

## SILDENAFİL SİTRATIN KISMİ ÜRETER OBSTRÜKSİYONU SONRASI GELİŞEN BÖBREK TÜBÜLER APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİ: DENEYSEL ÇALIŞMA

### EFFECT OF SILDENAFIL CITRATE ON RENAL TUBULAR APOPTOSIS FOLLOWING PARTIAL URETERAL OBSTRUCTION: AN EXPERIMENTAL STUDY

Turgay AKGÜL\*, Arzu AKGÜL\*\*, Emre HURİ\*, Ali AYYILDIZ\*, Hüseyin ÜSTÜN\*\*\*, Cankon GERMİYANOĞLU\*

\* Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, ANKARA

\*\* Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Bilim Dalı, ANKARA

\*\*\* Sağlık Bakanlığı Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği, ANKARA

#### ABSTRACT

**Introduction:** Partial ureteral obstruction (PUUO) is one of the most common urologic problems in urological practice. It has been demonstrated that urinary tract obstruction induces progressive apoptosis of both renal tubular and interstitial cells. Tubular cell apoptosis is known as a major factor for the progressive renal tissue loss in obstructive uropathy.

Sildenafil citrate is widely used for erectile dysfunction (ED). This drug is a phosphodiesterase 5 inhibitor and enhances cyclic guanosine monophosphate and nitric oxide mediated vasodilatation with resulting improvement of ED. The relationship between sildenafil citrate and apoptosis is already known. Sildenafil has been recently shown to have a strong protective effect against apoptosis through a NO signaling pathway.

In this experimental study, we aimed to investigate the effect of sildenafil citrate on renal tubular apoptosis and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) expressions after the release of partial unilateral ureteral obstruction.

**Materials and Method:** Thirty-two Wistar Albino rats were randomly assigned into four groups. PUUO was formed in groups 1, 2 and 3. Group 4 was defined as sham group and received no drug. Experimental PUUO was created by placing an intravenous catheter into the ureter lumen and ligating the ureter and catheter together by using 4-0 silk suture. By ligating over the catheter, the ureters had been narrowed surgically. The catheter was then removed and the surgical incision was closed. Sham-operated rats had their ureters only manipulated. After one month, the rats in group 1 were sacrificed without repairing PUUO and the rats in group 3 were sacrificed after repairing PUUO. In group 2; sildenafil citrate (Viagra®, Pfizer, USA, 1 mg/day) was administered orally before 4 hours of repairing PUUO. Sildenafil citrate tablet was diluted with 10 cc distilled water to form a homogeneous solution and administered to rats orally. Left nephrectomy was performed for histopathological examination in all rats.

**Results:** The mean number of renal tubular apoptotic cells was  $4.87 \pm 0.99$  in sham group and was  $12.75 \pm 0.88$  in group 1. The mean count was  $15.75 \pm 0.46$  in group 3 and this score reflected the highest apoptotic cell value in all groups. The mean apoptotic cell count was significantly decreased in group 2 according to group 3 ( $p=0.002$ ).

The expressions of eNOS and iNOS in group 1 were significantly increased according to sham group and these values were higher in group 3 than group 1 ( $p=0.0001$ ). The NOS expressions were significantly decreased in group 2 according to group 3 ( $p=0.009$  and  $p=0.001$ ).

**Conclusion:** Our findings demonstrate that PUUO increases renal tubular cell apoptosis and elevate NOS concentrations in renal tubular tissue after partial ureteral obstruction. The oral administration of single dose of sildenafil citrate that is known to be effective in ED treatment before repairing of PUUO has a preventive effect against increased tubular cell apoptosis formed after repairing PUUO. In our opinion, these findings may be important in clinical situations. Our findings that will be supported with additional experimental studies may help physicians about using sildenafil citrate in the surgery day for PUUO.

**Key words:** Apoptosis, Partial ureteral obstruction, Renal tubulus, Sildenafil citrate

#### ÖZET

Bu çalışmamızda sildenafil sitratın kısmi üreter obstrüksiyonun (PUUO) açılmasını takiben gelişen böbrek tübüler apoptozis ile endotelial (eNOS) ve indüklenebilen nitrik oksit sentetaz (iNOS) ekspresyonları üzerine olan etkisini araştırmayı amaçladık.

**Dergiye Geliş Tarihi:** 14.06.2008

**Yayına Kabul Tarihi:** 10.11.2008 (Düzeltilmiş hali ile)

Otuz iki adet Wistar Albino sıçan randomize bir şekilde 4 gruba ayrıldı. Bir, iki ve üçüncü gruplara sol PUUO modeli oluşturuldu. Dördüncü grup ise sham grubu olarak kabul edildi. Bir ayın sonunda birinci grup obstrüksiyon düzeltilmeden sakrifiye edilirken üçüncü grup obstrüksiyonu düzeltilerek sakrifiye edildi. İkinci gruba ise obstrüksiyon açılmadan 4 saat önce oral yoldan sildenafil sitrat verildi. Tüm sıçanların sol böbrekleri histopatolojik incelemeler için çıkarıldı.

Böbrek tübüler apoptotik hücre sayısı, sham grubunda  $4,87 \pm 0,99$  olarak bulunurken Grup 1' de  $12,75 \pm 0,88$  olarak bulundu. Grup 3'de ortalama apoptotik hücre sayısı  $15,75 \pm 0,46$  idi ve bu değer tüm gruplar arasındaki en yüksek apoptozis oranını yansıtmaktaydı. Grup 2'deki sıçanlarda ise apoptotik hücre sayısının Grup 3'e oranla anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ( $p=0,002$ ). Grup 1'deki eNOS ve iNOS ekspresyonları sham grubuna göre anlamlı derecede artmış olsa da bu değerler Grup 3'te Grup 1'e göre daha yüksekti ( $p=0,0001$ ). Grup 2'de ise NOS ekspresyonları Grup 3'e göre anlamlı derecede azalmıştı ( $p=0,009$  ve  $p=0,001$ ).

Kısmi üreter obstrüksiyonun açılmasından önce uygulanan tek doz sildenafil sitratın obstrüksiyonun açılmasının ardından böbrek dokusunda gözlenen artmış tübüler hücre apoptozisine karşı koruyucu etkisi gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Apoptozis, Kısmi üreter obstrüksiyonu, Böbrek tübülüsü, Sildenafil sitrat

## GİRİŞ

Kısmi tek taraflı üreter obstrüksiyonu (PUUO), üroloji pratiğinde sık rastlanan bir klinik tablodur. Üreter obstrüksiyonları içeriden veya dışarıdan olan basılara bağlı olarak gelişebilir. Yetişkinlerde en sık görülen PUUO nedenleri; taşlar, ureteropelvik bileşkede obstrüksiyon ve üreter darlıklarıdır<sup>1</sup>. Üriner sistem obstrüksiyonu, üriner sistemin dilatasyonuna ve böbrek işlevlerinde azalmaya neden olabilir. Üriner obstrüksiyonun böbrek tübülüslerinde apoptozise intertisyel hücrelerde ise progresif tarzda apoptozise neden olabileceği bilinmektedir<sup>2</sup>.

Nitrik oksit (NO), akut gelişen PUUO tablosunda üretilmektedir ve bu maddenin obstrüksiyonun erken safhasında böbrek hemodinamiyi düzenlediği bilinmektedir<sup>3</sup>. Obstrüksiyonun kronik safhasında ise bir anti-fibrotik madde olarak işlev görmektedir<sup>4</sup>. Nitrik oksit sentaz (NOS), NO oluşumundan sorumlu enzim olup nöronal, endotelial ve indüklenebilen NOS olmak üzere üç izoformu vardır. Endotelial NOS (eNOS),  $Ca^{+2}$  bağımlı olup çoğu dokuda bulunabilirken, indüklenebilen NOS (iNOS)  $Ca^{+2}$  bağımsız olup dokudaki oluşumu ancak inflamatuvar sitokinlere veya iskemiye maruziyet sonrası görülebilmektedir<sup>5</sup>.

Sildenafil sitrat bir fosfodiesteraz 5 (PDE5) inhibitörü olup erektil disfonksiyon (ED) tedavisinde kullanımının yanı sıra günümüzde çeşitli medikal endikasyonlarda kullanılmaya başlamıştır. Sildenafil, esas olarak etkisini PDE5 inhibisyonu ve buna bağlı olarak peniste siklik guanozin monofosfat (cGMP) artışı ile düz kas gevşemesine neden olarak göstermektedir<sup>6</sup>. PDE5'in beyin, kalp, böbrek, mesane, prostat, uretra, penis ve uterusu yaygın bir şekilde bulunduğu gösterilmiştir<sup>7</sup>. Son

zamanlarda yapılan çalışmalarda, sildenafilin değişik hayvan modellerinde iskemi reperfüzyon hasarına karşı güçlü bir kardiyoprotektif etkisinin olduğu belirtilmiştir<sup>8</sup>. Sildenafil ayrıca reaktif oksijen radikallerinin inhibisyonu ile anti-inflamatuvar özelliğinin olduğu gösterilmiştir<sup>9,10</sup>.

Sildenafil ile yapılan çalışmalarda sildenafilin NO aracılığı ile apoptozise karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir<sup>11</sup>. Ayrıca sildenafil sitratın gün geçtikçe ED tedavisi dışında yeni kullanım alanlarının araştırılması ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin geçtiğimiz yıllarda sildenafilin pulmoner arteriyel hipertansiyonun her evresinde kullanımını onaylaması<sup>12</sup> bizleri sildenafil sitratın PUUO sonrasında oluşan böbrek hasarı üzerine olan etkisini araştırmaya yönlendirdi. Bu çalışmanın amacı sıçanlarda oluşturulacak PUUO modelinde sildenafil sitrat kullanımının böbrek tübüler apoptozis ile endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) ve indüklenebilen nitrik oksit sentetaz (iNOS) ekspresyonları üzerine olan etkisini araştırmaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Yerel etik kurul kararının ardından çalışmaya 32 adet Wistar sıçan (210-262 gr) alındı. Sıçanlar ortalama sıcaklığı  $22-24^{\circ}C$  ve ortalama nem oranı %50 olan gün ışığı kontrollü (12 saat karanlık, 12 saat aydınlık) bir odadaki kafeslere yerleştirildi. Sıçanlar randomize bir şekilde 4 gruba ayrıldı;

Grup 1 (n=8): PUUO düzeltilmeden öldürülen grup

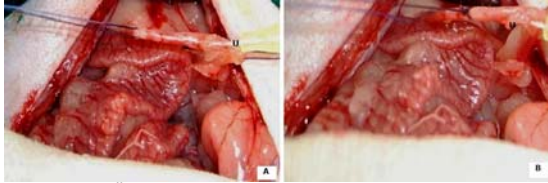
Grup 2 (n=8): PUUO oluşturulup üreter obstrüksiyonunun açılmasından 4 saat önce sildenafil sitrat (Viagra®, Pfizer, ABD, 1 mg/gün) verilen grup

*SİLDENAFİL SİTRATIN BÖBREK TÜBÜLER APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİ*  
(Effect of Sildenafil Citrate on Renal Tubular Apoptosis)

Grup 3 (n=8): PUUO oluşturulup daha sonra obstrüksiyonu düzeltilerek öldürülen grup

Grup 4 (n=8): Sham

**Cerrahi işlem:** Tüm cerrahi işlemler %5 ketamin hidroklorid anestezisi (50 mg/kg, intramüsküler) altında cerrahi luplar (x2.5, Heine™, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Karın ön duvarı cildi tıraş edilerek %10'luk povidin iyodin ile temizlendi. Abdominal insizyonunun ardından sol üretere ulaşıldı ve sol ureter askıya alındı. Ardından sol ureter duvarı ince uçlu bisturi ile insize edildi. Obstrüksiyon için ureterin lümeni içerisine ince kateter yerleştirilerek 4/0 ipek iplikle ureter bağlandı. Üreterin bu şekilde bağlanması ile ureter, kateterin silikon kısmının dış çapı ölçüsünde daralmış oldu ve bu işlem sonrasında kateter çekildi (Resim 1).



**Resim 1. a-** Üreter lümenine yapılan insizyonla yerleştirilen kateterin görünümü; **b-** Kateter üzerinden üreter bağlanarak düğüm kateter üzerine oturtuldu. Ardından kateter çekilerek üretere daralması sağlandı. (u=üreter)

Sham grubunda sol üretere ulaşarak sol ureter sadece maniple edildi ve tekrar yerine yerleştirilerek karın duvarı kapatıldı. Bir ayın sonunda tüm sıçanlara tekrar laparotomi uygulandı ve grup 2 ve 3'deki sıçanların kısmi üreter obstrüksiyonlarının düzeltilmesinden 20 dakika sonra olmak üzere tüm sıçanların sol böbrekleri patolojik değerlendirme için çıkarıldı.

**Tedavi:** Grup 2'deki sıçanlara nefrektomi uygulanacağı gün oral yoldan 50 mg sildenafil sitrat tabletinin 10 cc distile su ile karıştırılması ile hazırlanan solüsyon oral yol ile verildi ve solüsyonun bitmesinden 4 saat sonra sıçanlar öldürüldü.

**Histopatolojik İnceleme:** Histopatolojik incelemeler ışık mikroskobu altında hangi gruba ait dokuyu incelediğini bilmeyen patoloji uzmanı tarafından gerçekleştirildi. Böbrekler, formol solüsyonundan çıkarılarak önce parafin bloklarına gömüldü ve hazırlanan yaklaşık 5 µm'lik kesitler halinde deparafinize edilerek hematoksilin-eozin ile boyandı. Kesitler, 10 mM sitrat tamponu ile 20 dakı-

ka boyunca ısıtıldı ve oda ısısında 20 dakika boyunca soğutuldu. Ardından kesitler tampon çözeltisi ile 10 dakika boyunca yıkandı. Hücre apoptozisinin değerlendirilmesinde renk gelişimi için Apoptosis Protease Activating Factor (APAF-1) kiti (Lab Vision Corp, Neomarkers, CA, ABD) kullanıldı. iNOS ve eNOS değerlendirmeleri ise iNOS Ab-1 ve eNOS Ab-1 antikorları (Lab Vision Corp, Neomarkers, CA, ABD) kullanılarak yapıldı.

Apoptotik hücrelerin ve eNOS ile iNOS ekspresyonlarının sayımı, her doku kesiti için x40 büyütmede randomize bir alan seçilerek bu almadaki pozitif boyanma gösteren yapıların sayılması ile gerçekleştirildi.

**İstatistiksel Değerlendirme:** Çalışmaya ait veriler bilgisayar ortamında Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, Chicago, IL, ABD) 13.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Tanımlayıcı yöntemler uygun yerlerde (ortalama±standart deviasyon) karşılaştırmalar için One way ANOVA ve posthoc Tukey testleri eşliğinde değerlendirildi. P değerinin 0.05'den küçük olması tüm testlerde istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

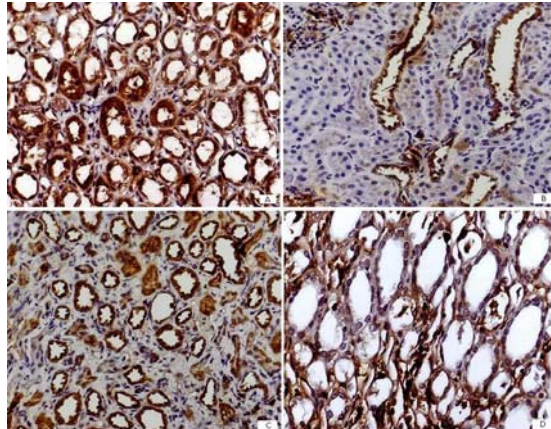
## BULGULAR

Böbrek tübüler apoptotik hücre sayısı, sham grubunda  $4,87 \pm 0,99$  olarak bulunurken Grup 1'deki sıçanlarda  $12,75 \pm 0,88$  olarak bulundu. Kısmi obstrüksiyonun açılmasından 20 dakika sonra öldürülen grup 3'deki sıçanların ise ortalama apoptotik hücre sayısı  $15,75 \pm 0,46$  idi ve bu değer tüm gruplar arasındaki en yüksek apoptozis oranını yansıtmaktaydı (Resim 2) (Tablo 1). Kısmi üreter obstrüksiyonunun açılmasından önce oral tek doz sildenafil sitrat tedavisi uygulanan grup 2'deki sıçanlarda ise tübüler apoptotik hücre sayısının grup 3'e oranla anlamlı derecede azaldığı gözlemlendi ( $p=0.002$ ) (Resim 2) (Tablo 1).

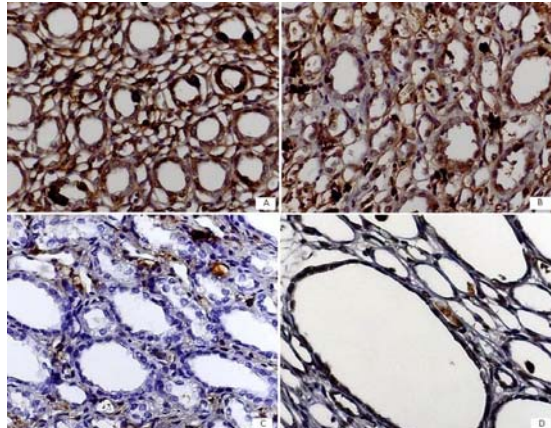
NOS'ların gruplar arasındaki dağılımı da apoptotik hücre sayısının dağılımı ile benzerlik göstermekteydi. Obstrüksiyonun açılmadığı grup 1'deki eNOS (Resim 3) ve iNOS (Resim 4) ekspresyonları sham grubuna göre anlamlı derecede artmış olsa da bu değerler grup 3'te grup 1'e göre daha yüksekti ( $p=0,0001$ ). Grup 2'de ise NOS ekspresyonları Grup 3'e göre anlamlı derecede azalmıştı ( $p=0,009$  ve  $p=0,001$ ) (Tablo 1).

	Grup 1 (PUUO)	Grup 2 (PUUO+Sildenafil)	Grup 3 (PUUO+OA)	Grup 4 (Sham)
<b>Apoptotik hücre*</b>	12,75±0,88	14,12±0,88	15,75±0,46	4,87±0,99
<b>eNOS**</b>	3,12±0,35	4,25±0,70	5,12±0,35	2,37±0,51
<b>iNOS***</b>	2,37±0,51	3,5±0,53	4,62±0,51	1,6±0,51

**PUUO:** Kısmi tek taraflı üreter obstrüksiyonu; **eNOS:** Endotelial nitrik oksit sentetaz; **iNOS:** İndüklenebilen nitrik oksit sentetaz; **OA:** Obstrüksiyonun açılması; \*: Grup 1 ve Grup 2 için  $p=0,011$ , Grup 1 ve Grup 3 için  $p=0,0001$ , Grup 1 ve Grup 4 için  $p=0,001$ , Grup 2 ve Grup 3 için  $p=0,002$ , Grup 2 ve Grup 4 için  $p=0,0001$ ; \*\*: Grup 1 ve Grup 2 için  $p=0,001$ , Grup 1 ve Grup 3 için  $p=0,0001$ , Grup 1 ve Grup 4 için  $p=0,029$ , Grup 2 ve Grup 3 için  $p=0,009$ , Grup 2 ve Grup 4 için  $p=0,0001$ ; \*\*\*: Grup 1 ve Grup 2 için  $p=0,001$ , Grup 1 ve Grup 3 için  $p=0,0001$ , Grup 1 ve Grup 4 için  $p=0,036$ , Grup 2 ve Grup 3 için  $p=0,001$ , Grup 2 ve Grup 4 için  $p=0,0001$



**Resim 2.** Tübüler apoptotik hücre ekspresyonlarının gruplara göre görünümü a) Grup 1, b) Grup 2, c) Grup 3 ve d) Grup 4 (x200)

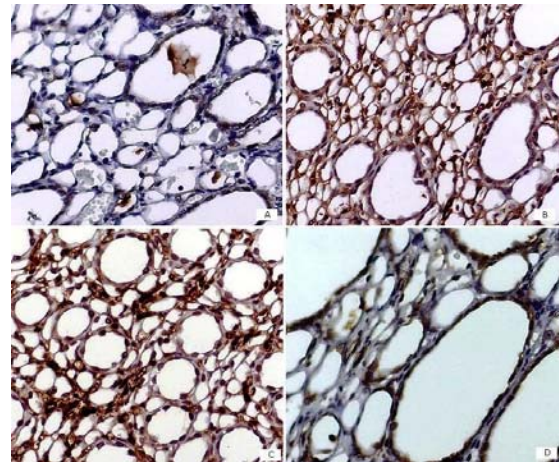


**Resim 3.** Tübüler endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) ekspresyonlarının gruplara göre görünümü a) Grup 1, b) Grup 2, c) Grup 3 ve d) Grup 4 (x200)

## TARTIŞMA

Üreter obstrüksiyonu sırasında gözlenen tübüler hücre ölümünün esas olarak programlı hücre ölümü veya apoptozis yoluyla gerçekleştiği bilin-

mektedir<sup>13</sup>. Hatta in vitro yapılan bazı çalışmalarda mekanik gerilmeye cevaben oluşan tübüler hücre ölümünün oksidatif stres artışıyla bağlantılı olan kaspaz bağımlı apoptozis yoluyla olduğu gösterilmiştir<sup>14,15</sup>. Topçu ve ark, gerek kısmi gerekse tek taraflı tam üreter obstrüksiyonlarında tübüler apoptozisin böbrek tübüler atrofi gelişiminde önemli bir role sahip olduğunu göstererek kalsiyum kanal blokörlerinin apoptotik değişiklikleri düzelttiğini belirtmişlerdir<sup>16,17</sup>.



**Resim 4.** Tübüler indüklenebilen nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonlarının gruplara göre görünümü a) Grup 1, b) Grup 2, c) Grup 3 ve d) Grup 4 (x200)

Kronik üreter obstrüksiyonunun ardından gözlenen tübüler dilatasyon ile tübüler apoptozis arasında anlamlı bir ilişki vardır. Tübüler hücrelerin mekanik olarak gerilmesi apoptozis için ciddi bir uyarandır<sup>18</sup>. Tübüler epitelin mekanik olarak gerilmesi ve deskuamasyonun nedeni obstrüksiyon sırasında üreterde oluşan peristaltik retrograd basınç transferi ve üriner stazdır<sup>19</sup>. İntratübüler basınçta erken dönemde gözlenen artışın nedeni lokal

*SİLDENAFİL SİTRATIN BÖBREK TÜBÜLER APOPTOZİS ÜZERİNE ETKİSİ*  
(*Effect of Sildenafil Citrate on Renal Tubular Apoptosis*)

olarak dokuda artan NO oluşumuna bağlı olarak böbrek perfüzyonu ve filtrasyonunda gözlenen erken artışlardır<sup>9</sup>. NO'nun böbrek hasarı sürecindeki rolü halen tartışmalıdır. Yapılan çalışmalarda NO'nun bu süreçte hem pro-apoptotik hem de anti-apoptotik etkileri gösterilmiştir<sup>20</sup>. Bu yüzden patolojik süreçte NO toksik veya koruyucu bir rol üstlenebilmektedir. Bununla birlikte hasarlanmış tübüler epitelde iNOS ve eNOS ekspresyonlarının arttığı ve böbrek tübüler epitelin mekanik olarak gerilmesiyle NO üretiminin arttığı gösterilmiştir<sup>21,22</sup>. NO, doz bağımlı olarak, afferent arteriyollerini gevşetmekte ve glomerüler filtrasyon hızını arttırmaktadır<sup>23</sup>. Çalışmamızda da yayınlar ile uyumlu olarak PUUO'nun ardından tübüler sistemde eNOS ve iNOS ekspresyonlarında artış gözlenmiştir. Kısmi obstrüksiyonunun açıldığı grupta (grup 3) sadece obstrüksiyon oluşturulan (grup 1) ve obstrüksiyon oluşturularak sildenafil tedavisi uygulanan gruplara (grup 2) göre böbrek tübüllerinde apoptotik hücre sayısının artışına paralel olarak NOS ekspresyonlarında da artış gözlenmiştir. NOS seviyelerindeki artışın dolaylı da olsa NO üretiminde artışa neden olacağı düşünülürse obstrüksiyonun açılması sonrasında artan apoptozis sürecinde NO'nun yayınlarda belirtilen pro-apoptotik etkisinin rol oynadığı söylenebilir.

Kısmi üreter obstrüksiyonu (PUUO), üroloji pratiğinde sık rastlanan bir klinik tablo olmasına karşın deneysel çalışmaların çoğu tam obstrüksiyon modelleri oluşturularak yapılmıştır. Birçok hayvan modelinde kısmi üreter obstrüksiyonu oluşturmak için değişik deneysel modeller kullanılmıştır<sup>24,25</sup>. Bu hayvanlar arasında sıçan, kelesi, tavşan, domuz, köpek, koyun ve maymun sayılabilir. Sıçan ve fare tübüler hücrelerinin mekanik gerilmeye yanıt olarak tıpkı insan böbrek tübüler hücreleri gibi apoptozise uğradığının bilinmesi bu deneysel çalışmada sıçan kullanımının nedenini oluşturmaktadır. Kısmi üreter obstrüksiyonu oluşturma yöntemimiz ise grubumuz tarafından oluşturulan ve önceki çalışmamızda kullandığımız bir deneysel yöntemdir<sup>26</sup>.

Ürolojik cerrahide böbrek obstrüksiyonunun açılması ile böbrek işlevlerinin daha da bozulmasını önlediği düşünülse de obstrüksiyonun açılmasının etkilenen böbrek üzerine olan etkisi net olarak bilinmemektedir<sup>27,28</sup>. Teorik olarak böbrek obstrüksiyonunun açılmasının ardından apoptozi-

se giden süreçte olumlu düzelmeler beklense de, Ogata ve ark., tübülointertisyel fibrozise neden olan büyüme etkenlerinin obstrüksiyonun açılmasının ardından bir aylık bir sürede düştüğünü göstermişlerdir<sup>21</sup>. Bununla beraber serbest oksijen radikallerinin ise obstrüksiyonun açılmasının ardından 8-30. dakikalarda arttığı gösterilmiştir<sup>29</sup>. Bu radikallerin ise tübüler apoptozisi ağırlaştırdığı bilinmektedir<sup>30</sup>. Sinik ve ark, kısmi üreter obstrüksiyonun açılmasından önce uygulanacak allopurinolün antioksidasyon yönünden anlamlı bir etkisinin olduğunu göstermişlerdir<sup>25</sup>. Obstrüksiyonun açılmasının ardından tübüler apoptoziste artış gözlenmesi bizim de çalışmamızın en önemli bulgularındandır.

Sildenafil sitratın, anti apoptotik özelliği değişik dokularda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Das ve ark, sildenafilin yetişkinlerin kardiyak miyozitlerini nekroz ve apoptozisten koruduğunu göstermişlerdir<sup>31</sup>. Rodríguez-Iturbe ve ark ise sıçanlarda böbrek ablasyon modeli oluşturularak gerçekleştirdikleri deneysel çalışmada erken dönemde başlanan sildenafil sitrat tedavisinin böbrek dokusunu apoptozis ve ilerleyici hasardan koruduğunu göstermişlerdir<sup>32</sup>.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, kısmi üreter obstrüksiyonu sonucunda tıpkı tam üreter obstrüksiyonundaki gibi böbrek tübüler apoptozisin gözlenebileceğini göstermiştir. Bunun yanında kısmi üreter obstrüksiyonun düzeltilmesinin ardından yayınlarla uyumlu olarak tübüler apoptoziste artış gözlenmiştir. Tübüler hücre apoptozisi, fibrozis gelişiminden önce gözlenen bir süreçtir ve bu olayın önlenmesi fibrozise gidisi önleyecektir. Bu çalışmada önceden anti apoptotik özelliği gösterilmiş olan sildenafil sitratın önceden etkin olarak bildirilen dozu kullanılmış<sup>31,32</sup> ve sildenafilin PUUO'nun açılmasının ardından gelişecek tübüler apoptozis üzerinde koruyucu bir etkisinin olduğu gözlenmiştir.

### **SONUÇ**

Kısmi üreter obstrüksiyonunda obstrüksiyon açılmadan önce uygulanan tek doz sildenafil sitratın, sıçanlarda obstrüksiyonun açılmasının ardından artacak olan böbrek tübüler apoptoziste koruyucu rol oynadığı gözlenmiştir. Obstrüksiyon sırasında ve sonrasında tübüler hasarın ilerlemesinde etkin rol oynadığı düşünülen NO'nun böbrek do-

kusundaki başlıca yapım kaynakları olan iNOS ve eNOS enzimlerinin ekspresyonları da tek doz sildenafilil sitrat uygulaması ile belirgin olarak azalmıştır.

#### KAYNAKLAR

- 1- **Tuncay ÖL, Sınık Z, Bayramoğlu H, et al:** Nadir Bir Üreteral Obstrüksiyon Sebebi: Prostat Kanserine Sekonder Üreter Metastazı. Türk Üroloji Dergisi: 28: 463-465, 2002.
- 2- **Truong LD, Choi YJ, Tsao CC, et al:** Renal cell apoptosis in chronic obstructive uropathy: The roles of caspases. Kidney Int; 60: 924-934, 2001.
- 3- **Schulsinger DA, Gulmi FA, Chou SY, et al:** Activation of endothelium-derived relaxing factor system in acute unilateral ureteral obstruction. J Urol; 157: 1951-1956, 1997.
- 4- **Morrissey JJ, Ishidoya S, McCracken R, et al:** Nitric oxide generation ameliorates the tubulointerstitial fibrosis of obstructive nephropathy. J Am Soc Nephrol; 7: 2202-2212, 1996.
- 5- **Pagliari P:** Differential biological effects of products of nitric oxide (NO) synthase: It is not enough to say NO. Life Sci; 73: 2137-2149, 2003.
- 6- **Corbin JD, Francis SH:** Pharmacology of phosphodiesterase-5 inhibitors. Int J Clin Pract 56: 453-459, 2002.
- 7- **Carson CC, Lue TF:** Phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. BJU Int; 96: 257-280, 2005.
- 8- **Kukreja RC, Salloum F, Das A, et al:** Pharmacological preconditioning with sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications. Vascul Pharm., 42: 219-23, 2005.
- 9- **Muzaffar S, Shukla N, Srivastava A, et al:** Sildenafil citrate and sildenafil nitrate (NCX 911) are potent inhibitors of superoxide formation and gp91phox expression in porcine pulmonary artery endothelial cells. Br J Pharmacol, 146: 109-117, 2005.
- 10- **Koupparis AJ, Jeremy JY, MuzaVar S, et al:** Sildenafil inhibits the formation of superoxide and the expression of gp47 NAD[P]H oxidase induced by the thromboxane A2 mimetic, U46619, in corpus cavernosal smooth muscle cells. BJU Int, 96: 423-427, 2005.
- 11- **Das A, Xi L, Kukreja RC:** Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. J Biol Chem; 1; 280: 12944-55, 2005.
- 12- **Raja SG, Danton MD, MacArthur KJ, et al:** Treatment of pulmonary arterial hypertension with sildenafil: From pathophysiology to clinical evidence. J Cardiothorac Vasc Anesth; 20: 722-735, 2006.
- 13- **Docherty NG, O'Sullivan OE, Healy DA, et al:** Evidence that inhibition of tubular cell apoptosis protects against renal damage and development of fibrosis following ureteric obstruction. Am J Physiol Renal Physiol 290: 4-13, 2006.
- 14- **Power RE, Doyle BT, Higgins D, et al:** Mechanical deformation induced apoptosis in human proximal renal tubular epithelial cells is caspase dependent. J Urol 171: 457-461, 2004.
- 15- **Ricardo SD, Ding G, Eufemio M, et al:** Antioxidant expression in experimental hydronephrosis: Role of mechanical stretch and growth factors. Am J Physiol Renal Physiol 272: 789-798, 1997.
- 16- **Topcu SO, Celik S, Erturhan S, et al:** Verapamil prevents the apoptotic and hemodynamic changes in response to unilateral ureteral obstruction. Int J Urol, 15: 350-5, 2008.
- 17- **Topcu SO, Erbagci A, Erturhan S, et al:** Verapamil attenuates renal tubular apoptosis in response to partial unilateral ureteral obstruction. Urol Int, 80: 84-9, 2008.
- 18- **Cachat F, Lange-Sperandio B, Chang AY, et al:** Ureteral obstruction in neonatal mice elicits segment-specific tubular cell responses leading to nephron loss. Kidney Int 63: 564-575, 2003.
- 19- **Hsu CH, Kurtz TW, Rosenzweig J, et al:** Intrarenal hemodynamics and ureteral pressure during ureteral obstruction. Invest Urol 14: 442-445, 1977.
- 20- **Dimmeler S, Zeiher AM:** Nitric oxide and apoptosis: Another paradigm for the double-edged role of nitric oxide. Nitric Oxide 1: 275-281, 1997.
- 21- **Manucha W, Oliveros L, Carrizo L, et al:** Losartan modulation on NOS isoforms and COX-2 expression in early renal fibrogenesis in unilateral obstruction. Kidney Int 65: 2091-2107, 2004.
- 22- **Miyajima A, Chen J, Poppas DP, et al:** Role of nitric oxide in renal tubular apoptosis of unilateral ureteral obstruction. Kidney Int: 59: 1290-1303, 2001.
- 23- **Welch WJ, Wilcox CS, Thomson SC:** Nitric oxide and tubuloglomerular feedback. Semin Nephrol 19: 251-262, 1999.
- 24- **Wen JG, Frokiaer J, Jorgensen TM, et al:** Obstructive nephropathy: An update of the experimental research. Urol Res 27: 29-39, 1999.
- 25- **Sınık Z, Turan T, Demir S, et al:** The effect of partial unilateral ureteral obstruction release and allopurinol on the renal malondialdehyde and glutathione levels. Int J Urol, 12: 990-93, 2005.
- 26- **Ayyıldız A, Kaya M, Karagüzel E, et al:** Effect of tadalafil on renal resistivity and pulsatility index in partial ureteral obstruction. Urologia Internationalis, Baskıda.
- 27- **Downey P, Tolley DA, Johnston SR, et al:** Ischemia-reperfusion injury after relief of obstruction: An animal study. J Endourol 15: 209-13, 2001.
- 28- **Ogata Y, Ishidoya S, Fukuzaki A, et al:** Upregulated expression of transforming growth factor-beta, type IV collagen, and plasminogen activator inhibitor-1 mRNA are decreased Exp. Med 197: 159-68, 2002.
- 29- **Young MR, Young IS, Johnston SR, et al:** Lipid peroxidation assessment of free radical production following release of obstructive uropathy. J Urol, 156: 1828-32, 1996.
- 30- **Chevalier RL:** Pathogenesis of renal injury in obstructive uropathy. Curr Opin Pediatr, 18: 153-60, 2006.
- 31- **Das A, Xi L, Kukreja RC:** Phosphodiesterase-inhibitor, sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis: Essential role of NO signaling. J Biol Chem, 280: 12944-12955, 2005.
- 32- **Rodriguez-Iturbe B, Ferrebuz A, Vanegas V, et al:** Early treatment with cGMP phosphodiesterase inhibitor ameliorates progression of renal damage. Kidney Int 68: 2131-2142, 2005.
- 33- **Akgül T, Yağmurdu H, Ayyıldız A, et al:** Testis torsiyonunda fosfodiesteraz 5 inhibitörleri: Deneysel çalışma. Türk Üroloji Dergisi, 34: 37-41, 2008.