

Sıçan Böbrek İskemi Reperfüzyon Modelinde Sildenafil Sitrat Kullanımı Erken Dönemde Doku Hasarını Engellemez

Oğuz Özden Cebeci, Tayyar Alp Özkan

Kocaeli Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, Kocaeli

ÖZ

Amaç: Renal iskemi; transplantasyon, nefron koruyucu cerrahi ya da renal vasküler cerrahi gibi böbrek kan akımının kesildiği durumlarda gözlenmektedir. İskemik dokunun reoksijenizasyonu için yeniden kanlanma gereklidir. Bununla birlikte yeniden kanlanmanın da ek hücrel hasar oluşturduğu bilinmektedir. Sildenafil sitrat ilk bulunan fosfodiesteraz 5 (PDE5) inhibitörüdür. Bu çalışmada; sildenafil sitratın deneysel olarak oluşturulan böbrek iskemi yeniden kanlanma hasarının erken döneminde olası koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: 28 adet Wistar rat 4 gruba ayrıldı (n=7). Cerrahi işlem öncesi malondialdehit (MDA) ve kreatin ölçümü için serum örnekleri alındı. Anestezi uygulaması sonrası ratlara orta hat laparotomi sonrası sağ nefrektomi yapıldı. Sham grubu ratların sol böbrek gerota fasyası açıldı ve ek bir işlem yapılmadı. Sildenafil grubu orogastrik gavaj ile 2.5 mg/kg sildenafil oral olarak verildi. İskemi grubunda sol renal artere mikrovasküler klemp konuldu ve 45 dk.'lık renal iskemi oluşturuldu. Grup 4'deki ratlara (tedavi grubu) orogastrik gavaj ile 2.5 mg/kg sildenafil oral olarak verildi ve sol renal artere mikrovasküler klemp konularak 45 dk.'lık renal iskemi oluşturuldu. Dört saatlik yeniden kanlanma sonrası, tüm ratlardan tekrar serum örnekleri alındı ve ratlar sakrifiye edilerek sol böbrekleri histopatolojik incelemeye alındı.

Bulgular: Gruplar arasında; serum MDA ve serum kreatin ve doku MDA ölçümleri açısından bakıldığında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (p>0.05). Histopatolojik olarak gruplar arasında fark yoktu.

Sonuç: İskemi sonrası doku MDA seviyeleri artmış, iskemi öncesi ve sonrası ölçülen serum MDA seviyelerinde değişiklik olmamıştır. Oral yoldan uygulanan sildenafil sitratın kısa dönem uygulamada doku MDA seviyelerinde azalmaya ve iskemi yeniden kanlanma hasarının engellenmesine etkisi yoktur.

Anahtar kelimeler: böbrek, iskemi-reperfüzyon hasarı, sildenafil sitrat

ABSTRACT

The Sildenafil Citrate Does Not Prevent Tissue Damage On Early Period in Rat Kidney Ischemia Reperfusion Model

Objective: Transplantation, nephron sparing surgery, or renal vascular surgery, where renal blood flow is interrupted called as renal ischemia. Reperfusion is necessary for re-oxygenation of ischemic tissue. However, reperfusion is known to cause additional cellular damage. Sildenafil citrate is the first-found phosphodiesterase type 5 (PDE5) inhibitor. In this study; Sildenafil citrate in the early stages of experimental kidney ischemia-reperfusion injury.

Material and Methods: Twenty-eight Wistar rats were gathered in to 4 groups (n=7) Serum samples were taken from each subject for measurement of Malondialdehyde (MDA) and creatine before transaction. We perform all rats right nephrectomy. In group 1 (sham group) rats was not take sildenafil and was not perform ischemia procedure. In group 2 (sildenafil group;) rats only take orally sildenafil. In group 3 (Ischemia group) micro vascular clamp placed left renal artery for 45 min. There was not take sildenafil. In group 4 (treatment group) micro vascular clamp located left renal artery and rats take orally sildenafil. After 4 hours ischemia time, blood samples were taken to measure serum creatine and MDA. And then all animals were sacrificed.

Results: There was no statistical difference among groups for MDA and creatine levels. Also statistical difference among groups was not detect for histopathological assessment.

Conclusion: Sildenafil citrate claimed that it has positive effect for ischemia reperfusion damage in long term use. In our study, statistically meaning difference is not detected in tissue MDA, serum MDA and creatine levels. Meaning difference among groups is not observed in still histopathological assess. As a result; we think that sildenafil citrate has no therapeutic effect in the early period of renal ischemia reperfusion injury.

Keywords: kidney, ischemia-reperfusion damage, sildenafil citrate

Alındığı Tarih: 15.11.2017

Kabul Tarihi: 11.12.2017

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Oğuz Özden Cebeci, İbni Sina cd. Lojman Sok. Derince - 41100 - Kocaeli - Türkiye
e-posta: oguzozdenecebeci@gmail.com

GİRİŞ

Renal iskemide; transplantasyon, nefron koruyucu cerrahi ya da renal vasküler cerrahi gibi böbrek kan akımının kesildiği durumlarda gözlenmektedir. İskemik dokunun tekrar oksijenizasyonu için yeniden kanlanma gereklidir. Bununla birlikte yeniden kanlanma sırasında oluşan çeşitli faktörlere bağlı olarak hücre hasarı oluşmaktadır. Böbrek iskemide yeniden kanlanma hasarının patofizyolojisinde, tübüler apoptozis gelişimi, serbest oksijen radikalleri formasyonu, mitokondriyal disfonksiyon, inflamatuvar sitokin oluşumu ve nötrofil salınımının neden olduğu bildirilmiştir⁽¹⁻³⁾.

Böbrekte oluşan iskemide yeniden kanlanma hasarını engellemek veya azaltmak amacı ile antioksidan etkinliği olan E vitamini, melatonin, fosfodiesteraz tip 3 enzim inhibitörleri (amrinon, olprinone), adenosin, n-asetil sistein, nitrik oksit (NO), kalsiyum kanal blokerleri, mikofenolat mofetil gibi farklı ajanların kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır⁽⁴⁻⁶⁾.

Fosfodiesteraz enzimi (PDE) 11 alt tipi olan ve siklik guanozin mono fosfatın (cGMP) ve siklik adenosin mono fosfatın (cAMP) çeşitli dokularda yıkımına yol açan bir enzimdir. PDE5 enzimi cGMP'ye spesifiktir. PDE5 inhibisyonu ile hücre içi kalsiyum azalır, vasküler ve visseral düz kaslarda gevşeme oluşumunu sağlar⁽⁷⁾.

Sildenafil sitrat insanda kullanımı onay almış ilk PDE5 inhibitörüdür. Bu çalışmada; sildenafil sitratın deneysel olarak oluşturulan böbrek iskemide reperfüzyon hasarının, erken dönemde endotel hücrelerin üzerinde NO üzerinde oluşturduğu hasarın azaltılması üzerindeki olası koruyucu etkilerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada Guide for the Care and Use of Laboratory Animals prensipleri doğrultusunda hayvan hakları korunmuş ve gerekli etik kurul onayı alınmıştır. Yirmisekiz adet, ağırlıkları 300-380 gr (ortalama 340 gr) arasında değişen yetişkin sağlıklı Wistar sıçan kullanıldı. Anestezi, intramusküler yoldan verilen ketamin HCl (40 mg/kg, Ketalar 50 mg/cc, Parke-Davis) ve Xylazin HCl (10 mg/kg, Rompun, 23-32 mg/cc, Bayer) kombinasyonu ile sağlandı. Operasyon

sahası önce cerrahi sabun sonra %10 Povidon İyot ile temizlendi.

Deney Protokolü

Çalışmaya dahil edilen sıçanlar her bir grupta 7 denek olacak şekilde randomize olarak dört ayrı gruba ayrıldı. Her gruptaki denek için işlem öncesi kuyruk kanından alınan Malondialdehit (MDA) ve kreatinin ölçümü için serum örnekleri alındı. Tüm gruplarda sıçanlara anestezi sonrası, orta hat laparotomi yapılarak sağ böbreğe ulaşıldı, renal arter ve ven 3/0 ipek ile bağlanarak nefrektomi yapıldı. Sol böbreklerde deney protokolüne göre gerekli işlem yapıldı. Takiben sıçanlardan anestezi sonrası 4. saat serum MDA ve kreatinin ölçümleri için venöz kan örnekleri alındı. Sonra yüksek doz intraperitoneal pentotal verilerek ne sakrifiye edildi belirtilmemiş. Sol böbrekleri çıkartılarak bir kısmı ışık mikroskop takibi için %10'luk formaldehit içinde tespit edilerek histolojik inceleme için ayrıldı. Böbrek dokusunun kalan kısmı, soğuk serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra doku MDA tayini için alüminyum folyo kağıda sarılarak çalışma yapılmaya kadar -70°C'de derin dondurucuda saklandı.

Standart deney protokolü uygulanan sıçanlarda Sham (n=7) grubunda sadece sol böbrek gerota fasyası açıldı. Böbrekte başka bir işlem yapılmadı. Sildenafil (n=7) grubunda sol böbrek gerota fasyası açıldı ve 2,5 mg /kg sildenafil sitrat 0,5 ml serum fizyolojik içinde sulandırılarak oragastrik gavaj ile verildi. İskemi (n=7) grubunda sol renal artere mikrovasküler klemp konuldu. Kırkbeş dk'lık iskemide süresinin ardından klemp açılarak 4 saatlik yeniden kanlanma zamanı beklendi. Venöz kan örnekleri yeniden kanlanmanın bitişi ile eş zamanlı olarak alındı. Tedavi (n=7) grubunda iskemide grubu ile aynı teknik kullanılarak sol renal artere mikrovasküler klemp konuldu. Kırkbeş dk'lık iskemide süresinin ardından klemp açılarak 2,5 mg/kg sildenafil 0,5 ml serum fizyolojik içinde sulandırılarak oragastrik gavaj ile verildi. Dört saatlik yeniden kanlanma süresi beklendi. Venöz kan örnekleri yeniden kanlanmanın bitişi ile eş zamanlı olarak alındı.

Malondialdehit Düzeyinin Ölçülmesi

Bu çalışmada MDA düzeyi l.l.S.S-tetraetoksipropan'ın standart olarak kullanıldığı tiyobarbitürik asit (TBA)

testi ile belirlendi. Böbrek dokusunun bir bölümü tartılarak 1:9 (ağırlık: hacim) oranında %1,15 soğuk potasyum klorür ile homojenize edildi ve 0,5 ml homojenat, 3 ml %1'lik fosforik asit ve 1 ml %0,6'lık Tiobarbitürik asit (TBA) solüsyonu ile karıştırıldıktan sonra, 45 dk. kaynar su banyosunda bekletildi. Tüplerle hızlı soğutma işlemi sonrası, 4 ml n-butanol eklendi ve 3500 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek n-butanol fazı ayrıldı. Supernatantın absorbansı spektrofotometrede 535 ve 520 dalga boyunda ölçüldü. Standart olarak 0,5 ml 0,5 nmol 1.1.3.3-tetraetoksipropan numune ile benzer şekilde çalışıldı, iki absorbans değeri arasındaki fark nmol/gr doku biriminde MDA miktarı olarak belirlendi.

Serum Kreatinin Düzeyinin Ölçülmesi

Kreatinin, alkali pikratla reaksiyona girmesi sonucu oluşan Janovski kompleksinin 520 nm'de spektrofotometrik absorbansının ölçümüne dayanan metod kullanılmıştır.

Histopatolojik Değerlendirme

Doku örnekleri %10'luk formaldehit çözeltisinde tesbit edilerek parafin bloklara konuldu ve 5 µm kalınlıkta kesitler alındı. Hemotoksilen-Eosin ile boyandıktan sonra tüm preparatlar ışık mikroskopunda kör olarak incelendi. Akut renal yetmezlikte bulunan değişiklikleri değerlendiren Paller ve arkadaşlarının tanımladığı semikantitatif bir skala ile skorlandı⁽⁸⁾. Bu skorlama sistemine göre her tubülün maksimum skoru tubuler epitelyal hücre düzleşmesi (1 puan), fırçamsı kenar kaybı (1 puan), sitoplazmik vakuolizasyon (1 puan), hücre nekrozu (1 veya 2 puan) ve tubuler lümen obstruksiyonu (1 veya 2 puan) olmak üzere puanlandırıldı.

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 11.5 programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler kan MDA ve kreatinin için ortalama ± standart sapma şeklinde gösterilirken doku MDA, histopatoloji sonuçları ve kan parametrelerindeki değişim ortanca (minimum-maksimum) biçiminde gösterildi. Gruplar arasında doku MDA, yönünden anlamlı bir farkın olup olmadığı tek yönlü varyans analizi ile incelendi. Kan parametrelerinin hem grup içi hem de gruplar arasında karşılaştırılmasında tekrarlı ölçümlü varyans analizi kullanıldı. Gruplar içinde serum kreatinin ve MDA yönünden

anlamlı bir değişimin olup olmadığını incelemek için ise Bonferroni Düzeltmesi yapılarak t testi kullanıldı. Serum MDA ve kreatinin düzeylerinin 4. saatteki ölçümlerinin işlem öncesi döneme göre yüzde olarak ne kadar değiştiği hesaplandı ve yine gruplar arasında karşılaştırma yapıldı. Gruplar arasında histopatoloji skorlarının anlamlılığı Kruskal Wallis testiyle incelendi. Tüm testlerde p<0,05 için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Doku MDA değeri iskemi yeniden kanlanma uygulanmayan sham (83,2 nmol/mg protein) ve sildenafil (96,4 nmol/mg protein) gruplarında, iskemi (124,2 nmol/mg protein) ve tedavi (122,3 nmol/mg protein) gruplarına göre daha düşük saptandı (Tablo 1). Ratlar iskemi yeniden kanlanma uygulanıp uygulanmamasına göre ayrıldığında iskemi yeniden kanlanma yapılan grupta doku MDA değerleri istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek saptandı (p=0,032). Ancak 4 grup arasından yapılan karşılaştırmada gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık izlenmedi (p=0,082). Ortalama serum MDA değeri sham grubu hariç diğer üç grupta da iskemi işlemi öncesi ve sonrası ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı farklı saptandı (Tablo 1). Gruplar arası serum MDA değişimi değerlendirildiğinde sham ve sildenafil grubunda tedavi ve iskemi grubundan daha düşük serum MDA değişimi olduğu bulunmuştur ancak bu değişimin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p=0,117).

Ortalama serum kreatinin değerleri, 4 grupta da uygulanan işlemlerden bağımsız olarak işlem sonrasında işlem öncesine göre istatistiksel olarak daha anlamlı fark saptandı (Tablo 1). Gruplar arası kreatinin değerleri arasında değişimler karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p>0,05).

Histopatolojik değerlendirmede her sıçanın örneklenen böbrek preparatında on farklı sahadan olmak üzere 100 kortikal tubulus değerlendirildi. Örneklerden hesaplanan kortikal tubulus skorlarının ortalaması alınarak her sıçan için ortalama skor parametresi oluşturuldu. Gruplar içerisinde oluşturulan bu değişkenin genel ortalama ve standart sapması hesaplandı. Histopatolojik değerlendirilme yapıldığında tüm gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel fark bulunmadı (veri gösterilmedi).

Tablo 1. Çalışma gruplarında iskemi öncesi ve iskeminin 4. saatinde serum Malondialdehit ve kreatinin seviyesi ile doku malondialdehit seviyeleri.

	Sham	Sildenafil	İskemi	Tedavi	p
Doku MDA (ng/mmol), ortanca (range)	83,2 (52-103,4)	96,4 (52,1-144)	124,2 (69,9-310,7)	122,3 (62,2-311,7)	0,082
İskemi öncesi serum MDA (ng/mmol), ortalama±ss	1,21±0,26	1,44±0,39	1,19±0,34	1,05±0,12	0,117
İskemi 4. saat serum MDA (ng/mmol), ortalama±ss	1,37±0,36	1,70±0,35	1,80±0,40	1,50±0,21	0,100
İskemi öncesi serum Kreatinin (mg/dL), ortalama±ss	36,36±5,19	33,21±4,83	30,05±2,03	32,45±2,21	0,058
İskemi 4. saat serum Kreatinin (mg/dL), ortalama±ss	81,83±7,93	77,53±7,73	71,09±9,15	75,64±15,2	0,308

MDA: Malondialdehit, ss: standart sapma

TARTIŞMA

İskemi ile oksijenasyonu bozulan dokuda hipoksik ortama bağlı olarak enerji üretimi azalmakta, anaerobik solunum ile üretilen atık madde olarak ortaya çıkan laktik asit ile hücre bazda bazı değişiklikler olmaktadır. Enerji döngüsü kısmi olarak devam ettirilerek hücrenin yaşamsal fonksiyonları sürdürmektedir. Ancak dolaşım yeniden sağlandığında, ortama giren oksijenin neden olduğu bir seri olay sonucu doku hasarı artmaktadır⁽⁸⁻¹⁰⁾. Böbrek dokusunda iske mi ve yeniden kanlanma hasarına bağlı olarak ortaya çıkan bu serbest oksijen radikallerinin kaynağı, mitokondrial elektron transport zinciri, araşidonik asit metabolitleri, hücre içi kalsiyum iyon artışı, ksantin oksidaz enzim sistemi ve demir iyonu gibi etkenler oluşturmaktadır. Bunlar birbirini zincirleme şekilde etkileyerek hücre fonksiyonlarını bozmakta, membran hasarı ve hücre içi elektrolit dengesizliği oluşturarak hücre yıkımına neden olmaktadır. Bu sürece bağlı olarak bazı endojen toksinler açığa çıkmaktadır⁽¹¹⁻¹³⁾. İskemi, oksijensizlik ve tekrar oksijenasyona bağlı olarak yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin azalması, hücre içi serbest kalsiyum iyonunu artırmakta ve hücre fonksiyonlarını bozarak hücre zarının parçalanmasına yol açmaktadır. İskemi-yeniden kanlanma hasarının önlenmesinde, hücre içine giren kalsiyumun engellenmesi, giren kalsiyumun bağlanması, serbest oksijen radikallerinin oluşumunun engellenmesi ve blokajı, apoptoziste etkili nörofillerin rolünün engellenmesi ve lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolunun inhibe edilmesi gibi çeşitli yöntemler denenmiştir⁽⁴⁾. Bu amaçla; karnitin, aminoguanidin, kalsiyum kanal blokerleri, immun süpresif ajanlar, PDE3 inhibitörleri, E vitamini gibi pek çok ilaç kullanılmıştır^(5,6,14).

Sildenafil sitrat; iskemi ve reperfüzyon hasarına bağlı olarak hücre için kalsiyum seviyesindeki değişim nedeni ile ortaya çıkan hasarın engellenmesi için etkili

olabilmektedir⁽⁷⁾. Sildenafil sitrat hücre içi cGMP'yi artırıp, hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu azaltarak ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü sağlayan proteazların aktive olmasını engeller. Azalan hücre içi kalsiyum ile proteaz aktivasyonu dolaylı şekilde engellenerek yeniden kanlanma hasarı önlenbilir. Ayrıca iskemi sırasında böbrekte mikrovasküler yatakta artan kalsiyum ile kalsiyum kalmodulin kompleksi aktive olmakta ve damar düz kasında kasılmaya yol açmaktadır. Bu durum vazokonstriksiyon sonucunda hipoksi ve vasküler kaynaklı iskemik hasara yol açar. Hasarlı dokuya polimorf nüveli lökosit adezyonu ve fosfolipaz aktivasyonu ile artan lökotrienler ve trombaksanın neden olduğu vazokonstriksiyon ile mikrovasküler dolaşım bozulmakta ve endotel hasarı meydana gelmektedir. Sildenafil sitrat cGMP'nin GMP'ye yıkılmasına engel olur. Artan cGMP miktarı hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu düşürerek düz kas gevşemesi ve sonuç olarak periferik arter ve venlerde dilatasyon yapmaktadır. Tüm bunlara ek olarak sildenafil sitratın in vivo ortamda NO üzerinden trombosit agregasyon yeteneğini inhibe ettiği de gösterilmiştir⁽¹⁵⁾. NO bilinen en güçlü vasodilatör maddedir ve bu şekilde de vazodilatasyona katkı sağlayabilir.

Yapılan çalışmalarda, koroner arter hastalarında sildenafil sitratın; endoteliumu etkileyerek vazodilatasyon yaptığı ve egzersiz kapasitesini artırdığı ve hayvan çalışmalarında kalp kası hücrelerinde iskemi yeniden kanlanma hasarına karşı koruyucu etki yaptığı gösterilmiştir^(16,17). Sildenafil sitratın bu koruyucu etkisini kalp kası hücrelerinde NO ve NO etkisiyle oluşan cGMP'nin adenosin trifosfata duyarlı potasyum kanallarının açılmasını sağlayarak yaptığı iddia edilmektedir^(18,19). Sildenafil sitratın yine aynı mekanizma ile kalp kasında iskemik ön koşullanma yarattığı ve daha sonra oluşabilecek uzamış iskemik hasarlanma sırasında kardioprotektif etki yaptığı saptanmıştır⁽¹⁷⁾.

Rodriguez ve ark. çalışmalarında sağ böbreğe nefrektomi yapılmış, sol renal arterleri segmental olarak bağlanarak sol böbrekte kısmi ablasyon uyguladıkları ratlarda, sildenafil sitratın böbrek fonksiyonuna ve parankimal hasar üzerine etkilerini incelemiştir. Nefrektomi yapılan ratlarda; sekiz hafta sildenafil sitrat uygulanması sonrası; endojen NO seviyelerinin yükseldiği saptanmıştır. Yazarlar sildenafil sitrat uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında, sildenafil sitrat tedavisi uygulanan ratlarda; serum kreatin seviyelerinin daha düşük olduğunu, hipertansiyon ve proteinürinin daha az görüldüğünü bildirmişlerdir (7).

Zahran ve ark. (20) ise rat böbrek iskemisi yeniden kanlanma hasarı modeli ile iskemisi öncesi oral sildenafil uygulamasının; nrf2, NQO-1, HO-1 gibi antioksidan gen ürünlerinin yeniden düzenlenmesi ve ICAM-1, IL-1 β ve TNF α gibi proinflatuar sitokinlerin salınımının azalmasını sağlamış olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada doku MDA, serum MDA ve kreatinin düzeyleri incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Ancak doku MDA düzeyleri iskemisi yapılmayan gruplarda (sham ve sildenafil) iskemisi oluşturulan gruplara göre istatistiksel anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Buna bağlı olarak iskemisinin doku MDA seviyesinin arttırdığı saptanmıştır. Çalışmamızda sildenafil sitrat kullanımının, erken dönemde iskemisi yeniden kanlanma hasarında ortaya çıkan yüksek doku MDA'ya engel olamadığı gösterilmiştir. Histopatolojik inceleme kriterlerine göre de sildenafil sitratın erken dönemde iskemisi yeniden kanlanma hasarına engel olmadığı saptanmıştır. Sildenafil sitratın oral uygulanması, uygulama süresi ile kan konstantrasyonlarının yeterli seviyelere çıkamamasına bağlı olabilir. Buna dayanarak sildenafil sitratın oral yolla verilmesi sonucu erken dönemde iskemisi yeniden kanlanma hasarını azaltmada etkili olmadığı ortaya konulmuştur.

Çalışmanın kısıtlılıkları, yeterli sayıda hayvan olmaması, iskemisi yeniden kanlanma hasarında rol oynayan diğer faktörlerin çalışmada değerlendirilmemiş olması, sildenafil sitrat uygulamasının oral olarak yapılması, histopatolojik incelemenin sadece ışık mikroskopi ile yapılmış olması ve değerlendirmede kalitatif yöntemin kullanılmasındır.

SONUÇ

İskemisi sonrası doku MDA seviyeleri artarken, iskemisi öncesi ve sonrası ölçülen serum MDA seviyelerinde değişiklik olmamaktadır. Oral yoldan uygulanan sildenafil sitratın, erken dönemde doku MDA seviyelerinin azalmasına ve iskemisi yeniden kanlanma hasarının engellenmesine katkısı yoktur.

KAYNAKLAR

1. Kıymaz N, Yılmaz N, Mumcu C, et al. Protective effect of sildenafil (Viagra) in transient spinal cord ischemia. *Pediatr Neurosurg* 2008;44(1):22-8. <https://doi.org/10.1159/000110658>
2. Kukreja RC, Salloum F, Das A, et al. Pharmacological preconditioning with sildenafil: Basic mechanisms and clinical implications. *Vascul Pharmacol* 2005;42(5-6):219-32. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2005.02.010>
3. Lieberthal W, Koh JS, Levine JS. Necrosis and apoptosis in acute renal failure. *Semin Nephrol* 1998;18(5):505-18.
4. Klausner JM, Paterson IS, Goldman G, et al. Postischemic renal injury is mediated by neutrophils and leukotrienes. *Am J Physiol* 1989;256(5 Pt 2):F794-802. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1989.256.5.F794>
5. Ergun O, Ulman C, Kilicalp AS, Ulman I. Carnitine as a preventive agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Urol Res* 2001;29(3):186-9. <https://doi.org/10.1007/s002400100176>
6. Romero F, Rodriguez-Iturbe B, Parra G, et al. Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats. *Kidney Int* 1999;55(3):945-55. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.055003945.x>
7. Rodriguez-Iturbe B, Ferrebuz A, Vanegas V, et al. Early treatment with cGMP phosphodiesterase inhibitor ameliorates progression of renal damage. *Kidney Int* 2005;68(5):2131-42. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00669.x>
8. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest* 1984;74(4):1156-64. <https://doi.org/10.1172/JCI111524>
9. Bulkley GB. Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer Suppl* 1987;8:66-73.
10. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312(3):159-63. <https://doi.org/10.1056/NEJM198501173120305>
11. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol* 1991;5(6):733-42. <https://doi.org/10.1007/BF00857888>
12. Greene EL, Paller MS. Oxygen free radicals in acute renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1991;17(2):124-32.
13. Baud L, Ardaillou R. Involvement of reactive oxygen species in kidney damage. *Br Med Bull* 1993;49(3):621-9. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072635>
14. Sahna E, Parlakpınar H, Cihan OF, et al. Effects of aminoguanidine against renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2006;24(2):137-41. <https://doi.org/10.1002/cbf.1196>

15. Li Z, Xi X, Gu M, et al. A stimulatory role for cGMP-dependent protein kinase in platelet activation. *Cell* 2003;112(1):77-86.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)01254-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)01254-0)
16. Halcox JP, Nour KR, Zalos G, et al. The effect of sildenafil on human vascular function, platelet activation, and myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2002;40(7):1232-40.
[https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(02\)02139-3](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(02)02139-3)
17. Ockaili R, Salloum F, Hawkins J, Kukreja RC. Sildenafil (Viagra) induces powerful cardioprotective effect via opening of mitochondrial K(ATP) channels in rabbits. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(3):H1263-9.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00324.2002>
18. Kukreja RC, Ockaili R, Salloum F, et al. Cardioprotection with phosphodiesterase-5 inhibition--a novel preconditioning strategy. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36(2):165-73.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2003.11.001>
19. Han J, Kim N, Joo H, et al. ATP-sensitive K(+) channel activation by nitric oxide and protein kinase G in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(4):H1545-54.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01052.2001>
20. Zahran MH, Hussein AM, Barakat N, et al. Sildenafil activates antioxidant and antiapoptotic genes and inhibits proinflammatory cytokine genes in a rat model of renal ischemia/reperfusion injury. *Int Urol Nephrol* 2015;47(11):1907-15.
<https://doi.org/10.1007/s11255-015-1099-5>