation and the expression and regulation of the heat-shock response during ischemia-reperfusion of rat kidney. *Urol Int* 2000; 65: 32-38
- 68-Kemal Sarıca, İbrahim Sarı, Ahmet Erbagcı, Faruk Yağcı, Cihanser Yurtseven, Metin Karakok. Evaluation of Heat Shock Protein 70 expression in renal parenchyma subjected to shockwave lithotripsy. *J Endourol* 2003; 9:805-808.

- 69-Murat Demirbaş, Ahmet Köse, Murat Şamlı, Cem Güler, Turgay Kara, Mustafa Karalar. Extracorporeal shockwave lithotripsy for solitary distal ureteral stones: Does the degree of urinary obstruction affect success? *J Endourol* 2004; 3:237-240.
- 70-Seitz C, Fajkovic H, Waldert M, Tavonic E, Remzi M, Kramer G, Marberger M. Extracorporeal shock wave lithotripsy in the treatment of proximal ureteral stones: Does the presence and degree of hydronephrosis affect success? *European Urology* 2006; 49:378-383.
- 71-Sivarajah A, Chatterjee PK, Hattori Y, Brown PA, Stewart KN, Todorovic Z, Mota-Filipe H, Thiemermann C. Agonists of peroxisome-proliferator activated receptor-alpha (clofibrate and WY14643) reduce renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *Med Sci Monit* 2002; 8:532-9.
- 72-Ulm AH, Miller F. An operation to produce experimental reversible hydronephrosis in dogs. *J Urol* 1962; 88:337-339.
- 73-Masui S, Hiratsuka Y, Ariyoshi A, Sakamoto K. Chronic incomplete obstruction of the ureter; a new experimental model 1986; 41:426-9.
- 74-Steinhart G, Salinas-Madrigal L, Farber R, Lynch R, Vogler G. Experimental ureteral obstruction in the fetal opossum, Renal functional assesment. *J Urol* 1990; 144: 564-6.
- 75-Wen JG, Jorgensen TM, Djurhuus JC. Obstructive nephropathy : an update of the experimental research. *Urol Res* 1999; 27:29-39.
- 76-Friedman J, Hoyer JR, Mc Cormik B, Lewy JE. Congenital unilateral hydronephrosis in the rat. *Kidney Int* 1979; 15:567-71.
- 77-Fink RL, Caridis DT, Chemiel R, Ryan G. Renal impairment and its reversibility following variable periods of complete ureteric obstruction. *Aust NZ J Surg* 1980; 50:77-83.
- 78-Bander SJ, Buerkert JE, Martin D, Klahr S. Longterm effects of 24 hr unilateral ureteral obstruction on renal function in the rat. 1995; 28:614-620.
- 79-Capelouto CC, Slatzman B. The pathophysiology of ureteral obstruction. *J Endourol* 1993; 7:93-103.

- 80-Neuroberg J, Daus HJ, Recker F. Effects of lithotripsy in rat kidney: Evaluation with MR imaging, history and electron microscopy. *J Comput Assist Tomogr* 1989; 13:82-89.
- 81-Willis LR, Evan AP, Connors BA, Blomgren PM, Fineberg NS, Lingman JE. Effect of "high dose" lithotripsy on bilateral renal hemodynamics. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:350-351.
- 82-Bret A Connors, Andrew P Evan, Philip M blomgren, Lynn R Willis Rajash K. Reducing shock number dramatically decreases lesion size in a juvenile kidney model. *J Endourol* 2006; 20:607-611.
- 83-Karalezli G, Gogus O, Beduk Y, Kokuuslu C, Sarica K, Kutsal O. Histopathologic effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on rabbit kidney. *Urol Res* 1993; 21:67-70.
- 84-Youhzi Shao, Bret A Connors, Andrew P Evan, Lynn R. Willis, David A Lifsthtz, James E Lingeman. *The Anatomical Record Part* 2003; 275:979-989.
- 85-Ryuji Ohasahi, Akira Shimizu, Yukunari Masuda, Hiroshi Kitamura, Masamichi Ishizaki, Yuichie Sugisaki, Nobuaki Yamanaka. Peritubular capillary regression during the progression of experimental obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1795-1805.
- 86-Glaesson G, Josephson S, Robertson B. Experimental partial ureteral obstruction in newborn rats. Do the morphological effects progress continuously? *J Urol* 1983; 130:1217-22.
- 87-Schreiner GF, Harris KP, Purkerson ML, Klahr S. Immunological aspects of acute ureteral obstruction: Immune cell infiltrate in the kidney. *Kidney Int* 1988; 34:487-93.
- 88-Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987; 79:319-26.
- 89-Harris KP, Klahr S, Schireiner G. Obstructive nephropathy. From mechanical disturbance to immune activation? *Exp Nephrol* 1993; 1:198-204.
- 90-James S, Morris, Douglas A, Husmann, W. Tad Wilson, and Glenn M Preminger. Temporal effects of shock wave lithotripsy *J Urol* 1991; 145:881-883.
- 91-Subramain Gunasekaran, John M Donovan, Milos Chvapil, George W Drach. Effects of ESWL on the structure and function of rabbit kidney. *J Urol* 1989; 141:1250-1254.

92-Ekinci S, Çiftçi A, Atilla P, Muftuoğlu S, Senocak M, Buyukpamukcu N. Ureteropelvic junction obstruction causes histologic alterations in contralateral kidney. *J Pediatr Surg* 2003; 11:1650-1655.

93-Fajardo LL, Hillman BJ, Weber C, Donovan JM, Drach GW. Microvascular changes in rabbit kidneys after extracorporeal shock wave treatment. *Invest Radiol* 1990; 6:664-669.

94-Devonna M Kaji, Hui Wen Xie, Brian E.Hardy, Andy Sherrod and Jeffry L Huffman. The effects of ESWL on renal growth, function, and arterial blood pressure in an animal model. *J Urol* 1991; 146:544-547.

95-Richard A Gazer. Obstruction of proximal tubules initiates cytoresistance against hypoxic damage. *Kidney International* 1994; 47:628-637.

96-Patricia Valles, Facundo Jerro, Liliana Carrizo, Walter Manucha, Julio Oliva. Heat shock proteins HSP-27 and HSP-70 in unilateral obstructed kidneys. *Pediatr Nephrol* 2003; 18:527-535.