



Ürolojide Sık Kullanılan Deney Hayvan Modelleri

Editörler

Doç. Dr. Bilal ERYILDIRIM

Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU





Ürolojide Sık Kullanılan Deney Hayvan Modelleri

Editörler

Doç. Dr. Bilal ERYILDIRIM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı,
Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Üroloji Anabilim Dalı, Androloji Bilim Dalı

TÜD/TÜRK ÜROLOJİ AKADEMİSİ YAYINI NO: 22

© 2020 Türk Üroloji Derneği/ Turkish Association of Urology

Tüm hakları saklıdır.

Ürolojide Sık Kullanılan Deney Hayvan Modelleri

Editörler:

Doç. Dr. Bilal ERYILDIRIM, Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU

ISBN: 978-605-68063-3-9

TÜD/TÜRK ÜROLOJİ AKADEMİSİ YAYINI NO: 22

Yayımcı : Türk Üroloji Derneği/ Turkish Association of Urology
Prof. Nurettin Öktem Sokak, Lale Palas Apt.,
18/2 34382 Şişli - İstanbul

Yayımcı Sertifika No : 48021

Sayfa Tasarımı - Düzenleme : Nobel Tıp Kitabevleri - Hakkı Çakır

E-kitap yayın tarihi : Temmuz 2020 - İstanbul



Türk Üroloji Derneği/ Turkish Association of Urology

Prof. Nurettin Öktem Sok. 18/2 Şişli / İstanbul

Tel/Phone : +90 212 232 46 89

Faks/Fax : +90 212 233 98 04

www.uroturk.org.tr

Sunuş

Değerli Meslektaşlarımız ve Tıpta Uzmanlık Öğrencileri,

Türk Üroloji Derneği eğitim, bilim ve teknoloji politikası çerçevesinde TÜAK tarafından koordine edilen kitap dizisinden “Ürolojide Sık Kullanılan Deney Hayvan Modelleri” kitabı üyelerimiz ve tıpta uzmanlık öğrencilerinin kullanımına sunulmuştur. Tıpta/Ürolojide üretilen bilginin yarılanma süresi beş yıl olup güncel bilginin meslektaşlarımıza ve tıpta uzmanlık öğrencilerine kısa sürede ve evrensel bilgi ışığında ulaştırılması önem kazanmaktadır.

Genel Üroloji’de “Cerrahi Sanatı El Kitabı”, Üroonkoloji’de “Prostat Kanseri Güncelleme” eserlerini de en kısa sürede kullanıma sunacaktır.

“Ürolojide Sık Kullanılan Deney Hayvan Modelleri” kitabı, Doç. Dr. Bilal Eryıldırım ve Prof. Dr. Ateş Kadioğlu editörlüğünde hazırlanmıştır. Yayına katkıda bulunan yazarlara teşekkür ederken kitabın meslektaşlarımıza/tıpta uzmanlık öğrencilerine katkısına olan inancımızın tam olduğunu vurgulamak isteriz.

Yayıncılıkta ilk kitapları/dergileri hazırlamak zor; bu yayınları devam ettirmek ise daha da zordur. TÜAK tarafından başlatılan ve koordine edilen bu yayınların elektronik versiyonları da oluşturulmuş ve kullanıma sunulmuştur. Saygılarımızla.

Dr. Ateş Kadioğlu
Türk Üroloji Akademisi Koordinatörü

Dr. Faruk Yağcı
Türk Üroloji Derneği Başkanı

İçindekiler

KISIM 1

TEMEL BİLGİLER

Kısım Editörü: Mutlu KÜÇÜK

Bölüm 1

Deney Hayvanları Hakkında Genel Bilgiler 3
Mutlu KÜÇÜK, Gül BAKIRER ÖZTÜRK

Bölüm 2

Deney Hayvanlarında Temel Uygulamalar 15
Rivaze KALAYCI

Bölüm 3

Deney Hayvanı Modeli Seçimi 33
Aydın ÇEVİK

Bölüm 4

Deney Hayvanları Tanımı ve Etiği 39
Altan ARMUTAK, Mutlu KÜÇÜK

Bölüm 5

Transgenik Hayvanların Ürolojide Kullanılması 45
Gül BAKIRER ÖZTÜRK

KISIM 2

ÜROONKOLOJİDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Asif YILDIRIM

Bölüm 6

Prostat Kanseri 53
Özgür EFİLOĞLU, Turgay TURAN, Asif YILDIRIM

Bölüm 7

Mesane Kanseri 61
Abubekir BÖYÜK, Selçuk ERDEM, Öner ŞANLI

Bölüm 8

Böbrek Kanseri	69
Serkan AKAN, Ferhat ATEŞ	

Bölüm 9

Testis Kanseri	75
Orhan KOCA, Faruk YENÇİLEK	

KISIM 3

ANDROLOJİDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Selahittin ÇAYAN

Bölüm 10

Testis Torsiyonu (İskemi-reperfüzyon)	81
Murat BOZLU	

Bölüm 11

Varikosel	89
Selahittin ÇAYAN, Mesut TEK	

Bölüm 12

Vazal-Epididimal Obstrüksiyon	95
Fuat KIZILAY, Barış ALTAY	

Bölüm 13

Spinal Kord Yaralanması	101
Serdar TOKSÖZ	

Bölüm 14

Priapizm	115
Serdar TOKSÖZ	

Bölüm 15

Vasküler Erektıl Disfonksiyon	123
Gökhan ÇEVİK, Ekrem GÜNER, Ateş KADIOĞLU	

Bölüm 16

Kavernozal Sinir Yaralanması	127
Ahmet ŞAHAN	

Bölüm 17

Kavernozal Sinir Uyarılması-Eretil Fonksiyon133
Muammer KENDİRCİ

Bölüm 18

Peyronie Hastalığı147
Ahmet GÖKÇE

Bölüm 19

Penis Fraktürü153
Fatih ÖZKAYA, İsa ÖZBEY

Bölüm 20

Diyabetik Eretil Disfonksiyon161
Mustafa Faruk USTA

Bölüm 21

Hipogonadizm ve Kastrasyon167
Utku CAN, Ali Cihangir ÇETİNEL

Bölüm 22

Klitoral Yetmezlik ve Klitoris Uyarılması173
Özgür EFİLOĞLU, Bülent EROL

KISIM 4

İŞLEVSEL ÜROLOJİDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Fatih TARHAN

Bölüm 23

Aşırı Aktif Mesane179
Ramazan UĞUR, Fatih AKKAŞ, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Bölüm 24

Nörojenik Alt Üriner Sistem Disfonksiyonu193
Osman ÖZDEMİR, Mithat EKŞİ, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Bölüm 25

Detrusor Yetersizliği197
Kamil Gökhan ŞEKER, Joshgun HUSEYNOV, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Bölüm 26

Stres Üriner İnkontinans205
Deniz Noyan ÖZLÜ, Emre ŞAM, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Bölüm 27

Ürodinami.211
Yusuf ARIKAN, Yunus ÇOLAKOĞLU, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Bölüm 28

Mesane Ağrısı Sendromu.219
Fatih TARHAN

KISIM 5

ÜRİNER SİSTEM TAŞ HASTALIĞI OLUŞUMU İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Kemal SARICA

Bölüm 29

Kalsiyum Oksalat Taşları233
Ramazan KOCAASLAN

Bölüm 30

Kalsiyum Fosfat Taşları241
Mehmet İlker GÖKÇE

Bölüm 31

Ürik Asit Taşları243
Murat BAĞCIOĞLU

Bölüm 32

Sistin Taşları247
Bilger ERİHAN

Bölüm 33

Enfeksiyon Taşları253
Kaan GÖKÇEN

KISIM 6

**TAŞ HASTALIĞI TEDAVİSİ İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN
DENEY HAYVAN MODELLERİ**

Kısım Editörü: Bilal ERYILDIRIM

Bölüm 34**ESWL**261

Uğur Tolga ŞEN, Eyüp Veli KÜÇÜK

Bölüm 35**URS-RIRS**267

Y. Onur DANACIOĞLU, Gökhan ATIŞ

Bölüm 36**Perkütan Nefrolitotomi**273

Bilal ERYILDIRIM

KISIM 7

**ÜROGENİTAL TRAVMALAR İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN
DENEY HAYVAN MODELLERİ**

Kısım Editörü: Hakan AKDERE

Bölüm 37**Böbrek Travması**281

Gürkan ARIKAN, Hakan AKDERE

Bölüm 38**Üreter Travması**291

Tevfik AKTOZ

Bölüm 39**Mesane Travması**293

Ersan ARDA

Bölüm 40**Üretra Travması**295

Gökhan ÇEVİK, M. Gürkan ARIKAN, Hakan AKDERE

KISIM 8

ÇOCUK ÜROLOJİSİNDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Tayfun OKTAR

Bölüm 41

Augmentasyon301
Orkunt ÖZKAPTAN

Bölüm 42

Üreteral Obstrüksiyon307
Alkan ÇUBUK

Bölüm 43

Hipospadias313
Orhan ZİYLAN, Ünsal ÖZKUVANCI

Bölüm 44

İnmemiş Testis319
Caner EDİZ, Ömer YILMAZ

Bölüm 45

Testis Torsiyonu325
Tayfun OKTAR, M. İrfan DÖNMEZ

KISIM 9

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARI İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Hakkı Mete EK

Bölüm 46

Enfeksiyon Modellerinin Tarihesi331
Hakkı Mete EK, Orhun SİNANOĞLU

Bölüm 47

Kateter Kullanımına Bağlı Asendan Enfeksiyon335
Adem FAZLIOĞLU, Orhun SİNANOĞLU

Bölüm 48

Akut Sistit339
Fatih Osman KURTULUŞ

Bölüm 49

Kronik Sistit345
İnanç YILMAZ	

Bölüm 50

Akut ve Kronik Pyelonefrit349
Oğuzhan PARLAKKILIÇ	

Bölüm 51

Subklinik Pyelonefrit353
Egemen AVCI	

Bölüm 52

Prostatit361
Cengiz ÇANAĞÇI	

KISIM 10

İNFAVEZİKAL OBSTRÜKSİYON İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: M. Önder YAMAN

Bölüm 53

BPH–Mesane Çıkım Obstrüksiyonu373
Muhammet Arif İBİŞ, Önder YAMAN	

Bölüm 54

Üretra Darlığı379
Gökhan FAYDACI	

KISIM 11

TRANSPLANTASYON-OBSTRÜKTİF ÜROPATİ İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: İsmet NANE

Bölüm 55

Renal Transplantasyon385
Nusret Can ÇİLESİZ, Şenol TONYALI	

Bölüm 56

Kronik Böbrek Yetersizliği389
Sanem ÇİMEN, Sertaç ÇİMEN

KISIM 12

**HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ VE YARA İYİLEŞMESİ İLE İLGİLİ
SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ**

Kısım Editörü: İ. Yaşar ÖZGÖK

Bölüm 57

Hiperbarik Oksijen Tedavisi399
Aykut ÇOLAKEROL, M. Kübra ÖZGÖK KANGAL

Bölüm 58

Yara İyileşmesi405
M. Kübra ÖZGÖK KANGAL

Dr. Serkan AKAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Sultan Abdülhamit Han Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Hakan AKDERE

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Fatih AKKAŞ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy
Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Prof. Dr. Tevfik AKTOZ

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Barış ALTAY

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Ersan ARDA

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Dr. Gürkan ARIKAN

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Dr. Yusuf ARIKAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji
Kliniği

Dr. Öğr. Üyesi Altan ARMUTAK

İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa
Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi
ve Deontoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Ferhat ATEŞ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi,
Sultan Abdülhamit Han Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Gökhan ATIŞ

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe
Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Dr. Egemen AVCI

Ataşehir Memorial Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Murat BAĞCIOĞLU

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Gül BAKIRER ÖZTÜRK

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel
Tıp Araştırma Enstitüsü,
Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı

Dr. Abubekir BÖYÜK

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Murat BOZLU

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Utku CAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Cengiz ÇANAĞCI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Prof. Dr. Selahittin ÇAYAN

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Hakkı Mete ÇEK

Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Ali Cihangir ÇETİNEL

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Öğr. Üyesi Aydın ÇEVİK

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı

Dr. Gökhan ÇEVİK

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Nusret Can ÇİLESİZ

Gazi Osman Paşa Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Sanem ÇİMEN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji ve Transplantasyon Kliniği

Doç. Dr. Sertaç ÇİMEN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara Dışkapı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji ve Transplantasyon Kliniği

Dr. Aykut ÇOLAKEROL

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Yunus ÇOLAKOĞLU

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Alkan ÇUBUK

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Y. Onur DANACIOĞLU

Ağrı Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği

M. İrfan DÖNMEZ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Caner EDİZ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sultan Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Özgür EFİLOĞLU

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Mithat EKŞİ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Selçuk ERDEM

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Bilger ERİHAN

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Bülent EROL

İstanbul Medeniyet Üniversitesi,
Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Bilal ERYILDIRIM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi
Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Gökhan FAYDACI

Adapazarı Özel Adatepe Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Prof. Dr. Adem FAZLIOĞLU

Nişantaşı Üniversitesi, Gaziosmanpaşa
Medicalpark Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Ahmet GÖKÇE

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Mehmet İlker GÖKÇE

Ankara Üniversitesi Tıp fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Kaan GÖKÇEN

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Ekrem GÜNER

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Dr. Joshgun HUSEYNOV

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji
Kliniği

Dr. Muhammed Arif İBİŞ

Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Rivaze KALAYCI

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel
Tıp Araştırma Enstitüsü,
Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Muammer KENDİRCİ

İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Fuat KIZILAY

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Orhan KOCA

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Ramazan KOCAASLAN

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Eyüp Veli KÜÇÜK

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Mutlu KÜÇÜK

İstanbul Üniversitesi, Aziz Sançar Deneysel
Tıp Araştırma Enstitüsü,
Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Fatih Osman KURTULUŞ

Nişantaşı Üniversitesi, Kadıköy Mediana
Hastanesi, Üroloji Kliniği

Prof. Dr. İsmet NANE

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Tayfun OKTAR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. İsa ÖZBEY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Osman ÖZDEMİR

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Prof. Dr. İ. Yaşar ÖZGÖK

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. M. Kübra ÖZGÖK KANGAL

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Sualtı Hekimliği ve
Hiperbarik Tıp Anabilim Dalı

Dr. Orkunt ÖZKAPTAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi
Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Dr. Fatih ÖZKAYA

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Ünsal ÖZKUVANCI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bağcılar Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Deniz Noyan ÖZLÜ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Dr. Oğuzhan PARLAKKILIÇ

Nişantaşı Üniversitesi, Kadıköy Medica
Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Ahmet ŞAHAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi
Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Dr. Emre ŞAM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Prof. Dr. Öner ŞANLI

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Kemal SARICA

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Dr. Kamil Gökhan ŞEKER

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Dr. Uğur Tolga ŞEN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ümraniye Eğitim
ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Orhun SİNANOĞLU

Sancaktepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Fatih TARHAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Kartal Dr. Lütfi
Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Mesut TEK

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Dr. Serdar TOKSÖZ

Hatay devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği

Dr. Şenol TONYALI

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Turgay TURAN

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe
Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Dr. Ramazan UĞUR

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Dr. Sadi
Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Üroloji Kliniği

Prof. Dr. Mustafa Faruk USTA

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. M. Önder YAMAN

Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Prof. Dr. Faruk YENÇİLEK

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Prof. Dr. Asif YILDIRIM

İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Göztepe
Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji
Anabilim Dalı

Dr. İnanç YILMAZ

Çorlu Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği

Doç. Dr. Ömer YILMAZ

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Sultan
Abdülhamid Han Eğitim ve Araştırma
Hastanesi, Üroloji Kliniği

Prof. Dr. H. Orhan ZİMLAN

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi,
Üroloji Anabilim Dalı

KISIM 1

TEMEL BİLGİLER

Kısım Editörü: Mutlu KÜÇÜK

Deney Hayvanları Hakkında Genel Bilgiler

1

Mutlu KÜÇÜK, Gül BAKIRER ÖZTÜRK

Biyomedikal araştırmalarda laboratuvar hayvanlarının kullanılması hayvan türlerinin biyolojik özellikleri, bakım ve barındırma şartlarının iyi bilinmesini gerektirir. Hayvan deneylerinde kullanılan hayvan türünün veya belli bir soyun seçiminde, soyun anatomik ve fizyolojik özellikleri iyi bilinmelidir (3,17). Hayvan deneylerinde elde edilen sonuçların, doğruluğu ve geçerliliğinin olması için uygun hayvan modeli seçilmelidir. Araştırma bulgularının insanlara uygulanabilmesi hayvan modeline ve araştırma özelliğine bağlıdır. Model olan hayvan tür ve soylardan elde edilen bulguların insanlara uyarlamasına ilişkin kesin kurallar yoktur. Bu bölümde en sık kullanılan omurgalı hayvanların biyolojik özelliklerinden bahsedilecektir. Rodentler biyomedikal araştırmalarda bütün laboratuvar hayvanları arasında en çok tercih edilen hayvanlardır. Rodentler kullanılan omurgalı hayvanların yaklaşık % 70-85 'ini oluşturur. Genellikle gece aktif hayvanlardır. Çevrelerine kolaylıkla uyum sağlarlar (3).

Biyomedikal araştırmalarda kullanılan en önemli rodent (kemirici) türleri fare, sıçan, kobay, tavşan'dır. Şimdi Deney hayvanların genel özellikleri inceleyelim.

FARE (Mouse)

Farenin Kökeni: Biyomedikal çalışmalarında en çok kullanılan omurgalı türüdür, Farelerde çok sayıda farklı mutasyonların bulunması genetik çalışmalarda çok sık kullanımlarına neden olmuştur. Yaşam sürelerinin kısa olması nedeniyle toksikolojik deneylerde de dahil davranış araştırmaları, embriyoloji, kanser, ilaç, antikor ve aşı araştırmalarında fareler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Laboratuvarda kullanılan fareler, orta asyadan çeşitli araçlarla limanlara gelip oradan gemilerle tüm dünyaya yayılan yabani ev faresinden (mus musculus) türemiştir. 1800-1900'lu yıllarda laboratuvar çalışmalarında kullanılmaya başlamıştır. Ev faresinin inbreed ve outbreed olmak üzere, (yani genetik olarak tanımlanmış) 400' den fazla değişik soyu vardır. Beyaz fare (Mus musculus var albinos) ve siyah fare fare (Mus musculus var nigrus) olmak üzere iki tipi vardır. Bunlardan beyaz tipi fare (Mus musculus var albinos) biyomedikal araştırmalarda yaygın olarak kullanılır (1,2,3,6,10). Sınıflandırma (taxonomy) aşağıdaki gibidir (1)

- **Alem:** Hayvanlar
- **Şube:** Omurgalı

- **Sınıf:** Mammalia
- **Takım:** Rodentia
- **Familya:** Muridae
- **Cins:** Mus
- **Tür:** Mus musculus

Farenin Biyolojisi: Farenin vücudu, uzun ve türe göre farklı renkte tüylerle kaplıdır. Kuyruk, pembe-kırmızı renkte ve vücudun ısı dengesini ayarlama da önemli fonksiyona sahiptir. Fareler diğer birçok kemirgenler gibi gece aktiftirler. Günlük ihtiyaçlarını gece karşılarlar. Bacaklar kısa olup ön ayaklarda 4, arka ayaklarda 5 parmak vardır. Kesici dişler sürekli büyür ve çiğneme sırasında aşınır. Her yarım çenede bir kesici ve üç molar (öğütücü) diş vardır. Canine (köpek) ve premolar dişler yoktur. Yaşadığı sürece kesici dişler uzar fakat kemirme işlevi sayesinde kısa kalır. Dişilerde 5 çift meme başı vardır. Fareler "omnivor" durlar ve kaprofojiktirler (kendi dışkılarını yerler). Bu yolla günlük B grubu vitaminler (özellikle vitamin B12) ve K vitaminleri ihtiyaçlarını karşılarlar. Günlük yem tüketimleri 3-6 g/100 g'dır. Ergin bir fare günde 3-7 ml/100g su tüketir. Erişkin farelerin canlı ağırlığı 20-40g arasında değişir. Dişi farenin ise 25-40g'dır. Ortalama ömürleri 1-3 yıldır. Farelerde metabolizma hızlıdır. Kalp atım sayısı dakikada 300-800, solunum sayısı dakikada 80-230,

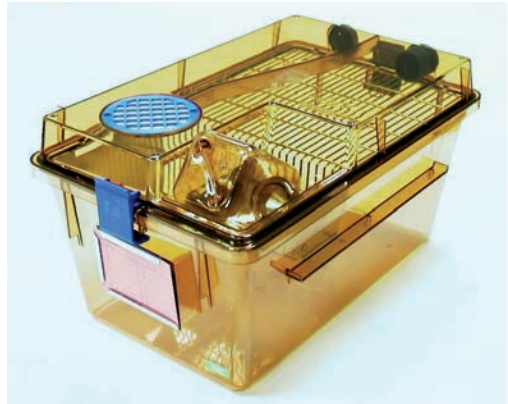
vücut ısı 36.5-38°C, idrar miktarı 0,51-1 ml/gün'dür. Farelerin kan parametreleri: Kan hacmi 76-80 ml/kg, Hemoglobün 10-17 (g/100ml), Hematokrit % 39-49, Lökosit 5-12 (x 100/mm), Glüköz 124-262 (mg/100ml)'dir. Farelerin koku alma, işitme ve dokunma duyarları iyi, görme duyarları az gelişmiştir. Renkleri ayırt edemezler özellikle kırmızı ışığı neredeyse hiç görmezler (1,2, 3,10,17).

Farelerin Barındırılması: Fare barınağı olarak kullanacak odalar ışık ve havalandırma yönünden yeterli olacak şekilde, gürültü yönünden de minimum düzeyde olmalıdır.

Kafesler ve Altlıklar: Kafesler, şeffaf ve sterilize edilebilir sert plastik malzemeden imal edilmiş olmalıdır. Bu amaçla polikarbon gövdeli kafesler kullanılabilir. Plastik kafesler sterilize edilemedikleri için uzun süreli kullanımlara uygun değildir. Kafes kapakları paslanmaz çelik tel örgü olmalıdır (Resim 1,2). Bu tip kafeslerin dışında, patojenlerle bulaşmayı engellemek için dış ortamdan tamamen bağımsız, otomatik olarak havalandırılan kapalı sistem kafeslerde kullanılır. Avrupa Konseyi tarafından 1986 yılında yayımlanan rehber'e göre (86/609 EEC) "Deneyisel Çalışmalarda ve Diğer Bilimsel Amaçlarla Kullanılan Omurgalı Hayvanların Korunması



Resim 1. Konvansiyonel Fare Kafesi



Resim 2. Filtreli Fare Kafesi

Yönergesi" sıçanlar için en düşük kafes boyutları: Kafes alanları, Tek başına barındırılan erişkin için 180 cm², yavrularla birlikte yetiştirilen için 200 cm², grup halinde yetiştirilen için 80 cm²'dir. En düşük kafes yüksekliği 15 cm'dir. Altlıklar farelerin ısı regülasyonu açısından önemlidir. Fareler için altlık olarak çam talaşı ve bazı kafeslerde karton ve pamuk kullanılır. Altlıklarda mikrobiyal veya kimyasal kontaminasyon olmamalıdır. Kafesler haftada iki kez temizlenmelidir. (3,5,10).

Sıcaklık ve Nem: Fareler "homoiotermik" hayvanlardır. Fareler için 20-24 °C'lik ortam sıcaklığı ve optimum nisbi nem ise % 50-60'dır (3).

Işık ve Gürültü: Fareler nokturnal hayvanlardır. Yani gece aktif hayvanlardır. Aydınlik ve karanlık peryodu gündüz 14, gece 10 saat olmalıdır. Bu nedenle doğal gece-gündüz döngüsü bu hayvanların normal fizyolojik davranışları için çok önemlidir. Gündüzleri ise loş yerlerde uyurlar ve dinlenirler. Bütün ihtiyaçlarını gece karşılarlar. Bu nedenle ışığa duyarlı hayvanlardır. Işık yoğunluğu fare barınaklarında 20 lüx'ün altında 30 lüx'ün üzerinde olmamalıdır. Işık yoğunluğunun yüksek olduğu ortamlarda retinal dejenerasyonlar gelişebilir. Özellikle albinolar ve üst rafta olan fareler risk altındadırlar. Farenin aktif ve inaktif dönemlere geçişini kolaylaştırmak amacıyla ışık yoğunluğu kademeli olarak artırılmalı veya azaltılmalıdır. Fareler ani

gürültüye karşı oldukça hassastırlar. Ultrasonik frekanslara akut reaksiyon gösterebilirler. Bu tepki bazı soylarda felçlere kadar ulaşabilir. Ani gürültünün sebep olacağı stresi önlemek için fonda yumuşak radyo sesi tavsiye edilmektedir. Fare odalarında gürültü 50 dB'i geçmemelidir (1,3,10).

Farelerin Üreme Fizyolojisi ve Cinsiyet Ayrımı

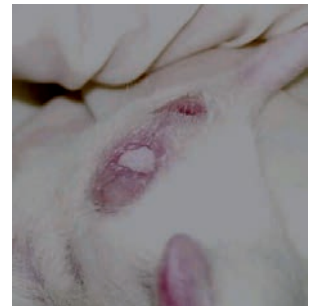
Fareler poliostrik hayvanlardır. Östrus siklusu 4-5 gündür. Dişi farelerin vajinal açıklığı ilk östrus (24-28 gün)'e kadar ince bir zar (vajinal membran) ile kapalıdır. Cinsel olgunluk 7-9 haftada oluşur. Erkeklerde cinsel olgunluk 2 hafta geç oluşur. Optimum çevresel koşullar altında fareler düzenli bir östrus siklusu gösterirler (Resim 3). Farelerde ovulasyon spontan olduğundan östrusla senkronize oluşmayabilir (Resim 4). Bu senkronizasyon düzenli bir fotoperiyotla sağlanabilir. Farelerde doğumdan 14-24 saat sonra post-partum östrus gözlenir, fakat döllülük oranı çok düşüktür. Dişilerde çiftleşme sonrası eklenti bezlerinin salgılarının pıhtılaşmasıyla oluşan bir "çiftleşme tıpası" oluşur ve tıpa çiftleşmeden 24-36 saat sonra atılır. (Resim 5). Tıpanın atılması gebeliğin ilk günü olarak kabul edilir. Gebelik süresi 19-21 gündür. Laktasyon süresi 21-28 gündür. Yavru sayısı 6-12'dir. Yeni doğan yavruların gözleri ve kulakları kapalıdır.



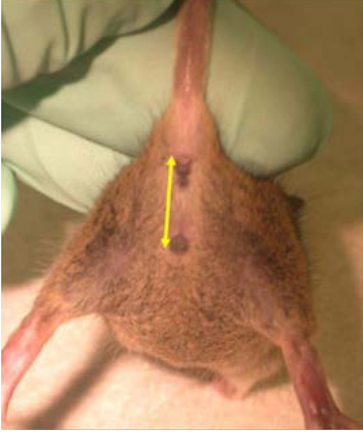
Resim 3. Östrus



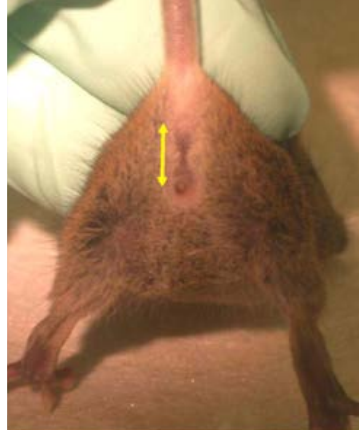
Resim 4. Östrus Olmayan



Resim 5. Çiftleşme Tıpası



Resim 6. Erkek Fare



Resim 7. Dişi Fare

Tüysüz doğarlar. Yeni doğan yavrularda termoregülasyon yetersizdir. Erkek yavruların testisleri karın boşluğundadır. 4-6 haftalık olduğunda skrotuma iner. (1,2,3,6,10,17).

Cinsiyet Ayırımı: Erişkin ve yavru farelerde cinsiyet tayini anüs ve genital bölge arasındaki mesafe karşılaştırılarak saptanır (Resim 6,7,8,9). Dişilerde anüs ile genital organ arasındaki mesafe erkeklerinkine göre daha kısadır (Resim 7). Erkeklerde bu mesafe daha uzundur (Resim 6).

Yine dişi yavru farelerde cinsiyet tayini anüs ile genital bölge arasındaki mesafeye bakılarak tayin edilir. Dişi yavrularda bu mesafe kısa (Resim 9), erkeklerde uzundur (Resim 8). Ayrıca erkeklerde skrotal kesenin varlığı ve genital çıkıntının büyüklüğü cinsiyet ayrımını kolaylaştırır (1,3,10,17).

Farelerde Beslenme: Farelerin beslenmesine özen gösterilmelidir. Çünkü aç ve susuz bırakıldıklarında birbirlerini yerler. Fareler



Resim 8. Erkek Yavru Fare



Resim 9. Dişi Yavru Fare

"omnivor"durlar. Fareler "ad-libitum" beslenirler. Yem genellikle pelet şeklinde "ad-libidum" (yiyebildiği kadar) olarak verilir. Farelerde günlük su tüketimi 3-6 g/100 g'dır. Farelerin günlük su tüketimi 3-7 ml/100 g/dür. Suluklarında devamlı olarak taze su bulundurulmalıdır (1, 3,10,17).

SIÇAN (RAT)

Siçanın Kökeni: Her ortama uyum sağlamaları ve dayanıklılıkları nedeniyle deneyler için uygun hayvan modelidir. Fizyolojik olarak insana benzerlik göstermektedir. Bu nedenle sıçanlar biyomedikal araştırmalarda, temel tıp, ilaç, gıda, kanser, davranış ve toksisite çalışmalarında en çok kullanılan hayvanlardır. Özellikle mikrocerrahi ve transplantasyon çalışmalarında, eğitim amaçlı kullanımlar oldukça artmıştır. Biyomedikal araştırmalarda kullanılan ilk sıçan soyu 1906 yılında Philadelphia'da Wistar Enstitüsünde Wistar albino sıçan olarak geliştirilmiş soydur. Sıçanların deney hayvanı olarak kullanılması ilk defa 19. yüzyılda, Norveç sıçanı veya kahverengi vahşi sıçan (*Rattus norvegicus*) olarak bilinen bir rodentten köken almıştır. Günümüzde kullanılan inbred sıçan soyların büyük bölümü Wistar albino soydan köken almıştır. Laboratuvar sıçanı olarak kullanılan üç önemli sıçan soyu bulunmaktadır (3,7,8, 9,10).

Wistar Albino: Wistar enstitüsünde 1906 yılında geliştirilmiş soydur.

Sprague-Dawley albino: 1925 yılında Wisconsin'de RW. Dawley tarafından ticari olarak geliştirilmiş soydur.

Long-Evans: 1910 yılından itibaren çeşitli Wistar albinolardan yabancı erkek sıçanın melezleşmesiyle elde edilmiştir. Kullanılan inbred soyların çoğu bu Wistar albino sıçan soylarından türetilmiştir.

Genetik olarak tanımlanmış 400'den fazla inbred ve yaklaşık 50 outbred sıçan soyu

bulunmaktadır (3,8,9,10). Sınıflandırma (taxonomy) aşağıdaki gibidir (7).

- **Alem:** Hayvanlar
- **Şube:** Omurgalı
- **Sınıf:** Mammalia
- **Takım:** Rodentia
- **Familya:** Muridae
- **Cins:** Rattus
- **Tür:** *Rattus norvegicus*, *rattus rattus*

Siçanların Biyolojileri: Sıçanlar tüylerinin rengi türlere göre değişmekle birlikte kalın ve uzundur. Vücudundan kısa olan kuyruğu sert pullarla örtülüdür. Kuyruk hem denge hem de termoregülatör görevi görür. Sıçanların dişleri köksüzdür ve yaşam boyu büyür. Ön ayaklar 5 arka ayaklar 4 parmağıdır. Dişilerde genellikle altı çift meme başı bulunur. Ergin sıçanların vücut ağırlığı, erkeklerde 300-500 g, dişilerde 250-300g arasındadır. Yaşam süresi soylar arasında çok farklılık göstermekle birlikte erkeklerde 2-3 yıl, dişilerde 2.5-3,5 yıl kadardır. Birçok özellik bakımından farelere benzer, fakat vücut büyüklüğüyle farelerden ayrılırlar. Farelerden tek farklılığı safra keselerinin olmayışıdır. Sıçanlar omnivordurlar. Selülozun sindirimi çekumda olur ve oluşan B vitaminleri kaprofoji yoluyla sıçan tarafından alınır. Sıçanların metabolizmaları çok hızlıdır. Bu nedenle, kalp atım sayısı dakikada 300-500, solunum sayısı dakikada 70-110, vücut ısı 37.5-38.5°C, idrar miktarı 10-15 ml /gün'dür. Kan parametreleri: Kan hacmi 60 (ml/kg), hemoglobin 14-20 (g/100 ml), hematokrit 36-48 (%), lökosit 6-17 (x1000 mm), glükoz 134-213 (mg /100ml)'dir (3,7,10,17).

Siçanların Barındırılması

Kafesler ve altlık: Fare ve sıçanların barındırılmaları arasında pek çok benzerlikler vardır. Sıçanlar genellikle sert plastik veya paslanmaz çelikten yapılmış, üstü izgaralı kafeslerde barın-

dırılır ve bu erişkin kafeslerin tabanları da plastik veya ızgaralı olabilir.

Sıçan kafesleri de fare kafesleri gibi sterilize edilebilir polikarbondan yapılmış, üstü tel örgülü kafeslerdir. Kafes yapısı ve içeriği hayvanların bütün özelliklerini etkiler. Sıçanların barındırılmasında farelerde olduğu gibi, filtrelili ve bireysel havalandırılan kafesler de (IVC) kullanılabilir. Özel çalışmalarda, hava akımını önlemek veya patojen mikroorganizmalar ile bulaşmayı engellemek için filtrelili kapaklara sahip kafeslerde bulunmaktadır. Avrupa konseyi tarafından 1986 yılında yayımlanan rehberine göre (86/609 EEC yönergesi) Sıçanlar için en düşük kafes boyutları: Kafes alanları, Tek başına barındırılan erişkin 350 (cm²), yavru ile birlikte yetiştirilen için 800 (cm²), grup halinde yetiştirilen için 250 (cm²) olmalıdır. En yüksek kafes yüksekliği ise 18 (cm) olmalıdır. Altlıklar sıçanın ısı regülasyonu bakımından önemlidir. Altlıklarda mikrobiyal ve kimyasal kontaminasyon olmamalıdır. Genel temizlik haftada iki kez yapılmalıdır. Altlık materyali olarak, genellikle farelerde olduğu gibi, kafeslerde idrar, dışkı ve suluklardan sızan suların emilmesini sağlamak ve hayvan yuva materyali olarak çam talaşı, kağıt ve pamuk kullanılmalıdır. (3,5,10,17).

Sıcaklık ve nem: Sıçanlar için, barınma odalarının sıcaklığı 20-24°C'dir. Oda havasındaki nisbi nem % 60 olmalıdır. Sıçanlar % 40-70 nem düzeylerini tolere edebilirler. Rölatif nem oranı uzun bir süre % 45'in altında seyrettiği zaman özellikle genç sıçanlarda 'halkalı kuyruk' (ring-tail) diye tabir edilen, kuyrukta bölgesel boğumların oluşmasıyla karakterize bir durumla karşılaşılabilir (3,4).

Işık ve Gürültü: Sıçanlarda ışık periyodu türden türe değişmekle beraber genel olarak 12 saat aydınlık, 12 karanlık periyodu önerilmektedir. Işık fizyolojik faaliyetlerin düzenlenmesinde önemli bir faktördür. Işık süresindeki değişim ve dalgalanmalar sıçanların östrus siklusunu dolayısıyla

döl verimini önemli ölçüde etkilemektedir. Albino sıçanların günde 16 saatten fazla veya 100 lüksün üzerinde ışık şiddetine maruz kalması retina hasarına hatta körlüğe yol açabilmektedir. Sıçanlar ultrasonik seslere hassastır. Ani olarak gürültüye maruz kaldıklarında, bazı soylarda işitme sinirlerinin aşırı uyarılmasına bağlı olarak sinir krizleri oluşabilir. Oda içindeki gürültü düzeyi 85 dB'in altında olmalıdır. Aşırı ve sürekli gürültü, hayvanların beslenme metabolizma ve davranışlarında bozukluğa yol açar (3,10).

Sıçanlarda Üreme Fizyolojisi ve Cinsiyet Ayrımı

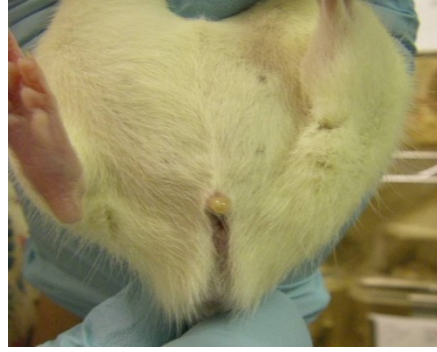
Erkek ve dişiler puberteye 50-60 günlük yaşta girerler. Dişi sıçanlarda da farelerde olduğu gibi vajinal membran bulunur. Bu membran 35-90 günde açılır. Sıçanlar genellikle 65-120 günlükken çiftleştirilirler ve mevsimlere bağımlılık göstermez, yıl boyu çiftleşme isteği gösterirler. Çiftleşmeyi takiben 12-24 saat içerisinde vajinal bir tıkaç meydana gelir. Bu tıkaçın vajnada görülmesi cinsel birleşme zamanı hakkında bilgi verir. Yani hayvan hamile kalmıştır ve hamileliğin birinci günüdür. Östrus siklusu 4-5 gün, östrus süresi 12-24 saattir. Gebelik süresi 21-23 gündür. Bir doğumdaki yavru sayısı 6-12 adettir. Yılda 7-9 kez yavru yapabilir. Dişi sıçanlar vajinal membran açılır açılmaz (65-70 gün) çiftleştirilebilir ancak 90. güne (250-275g) kadar beklenmelidir (3,7,10,17).

Cinsiyet Ayrımı: Yetişkin sıçanların cinsiyet tayini oldukça kolaydır. Anüs ile genital bölge arasındaki mesafeye bakılır. Bu mesafe erkek sıçanda dişinin iki katıdır. Yenidoğanda anüs ile genital bölge arasındaki mesafe erkekte dişinin iki katıdır ve dişinin genital papillası daha büyüktür. Hayvanlar sırtüstü tutulduklarında bir haftalık dişinin meme uçları görülebilir hale gelir. Erkeklerin testisleri üç haftalıkken skrotumda görülür (3,7,8,9,10).

Siçanda Cinsiyet Tayini



Resim 10. Erkek Siçan



Resim 11. Dişi Siçan

Siçan Yavrusunda Cinsiyet Tayini



Resim 12. 1 Günlük Yavrular



Resim 13. 9 Günlük Yavrular

Büyüme ve Gelişme: Siçanlar yavruları doğduğunda 5-6 g civarındadır. Yavrular doğduklarında kırmızı renkli, tüysüz, dişsiz, gözler ve kulak kanalları kapalıdır. Siçanlar bir batında ortalama 10 civarında yavru doğururlar. Ple-santa, ölü ve güçsüz yavrular anne tarafından yenir. Doğumun ikinci gününde yavrular pembeleşir, 4. günde tüyler çıkmaya başlar. 10. günde yavrular tamamen tüylerle kaplanmış olurlar. Gözler ve kulaklar 12-13 günlerde açılır. Yavrular 16. günden sonra yem yemeye başlarlar. Süt emme süreleri 21 gündür. Ortalama süttten kesilme yaşı 21 gündür (3,7,10,17).

Siçanların Beslenmesi

Yemleme ve sulama: Siçanların günlük yem ihtiyaçları pelet şeklinde laboratuvar yemlerinden 12-30 g (100 g canlı ağırlık için 11-12 g) vermekle karşılanabilir. Yem dengeli hazırlanmışsa siçanlar ad libitumda beslenebilir. Çünkü siçanlar obur hayvanlar olmayıp yemin ihtiyaç duydukları kadarını yerler. Yemin kısıtlı verilmesi siçanların büyümesini biraz geciktirse de ömürlerini uzattığı bildirilmektedir. Yemlerdeki besin maddeleri, günlük ihtiyaçlarını karşılayacak miktar ve kalitede ise ilave gıdaya ihtiyaç duymazlar. Siçanların günlük su tüketimi 10-12 ml/100 gr/gün kadardır. Siçanlara genellikle

musluk suya verilir. Fakat gerektiğinde su, HCl ile mikrobiyal ve fungal dezenfeksiyon sağlanabilir. Sıçanlar kaprafojiktirler (kendi dışkılarını yerler). Bu yolla günlük B grubu vitaminler (özellikle Vit B12) ve K vitamini ihtiyaçlarını karşılayabilirler (3,7,8,9,10,17).

KOBAY (Guinea pig)

Kobayların Kökeni: Kobaylar Rodentia takımının Caviidae familyasındandır. Laboratuvar hayvanı olarak kullanılan kobayların (*Cavia porcellus*) anavatanı Güney Amerikadaki And dağları olup kemirgen bir hayvandır. Vahşi kobay (*Cavia cutleri*) kızılдерiler tarafın et ihtiyacını karşılamak için evcilleştirilmiştir. Kobay, Avrupa'ya muhtemelen 16. yüzyılda İspanyollar tarafından getirilmiştir. Kobaylar tüy tipine göre üçe ayrılır. Bunlar 1- Uzun tüylü Peru kobayı (Resim 14), 2- Kaba tüylü Habeşistan kobayı (Resim 15), 3- Kısa tüylü İngiliz Kobayı (Resim 16)'dır. Bunlar arasında sadece kısa tüylü olan kobay biyomedikal çalışmalarda kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvanı olarak kullanılan kobay, tüm laboratuvar hayvanlarını % 2-3'nü oluşturur. Diğer laboratuvar hayvanlarından farklı özelliklere sahip olduğundan özellikle immünoloji, anafatik şok, astım, gecikmiş hipersensitivite, allerjik, ensefalomyelitis hastalıkların araştırmalarında kullanılır. Kobaylar, çoğunlukla serum üretiminde kullanılır. Kobaylar hastalık yapan mikroorganizmalar için ideal bir konaktır. Bu yönüyle tüberküloz ve brusella deneylerinde özellikle

tercih edilir. Kobaylar askorbik asit çalışmalarında insanın vitamin C ihtiyacını yansıttıkları için çok kullanılır. Pek çok çalışmada outbreed soylar kullanılmaktadır. 1926'dan günümüze kadar kullanılan soyların çoğu Dunkin-Hartley soylarından türetilmiştir (3,10,11,12,13).

Sınıflandırma (taxonomi) aşağıdaki gibidir (11).

- **Sınıf** : Mammaliya
- **Takım** : Rodentia
- **Familya** : Caviidae
- **Cins** : *Cavia*
- **Tür** : *Cavia porcellus*

Kobayların Biyolojileri: Kobayların başları büyük, kulaklar ve ayakları küçüktür. Kuyrukları yoktur. Kobayların arka ayaklarında 3, ön ayakların da 4 parmak vardır ve parmaklar pençelidir. Bacaklar kısa olup tıknaz bir vücut yapısına sahiptir. Hem erkekler hem de dişilerde inguinal bölgede bir çift meme başı vardır. Kobaylar tüm kemirgenler gibi kaprofaji özelliğine sahiptirler. Dışkılarını uzanarak direkt olarak anüslerinden yerler. Şişman ve ileri gebe kobaylar ise anüse ulaşamadıklarından dışkılarını zemine düşttükten sonra yerler. Yeni doğan kobaylar annelerinin dışkılarını yerler. Kobaylar da herbivor'durlar. Bitkisel gıdalarla beslenirler. Ergin erkekde canlı vücut ağırlığı 900-1000 gr, dişide canlı vücut ağırlığı 700-900 gr'dır. Kobayların ortalama ömrü 5-6 yıldır. Kalp atım sayısı dakikada 203-380, Solunum sayısı dakikada 42-104'dür. Kan hacmi 69-75 (ml/kg), hemoglobilin 12-



Resim 14. Peru kobayı



Resim 15. Habeşistan kobayı



Resim 16. İngiliz Kobayı

15 (gr/100ml), hematokrit % 38-48, lökosit 7-13 ($\times 1000/\text{mm}^3$), glikoz 60-125 (mg/100ml)'dir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan Dunkin-Hartley soyudur. Kobaylar ısırmaz, kolay tutulabilir, tırmanma ve atlama kabiliyetleri zayıf olduğundan kaçmazlar. Kobaylar kazma eğiliminde hayvanlar değildirler. Fakat saklanma içgüdüleri gelişmiştir. Ani ve aşırı gürültülerde paniğe kapılırlar (3,10,11,12,13,17).

Kobayların Barındırılması: Kobaylar sosyal hayvanlardır, bu nedenle gruplar halinde barındırılır. Deneylerde kobaylar kobay kafeslerinde barındırılmalıdır. Kobay kafesinin tabanı kesinlikle tel altlık şeklinde olmamalı, sert ve düz olmalıdır. Çünkü kobayların çok küçük olan ayaklarına bu tel altlıklara takılarak kemik kırılması problemi yaşayabilirler. Avrupa konseyi tarafından 1986 yılında yayımlanan rehber göre (86/609/EEC) kobay kafesleri alanı: Tek başına barındırılan erişkinler için 600 cm^2 , yavrularla birlikte yetiştirilenler için 1200 cm^2 , grup halinde erişkin yetiştirilenler için 1000 cm^2 , en düşük kafes yüksekliği 18 cm olmalıdır (5,10,11).

Sıcaklık ve Nem: Kobaylar çevre koşullarına özellik nem ve sıcaklığa çok duyarlıdır. Bunun için kobay barınaklarında nem oranı % 50, hava sıcaklığı ise 20-24 °C olmalıdır. Aşırı Sıcaklık (<28°C) sterilite ve dişilerde abortusa neden olur. 18 °C altında yavru ölümü meydana gelir. Kobaylar penceresiz barınaklarda 14 saat karanlık 10 saat aydınlık periyodunda olmalıdır. Gürültü 85 dB geçmemelidir (3,17).

Kobayların Üreme Fizyolojisi ve Cinsiyet Ayırımı: Kobayların erkeklerinde cinsel olgunluk yaşı 8-10 hafta iken, dişilerde 9-10 haftadır. Kobayların mevsime bağlı olmayan sürekli poliostrus özellikleri vardır. Kobaylar yıl boyu poliostrik hayvanlardır. Kobayların östrus siklusu 14-18 saattir. Östrus süresi ortalama 8 saat

olup 1-18 saat arasında değişir. Gebelik süresi 60-70 (ortalama 68) gün arasında değişir. Kobaylar bir defada 1-6 yavru doğurur. Kobay yavruları doğduğunda 70-100 gr ağırlığındadır ve tam gelişmiş olarak doğarlar. Yavruların vücutlarını tümü tüylerle kaplı gözler, kulaklar açık ve doğumdan hemen sonra yürüyebilirler. Doğumdan birkaç saat sonra yavru kobay katı besinler yiyebilirler. Doğduğunda annesini kaybetse bile yaşamlarını sürdürebilir (3,10,11,12,13).

Kobayların Cinsiyet Ayırımı: Bu konuda tecrübeli olmayan için zordur. Çünkü dış genital organların görünümü her iki cinsiyette de aynıdır. Tek ayırt edici yapı dişilerdeki vajinal kapama membranıdır. Bu membran, erginlerde bile östrus ve doğum dışında kapalıdır. Cinsiyet tayini için; genital açıklığın hemen önünden karın bölgelerine hafif bir basınç uygulanır. Bu hafif basınçla, erkekler penislerini çıkarır (10,12).

Kobayların Beslenmesi: Kobaylar geniş bir çekum ve kolona sahip, herbivor hayvanlar olup bitkisel besinlerle beslenirler. Kobaylar genellikle acı, tuzlu, tatlı ve sentetik besinleri yemezler. Yem ve su kısıtlaması kobaylar için zararlı olabilir. Dolayısıyla yem ve su kısıtlamasını gerektiren çalışmalarda bu göz önünde bulundurulmalıdır. Kobaylar günde 6 gr/100gr/gün kadar yem tüketir. Günlük su tüketimi 100 gr canlı ağırlık için 10 ml'dir.

Kobaylar standart özellikte, pelet yemlerle "ad-libitum" (yemliklerde devamlı yem bulunacak şekilde) beslenir ve suluklarında devamlı su bulundurulmalıdır. Kobaylar sadece standart yemlerle besleniyorlarsa günlük C vitamini ihtiyaçları mutlaka karşılanmalıdır. Çünkü kobaylar C vitamini sentezlemezler. Kobayların vitamin C kaynağı olarak yemlerine ilave havuç, marul, lahana gibi sebzeler verilmelidir (3,10,11,12,13).

TAVŞAN (RABBIT)

Tavşanın Kökeni: Tavşanlar üst çenelerindeki kesici dişlerin 2 çift olması nedeniyle rodentlerden ayrılır. Tavşan Lagomorpha (çift dişliler) takımı Leporidae (tavşangiller) familyasından bir hayvandır. Bu Familya içinde yabani tavşan ve evcil tavşan en önemli türleridir (3,10,14). Sınıflandırma (taxonomy) aşağıdaki gibidir (14).

- **Şube:** Omurgalı
- **Sınıf:** Mammalia
- **Takım:** Lagomorpha
- **Familya:** Leporidae
- **Cins:** Lepus, Oryctolagus, Sylvilagus
- **Tür:** Lepus europaeus, Oryctolagus cuniculus

Avrupa vahşi tavşanının, anayurdunun, İber yarımadası olduğu ve buradan da tüm akdeniz ülkelerine yayıldığı düşünülmektedir. Kürk tipine, rengine ve vücut ağırlığına göre ayırt edilen pek çok tavşan soyu vardır. Laboratuvar hayvanı olarak vücut ağırlığı 2 kg'dan az olan Alman soyu ve vücut ağırlığı 2-5 kg arasında olan Beyaz Yeni Zelanda soyu tercih edilmektedir. Çok az sayıda inbreed tavşan soyu vardır. Biyomedikal araştırmalarda kullanılan tavşan sayısı fare ve sıçana kıyasla oldukça düşüktür. Tavşanlar,



Resim 17. Tavşan

biyomedikal araştırmalarda kullanılan, hayvanların yaklaşık % 2'sini oluşturur.

Tavşanlar arterosklerozis, glokom, kardiyomyopati, hipertansiyon araştırmalarında ve antiserum üretiminde tercih edilen hayvan modelidir. Ayrıca teratolojik, immunolojik, yaşlanma araştırmaları, rutin toksikolojik ve pyrojenite testlerinde tavşanlar sıklıkla kullanılır (3,10,14,15,17).

Tavşanların Biyolojileri: Tavşanların kulakları uzun, baş kısa ve yuvarlak, çene ve diş yapısı kemirgenlerden farklıdır. Kesici dişler çok iyi gelişmiş olup, üst kesici dişlerin arkasında bir çift kesici diş daha bulunur. Köpek dişleri yoktur. Azı dişleri köksüzdür. Üst dudak yarıktır. İşitme ve koku alma duyası iyi gelişmiştir. Geniş bir çekuma sahiptir. Tavşanlar herbivordur ve yumuşak olan gece dışkısı, sert olan gündüz dışkısı olmak üzere iki tip dışkı üretirler Tavşanlarda kaprafoji fizyolojik bir durum olup, bu yolla K ve B grubu vitamin ihtiyaçlarının büyük bir kısmını karşılarlar. Tavşanlar vücut ağırlığına göre sınıflandırılır; erişkin canlı ağırlığı 5 kg'dan fazla olanlar iri ırklar, 2 ile 5 kg arasındakiler orta boy ırklar, 2 kg'dan az olanlara ise küçük vücutlu ırklar olarak tanımlanır. Laboratuvar tavşanlarının bir çoğu orta boy tavşan ırklarına dahildir. Tavşanların erişkin ağırlığı erkeklerde 2-5 kg, dişilerde 2-6 kg'dır. Yaşam süresi 5-6 yıldır. Kalp atım sayısı dakikada 130-325, solunum sayısı dakikada 30-60'dır. Tavşanların kan parametreleri: kan hacmi 60 (ml/kg), hemoglobin 10-16 (g/100 ml), hematokrit % 36-48, lökosit 5-11 ($\times 1000/\text{mm}^3$), glukoz 78-155 (mg/100ml)'dir (3,10,14,15).

Tavşanların Barındırılması: Eskiden tavşanların barındırılması için tabanı tel örgülü, paslanmaz çelikten yapılmış kafes kullanılırdı. Şimdi ise, plastikden yapılmış tabanı delikli sterilize edilebilir plastik kafeslerde veya büyük yer ka-

feslerinde gruplar halinde barındırılmaktadır. Kafeslerin, yavru tavşanların tel zeminine bakacaklarını sıkıştırmayacak şekilde yapılmalıdır. Bu kafeste altlık kullanılmaz. Avrupa konseyinin tarafından 1968 tarihinde yayımlanan rehberine göre, en düşük kafes alanı: tek başına barındırılan, 3 kg erişkin için 2500 cm², 4 kg erişkin için 3000 cm², 5 kg erişkin için 3600 cm², yavru ile birlikte yetiştirilenler 1 kg için 3000 cm² 3 kg için 4000 cm², 5 kg için 5000 cm², en düşük kafes yüksekliği 1-2 kg için 30 cm, 3 kg için 35 cm, 4-5 kg için 40 cm olmalıdır (3,4,16,17).

Sıcaklık ve nem: Tavşanlar için ideal barınak sıcaklığı 15-21 °C'dir. 6-26 °C tavşanlar için yaşam aralığı olup, kritik sıcaklık sınırı -7 °C'nin altı ile +26 °C'nin üstüdür. 30 °C derecenin üzerindeki sıcaklıklarda tavşanın üreme fonksiyonlarında bozulmalar ve ölümler olabilir. Tavşanlarda nem oranı % 50-60 arasındadır (3,10,14).

Işık ve Gürültü: Işığın tavşanların döl verimi ve büyümeleri üzerine önemli etkileri vardır. Işık periyodu 12 saat karanlık, 12 saat aydınlıktır. Tavşanlar gürültüye karşı çok az duyarlıdır ve ani hareketlere karşı hassastırlar (3,10,15).

Tavşanların Üreme Fizyolojisi ve Cinsiyet Ayırımı: Erişkin bir dişinin üretiminde kullanma yaşı küçük ağırlıklı ırklarda 4-5 ay, orta ağırlıklı ırklarda 5-6 ay, büyük ağırlıklı ırklarda 8-10 aydır. İlk östrus 3. ayda görülür. Tavşanların üretimde kullanıma süresi 2 yıldır. Erkeklerde ilk üretimde kullanım yaşı 24-40, dişilerde 20-36 haftadır. Tavşanlarda düzenli bir östrus periyodu yoktur. Dişiler her 5-6 günde bir erkeği kabul edilebilir. Östrus belirtileri; vulvanın şişmesi ve kızarması hayvanın huzursuz ve saldırgan olması, ısırma eğilimi göstermesi, daha hareketli olması, altlığı eşelemesi ve kafesleri tırmalaması gibi belirti ve davranışlardır. Tavşanlar doğum hazırlığı davranışı olarak karın altındaki tüyleri

yolarak hem meme uçlarının ortaya çıkması hem de yavruları için yuva hazırlarlar. Yavrular tüysüz doğarlar ve üç hafta yuvada kalırlar. Bu süreden önce yuvadan çıkan yavruları anne tekrar kabul etmez. Gebelik süreleri 30 gün olup ırklara göre değişmekle birlikte ortalama 4-10 adet yavru doğururlar. Doğumdan sonra dişi tekrar üretime alınabilir. Tavşanlarda ortalama yavruları 30-100 gram doğarlar. Sütten kesilme süresi 35-56 gündür. Dişi tavşan yavrularında 6-10 adet meme başı bulunmaktadır. Tavşanlarda gebe kalması istenilen dişi tavşan erkek tavşanın kafesine konur ve çiftleşme gözlenir. Çiftleşme olduktan sonra dişi erkeğin kafesinden alınır (3,10,14,15,17).

Tavşanlarda Cinsiyet Ayırımı: Tavşanlarda üreme organlarının muayenesi ile cinsiyet ayırımı yapılabilir. Bunun için genital organa hafifçe basınç uygulanır, erkeklerde penis dışarı çıkar, dişilerde ise vulva dudakları belirginleşir. Ayrıca yetişkin erkeklerde skortumların görülmesi de cinsiyeti belirler (3,10,17).

Tavşanların Beslenmesi: Tavşanlar genellikle bitkisel yem yerler. Tavşanlar kaprafojik hayvanlardır ve kendi dışkılarını yerler. Yedikleri dışkı henüz anüsünden yeni çıkmış genellikle sabah dışkılarıdır. Tavşan dışkısı amino asitler, B grubu vitaminler ve K grubu vitaminler bakımından zengindir. Kaprofoji 3-4 haftalık yaştan itibaren görülür. Tavşan yavruları 4 haftalık olunca annelerinin yemlerine her yavru için 20 gr yem ilave edilmelidir.

Tavşanlar pelet yemlerle beslenirler. Fakat tavşanlar otçul hayvanlar olduklarından yemlerdeki selülozun miktarı ve kalitesi önemlidir. İlave selüloz kaynağı çeşitli sebzeler (havuç, lahana) kurutulmuş otlarda kullanılmaktadır. Tavşanlar "ad-libitum" beslenirler. Tavşanlarda günlük su tüketimi 6 ml/100 g kadardır (3,10,14,15,17).

Kaynaklar

1. https://lvma.org/Main/For_Pet_Owners/Public_Interest/Educational_Material/Biology_of_the_Mouse/LVMA/For_Pet_Owners/Educational_Material/Biology_of_the_Mouse.aspx?hkey=bf40b458-e1fb-414b-88a9-48fe34d49a37
2. Fox JG, Cohen BJ, Loew FM. Laboratory Animal Medicine. Academic Press Inc. London, 1984.
3. İde T, (çeviri ed). Laboratuvar hayvanlarının biyolojisi, Yetiştirme ve Barındırılması. Laboratuvar hayvanları biliminin temel ilkeleri. (van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC, eds). Principles of Laboratory Animal Science.) Özkan Matbaacılık, Ankara, 2003.
4. Oğur R, Tekbaş ÖF. Laboratuvar hayvanları el kitabı. Hipokrat Medikal Yayın Dağıtım, Ankara, 2001.
5. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, I. Klinik ve Deneysel Araştırma Kongresi ve Kurs Kitapçığı, Kayseri, 1998.
6. Cook MJ. The anatomy of the laboratory mouse. New York: Academic Press Inc., 1965.
7. https://lvma.org/LVMA/For_Pet_Owners/Educational_Material/Biology_of_the_Rat.aspx
8. Baker HJ, Lindsey RJ, Weisbroth SH, eds. The laboratory rat. Vol.1-2. New York: Academic Press Inc., 1979
9. Wayfort, H.B., 1980 Experimental and surgical technique in the rats: Canadian Council Animal Care: Guide to the care and use of Experimental Animals. Volume 2,1-31,1984
10. Onur M.A. Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü: Deneysel Hayvanlar Ders Föyü BİO 334
11. https://lvma.org/Main/For_Pet_Owners/Public_Interest/Educational_Material/Biology_of_the_Guinea_Pig/LVMA/For_Pet_Owners/Educational_Material/Biology_of_the_Guinea_Pig.aspx?hkey=c399938a-0808-4ee0-bf20-6910ed8c0353
12. Pond WG, Houpt KA. The biology of the guinea pig Ithaca: Cornell University Press, 1978.
13. Wagner JE, Manning FJ, eds. The biology of the guinea pig. New York: Academic Press Inc., 1976.
14. https://lvma.org/Main/For_Pet_Owners/Public_Interest/Educational_Material/Biology_of_the_Rabbit/LVMA/For_Pet_Owners/Educational_Material/Biology_of_the_Rabbit.aspx?hkey=84321125-7487-4f10-8bfa-ed12712f44aa
15. Harkness JE, Wagner JE. The biology and medicine of rabbits and rodents. Willimans & Wilkins, Baltimore, 1995.
16. Başaran A, (ed). Deneysel hayvanlar ve laboratuvar teknikleri. Nisan Kitabevi, Eskişehir, 2003.
17. Cantürk, N.Z., Sayek, İ. Cerrahi Araştırma. Deneysel Hayvanlarının Biyolojik ve Fizyolojik özellikleri. Nobel Tıp Kitapevleri, 2005, Ankara.

Deney Hayvanlarında Temel Uygulamalar

2

Rivaze KALAYCI

Bu bölümde, bilimsel araştırmalarda kullanılan deney hayvanlarından erişkin fare (mouse), sıçan (rat), kobay (guinea pig) ve tavşan (rabbit) türleriyle yapılan deneysel çalışmalarda kullanılan temel uygulamalar hakkında bilgi verilecektir. Sırasıyla tutma, tanımlama, madde verme ve kan alma yöntemleri tartışılacaktır.

TUTMA

Deney hayvanlarının doğru teknikle tutulmaları, deney sonucunun olumlu etkilenmesi açısından önemlidir. Tutma sırasında oluşabilecek akut stres veya hayvana verilebilecek en ufak zarar, deney sonucunu doğrudan etkileyebilir. Araştırmacılar hayvanlara dokunmadan veya onları tutmadan önce zihinsel olarak hazırlanmalıdır. Hayvanla temasa geçerken, hayvan ve kendi güvenliğini göz önünde bulundurarak, doğru uygulayabileceği yöntemi seçmelidir. Hayvan oyalanmadan, olabildiğince erken tutulmalı ve kısıtlanmalıdır; cesur ama temkinli bir yaklaşım gösterilmelidir. Hayvanlara yapılacak temel işlemlerin çoğu hayvanlar uyanikken uygulandığından, oluşacak stres ve ağrı yanıtlarındaki değişikliklerin en aza indirilmesine çalışılmalıdır. Hayvanın kendi ortamında, uy-

gun tek bir tutma yönteminin çok sayıda uygulanmasıyla, araştırmacıya ve tutma yöntemine alışması sağlanabilir. Hayvanın uyanık olduğu durumda yapılacak kan alma ve/veya madde verme tekniği belirlendikten sonra, yapılacak içe en uygun tutma yöntemi, hep aynı kişilerce (bir veya iki kişi), birkaç gün gerçekleştirilerek hayvan alıştıırılabilir (1,2). Deney hayvanlarını tutma ve fiziksel kısıtlama eylemleri mutlaka eldiven giyilerek yapılmalıdır.

Fareyi Tutma

Kafesteki erişkin fare, kapak açılır açılmaz kuyruğun ortaya yakın bir bölgesinden yakalanır. Pürüzlü, sert bir zemine veya kafesin kapağına yerleştirilen hayvan yüzeye tutunur ve ileriye doğru meyleder. Bu durumda iken araştırmacı diğer elinin başparmak ve işaret parmağıyla gevşek boyun ve sırt derisini kavrayacak şekilde hayvanı sıkıca tutmalıdır (şekil 1). Deri düzgün bir şekilde tutulduğunda, farenin başı hareketsiz hale gelir; dönüp ısırılmaz. Fare bu pozisyonda kaldırılırken, kuyruğun aynı elin serçe parmağı ile yüzük parmağı arasına alınmasıyla diğer el, intraperitonel (i.p.) enjeksiyon için serbest kalır (1).



Şekil 1. Farenin tutulması



Şekil 2. Fare uyanık şekilde kısıtlayıcı içinde

Bir fare, kuyruğunun ucundan asla kavranmaz çünkü bu, kuyruk deri kaybına neden olabilir. Doğumdan sonraki ilk birkaç gün anne ve yeni doğanların tutma dahil, gereksiz manipülasyonundan kaçınılmalıdır. Neonatal fareler ise (2 haftadan daha küçük) kuyruktan tutarak değil, boyun ve omuzlardaki gevşek deriyi başparmak ve işaret parmağıyla kavrayarak alınır (3). Fare soyları, mizaç bakımından farklıdır; bazı soylar çok sakin ve nadiren ısırma veya kaçmaya çalışırken (BALB /c), diğer soylar sinirli olabilir, zıplayabilir (C57BL/6). Farelerle çalışmak her zaman hızlı, sessiz ve nazik bir şekilde yapılmalıdır. Kuyruk damar enjeksiyonları, kan basıncı ölçümleri veya ışınlama gibi prosedürlerde fareyi kısıtlamak için ticari olarak temin edilebilen özel plastik (Şekil 2) veya metal kısıtlayıcılar kullanılabilir (3,4,5).

Şıçanı Tutma

4-5 haftalık şıçanlar, fareler gibi kuyruklarından yakalanıp kafeslerinden çıkarılabilir. Daha büyük şıçanlarda kuyruk derisinin kolayca sıyrılabileceği ve hayvanın dönüp ısırma olasılığından dolayı kuyruk ucundan tutup almak uygun değildir. Araştırmacı, baş ve işaret parmakları ile hayvanın ön bacaklarının hemen

altından, göğüs kafesini nazikçe ama hafif bastırıp kavrayarak hayvanı kafesten alabilir (1,6). Aynı pozisyonda şıçanı kısıtlamak mümkündür, bu pozisyon i.p. enjeksiyon için de uygundur (Şekil 3).

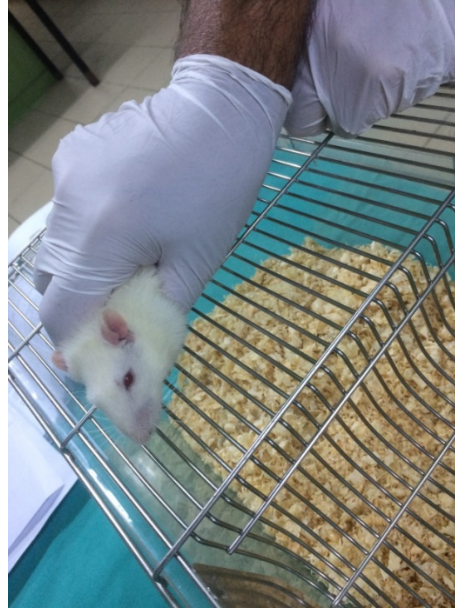
Diğer yandan, özellikle agresif hayvanlarda, kuyruğu gövdeye yakın kısmından kavrayarak kafesten almak uygun olacaktır. Kafesten çıkarılan şıçan hemen pürüzlü, sert bir zemine veya kafesin kapağına konarak göğüs kafesinden kavranır (Şekil 4). Araştırmacı, baş ve işaret parmaklarını hemen, boynun esnek derisini sıkıca kavramak üzere başa doğru kaydırırken diğer parmaklarla sırt derisini kavramalıdır (1,5,6).

Diğer bir tutma şekli ise, Camilla'nın Metodu'dur. Bu metotta kafesinden çıkarılan şıçan, bir örtü veya havlu üzerine konur, baş ve göğüs bölgesi örtülür ve nazikçe fakat sıkı şekilde şıçanın örtülü bölümüne basılarak hareketsiz kılınır. Açıkta kalan kas, deri ve kuyruk bölgesi manipülasyonlar için hazırdır. Hayvanı alırken, örtü veya havluya geçirdiği tırnaklarına zarar vermemek için dikkat etmek, nazik bir şekilde almak gerekmektedir (2,5).

Şıçanlar da bazı uygulamalar için, farelerde olduğu gibi özel kısıtlayıcılara konabilir.



Şekil 3. Sıçanın i.p. enjeksiyon için kısıtlanması



Şekil 4. Sıçanın kafes kapağında tutulması

Kobayı Tutma

Kobaylar normalde uysaldır ve çok nadiren ısırlırlar. Genç kobaylar iki el arasında tutulabilir. Erişkin kobaylar kafesten her iki elle ve yavaşça alınmalıdır. Bir el boyun bölgesinden kavarken, diğer el arkaya doğru desteklemelidir. Kalçalarından destek vermek, erişkin ve gebe hayvanlar için özellikle önemlidir ve güvenlik hissi de sağlayacaktır (7,8) (Şekil 5).

Diğer bir yöntemde, bir el göğüsten kavarken diğer elle arka iki bacak tutulup, kobay

yavaşça uzatılmış bir pozisyonda tutulur. Kobayı toraks veya karın çevresinden sıkıca kavramak, nefes almayı engelleyebilir; akciğerlere, diyaframa veya karaciğere zarar verebilir (5). Bütün deney hayvanlarının tutulmasında sıkma derecesi, burun ve ağız mukozasının rengi izlenerek ayarlanabilir. Kısıtlama için, kobayın boyun ve sırtının el ayası ile hafifçe bastırılması ve hayvanın ön ayaklarını tutmak için de parmakların kullanılması yeterli olacaktır (1,5) (Şekil 6).



Şekil 5. Kobayın boyun ve arka destekle alınması



Şekil 6. Kobayın kısıtlanması



Şekil 7. Tavşanın tutulması



Şekil 8. Tavşan kısıtlayıcıda

Tavşanı Tutma

Tavşanlar, bireysel olarak insanları sesleriyle tanıyabilir. Bilinmeyen sesler veya kokularla korkutulmazsa, sakindir ve tanıdığı biri tarafından istikrarlı bir şekilde tutulduğunda nadiren agresiftir (9). Kafesteki tavşan bir elle boynu ve omuzları üzerindeki gevşek deri tutularak ve hafifçe bir tarafa döndürülerek, yavaşça öne doğru çekilir ve çıkarılır. Diğer el kalça etrafına yerleştirilerek tavşanın arka kısmı desteklenir. Bu teknik, güçlü arka bacaklarıyla yapacağı atma hareketini engelleyerek, torakolomber omurganın aşırı uzamasından dolayı oluşabilecek bel hasarını (genellikle L7-S1 bağlantısı) engelleyecektir. Çok kısa mesafede bu pozisyonda (Şekil 7) veya kucakta bir top gibi taşınabilir (1, 9,10).

Tavşanın kulakları hassas ve kulak kıkırdığı kolay bir şekilde zarar görebileceği için asla kulaklarından tutarak kafesten çıkarılmamalı ve taşınmamalıdır. Doğru şekilde tutulan tav-

şan, kendini güvende hissedecek ve mücadele etmeyecektir. Eğer hayvan mücadele ediyorsa, kayıp düşmeyeceği bir zemine konmalı veya araştırmacı kendi vücuduna iyice yaklaştırmak hareketini kısıtlamalıdır. Kaymayan zemine konan tavşan yine de serbest bırakılmamalı, bir elle omuzları üstüne hafifçe basılarak desteklenmelidir. Sakinleştikten sonra yeniden tutulabilecektir (1,9).

Tavşanın uygulamalar için kısıtlanmasında bir havluya veya örtüye sarılması (kundaçlama), fermuarlı bir çantaya konulması veya özel bir kısıtlayıcı kullanılması seçeneklerdendir (1,9,10) (Şekil 8). Hayvanın kısıtlanmasında önemli olan, tavşanın sırt hareketini ve buna bağlı yaralanmaları en aza indirecek şekilde onu hareketsiz bırakmaktır. Kontamine bir kısıtlayıcının saçkıran ve kürk akarları gibi birçok hastalığı bulaştırabileceği düşünülerek, kısıtlayıcının kullanıldıktan sonra dezenfekte edildiğinden emin olunmalıdır.

Tavşanı kafese geri koyarken de önce arka ayaklarının kafesin tabanına ve bedeninin kafese yaslanması sağlandıktan sonra, ön ayakları kafesin tabanına indirilmelidir. Tavşanı kafese koyarken ters koymamızın nedeni, tavşanın kafese yüzü dönükken, kafese atlayıp kendini yaralayabilme ihtimalidir (9).

TANIMLAMA

Çalışmalarda bazen grup karşılaştırması bazen de aynı hayvanın öncesi-sonrası karşılaştırması değerlendirilmektedir. Grup karşılaştırılması ile sonuçlar değerlendirilecekse, kafesler etiketlenerek gruplar belirlenir; hayvanları ayrıca tanımlamaya gerek kalmaz. Aynı hayvanın öncesi-sonrası şeklinde değerlendirme yapılacaksa, kafesleri etiketlemeye ek olarak her hayvanı da tanımlamak gerekir. Bunun için çalışmanın süresine bağlı olarak kalıcı (uzun süreli) ve geçici tanımlama yöntemleri kullanmak gerekir (1,3).

Kalıcı tanımlama için dövme (kuyruk, ayak parmağı veya kulak), kulakları etiketleme (küpe takılması, dövme yapılması, kulağa makasla çentik atılması veya kesilmesi) ve mikroçip gibi yöntemler kullanılır. Hayvanın deri altına veya karın boşluğuna mikroçip yerleştirerek uygulanacak işaretleme güvenli ve uzun ömürlüdür fakat taşınabilir-programlanabilir bilgisayar tarayıcısı gerektirdiği için pahalı bir yoldur ve yeni doğanlar için uygun olmayabilir (1,3,5).

Geçici tanımlama yöntemleri, kuyruğun aseptat kalem ile işaretlenmesi veya hayvanın tüylerinin zararsız bir boyayla boyanması şeklinde uygulanabilir. Aseptat kaleminin ucunun kalın olması, tek seferde işaretlemeyi kolaylaştırır ve anesteziye uygulanacak bu yöntemde hayvanın kısıtlanma süresini en aza indirir. Aseptat kalem ile yapılan işaretler birkaç günde bir tekrarlanarak, tanımlamaya devam edilebilir (3,4). Tüylerinin boyanması şeklinde kullanılacak tanımlamada ise genellikle sırt bölgesinde farklı şekiller oluşturularak boyama yapılır ve 6 haftaya kadar geçici

olarak kullanılır. % 80-90 etanolde doymuş pikrik asit (sarı), % 3-5 aldehit, bazik-fuksin (kırmızı), % 3-5 jansiyen moru, % 3-5 tripan mavisi ve metilen mavisi kullanılabilen boyalardandır (1).

MADDE VERME

Deney hayvanlarında kullandığımız madde verme yolları temel olarak transdermal, enteral ve parenteral yollardır. Maddelerin hayvanlara verilmesine yönelik çalışmaya başlamadan önce, karar verilmesi gereken sayısız özel durum vardır. Verilecek maddenin absorpsiyonu, dağılımı, metabolizması, terapötik veya kimyasal ajanların atılımı gibi faktörler; verilecek yol, hacim ve uygulama sıklığı; uygulama süresi; uygulanacak olan maddenin pH'sı, stabilitesi, homojenliği ve ozmolalitesi; katı veya partikül halde uygulanamayan maddelerin verilmesi için yol veya çözücü seçimi; madde parenteral olarak uygulanacaksa sterilite ile ilgili hususlar dahil olmak üzere solüsyon hazırlığı; olası uygulama yolları için gerekli olan aparatlar, hayvanı kısıtlama gereksinimi ve uygulanabilirliği bunlar arasındadır (11). Deneyin amaçlarına bağlı olarak, gün içindeki madde verme zamanlaması, hayvanın metabolik aktivitesine göre (nokturnal hayvanlar gece aktiftir) dikkatle düşünülmelidir. Verilecek maddenin farklı yollarla farklı etkisi olacağından hareketle, maddenin hangi etkisi için uygulanacağına karar verilmelidir: lokal, enteral veya parenteral etki.

Transdermal

Transdermal uygulamada, aynı hayvan üzerinde farklı deri bölgeleri arasında veya farklı hayvanların aynı deri bölgeleri arasında madde geçirgenliği açısından büyük farklılıklar vardır. Hayvanın yalama ve sürtünmesinden dolayı maddeler deriden çıkabilir. Ayrıca, madde cilt veya mukozalarından tahriş ederse, hayvanın rahatsızlığına neden olabilir (1,5). Transdermal uygulama öncesi hayvanın tüylerinin uzaklaştırılması gereke-

bilir. Bunun için koparma, mekanik yöntemler ve kimyasal yöntemler kullanılabilir. Tüylerin baş, işaret ve orta parmak ile tutularak koparılması tavşanın kulak tüylerinin uzaklaştırılması için uygundur. Mekanik yöntemde jilet, elektrikli tıraş bıçağı veya hayvan için özel makaslar kullanılabilir. Kimyasal yöntemde ise tüy dökücü krem kullanılır. Krem, tüylerin makasla kısaltılması sonrası uygulanır. Bu yöntem genellikle steril operasyonlarda, lokal deri iritasyon çalışmalarında, bir hayvanın yerel kan dolaşımını gözlemlemede kullanılır (1).

Enteral

Deney hayvanlarına enteral uygulama yemine veya suyuna madde eklenmesi, özafagus aracılığıyla mideye ağız veya burundan bir tüple solüsyon halinde maddenin gönderilmesi (gavaj) şeklindedir. Nazofarinjeal gavaj nadiren kullanılır, genel olarak oral gavaj kullanılır ve kısaca gavaj olarak tanımlanır (1,5,11).

Oral yol ekonomik, kullanışlı, nispeten güvenlidir ve çoğu hayvan, verilen bileşiğe bağlı

olarak, kısa sürede uyum sağlar (11). Ancak bazı hayvanların, nadir de olsa, rutini dışında eklenmiş madde içeren yemi yemediği veya suyu içmediği görülebilmektedir. Maddelerin rutin olarak hayvanların suyuna veya yemine eklenmesi, büyük gruplara uygulama kolaylığı sağlar. Bu yöntem her bir hayvanın, her gün, beklenen yem ve su miktarını tüketmesine dayanır. Oysa, hazırlanan içerikteki yiyeceğin veya suyun hayvanlara hitap etmemesi, tanıdık olmaması veya hayvanın iştahının azalması durumunda bu beklenti karşılanamaz. Maddeyi vermeye başlamadan önce ve çalışma boyunca hayvanların vücut ağırlıklarının takip edilmesi önemlidir (1). Bir maddenin su içinde verilmesi için o maddenin suda tamamen çözünmesi, en az günlük olarak oda sıcaklığında bozulmaması, ışıktan etkileniyorsa su şişesinin koyu renk (kahverengi veya alüminyum folyo ile kaplı) olması gerekir. Belli zaman aralıklarında (genelde 24 saat) hangi miktarda yem ve su tüketildiğinin bilinmesi gereken durumlarda, metabolik kafesler kullanılır (Şekil 9a ve 9b). Hayvan, bireysel olarak bu kafeste barındırılır; tükettiği yem ve su mik-



Şekil 9a. Siçan için metabolik kafesler



Şekil 9b. Siçan için metabolik kafes

Tablo 1. Deney hayvanlarının yaklaşık yem tüketim miktarları (gr/gün)

Tür	Gelişimde	Erişkin	Gebe	Laktasyonda
Fare	3–5	5–7	6–8	7–15
Sıçan	8–25	25–30	25–35	35–65
Kobay	35–45	45–70	70–80	100–130
Tavşan	120–200	200–300	300–350	300–400

tarının ölçülmesine ek olarak çıkardığı idrar ve gaita da toplanabilir.

Hayvanın yemine karıştırılacak madde, yem hazırlanırken homojen karışım sağlanabilmesi için toz veya öğütülebilir katı madde olmalı; kemirgenler için hazırlanan yemler yüksek basınç altında hazırlandığı için bu basınçlara dayanıklı olmalı ve oda sıcaklığında kısa sürede bozulmamalıdır. Hazırlanacak yem veya su miktarı maddenin bozulma özelliği, verilecek hayvan sayısı ve gün sayısı göz önünde bulundurularak hesaplanmalıdır. Hayvanların ilk gelişim, erişkin, gebe ve laktasyon dönemlerinde tükettikleri yem miktarları farklıdır (12) (Tablo 1). Ayrıca araştırmacı yem hazırlatırken, kemirgenlerin yeminin yaklaşık yarı miktarının da yeme sırasında kafese döküldüğünü hatırlamalıdır.

Yeme madde eklerken, hayvanın enerji ihtiyacına bağlı olarak ad libitum beslendiği unutulmadan, kıyaslanacak bütün grupların yemlerinin aynı kaloride olması gerektiği hatırlanmalıdır. Örneğin yeme yağ eklemek, diyetin metabolize edilebilir enerji içeriğinde artışa yol açacaktır (kontrol diyeti olan standart içerikli yeme kıyasla). Hayvanlar enerji ihtiyacına göre yedikleri için, yağlı yemden yiyeceği miktar (gram olarak), kontrol yeminden daha az olacaktır. Bu durumda da deney sonunda elde edilen farklılıkların tek başına yağ ilavesinin sonucu olup olmadığını belirlemek mümkün olmayacaktır. Yağ ilavesi etkisinin daha geçerli bir yorumunu yapmak için, izokalorik değişim yapılmalıdır. Diyete belirli bir miktarda yağ ilave edilmesi halinde, yağın enerji miktarına denk gelen uygun miktarda karbonhidrat yemden

çıkarılmalıdır. Doğru şekilde hesaplanarak yaptırılan yemden, hayvanlar aynı miktarda yiyeceğinden, gerçekleşen farklılıklar ilave yağla bağlanabilir (13).

Gavaj farmasötik maddeler, besin maddeleri, radyoaktif izotoplar veya immün baskılayıcıların verilmesi gibi, dozun bilinmesi gereken durumlarda kullanılmaktadır (13).

Gavaj, teknik beceri ve güven gerektirir. Araştırmacı, teknikle ilişkili olumsuz olayları en aza indirmek ve uygulamanın doğru, hızlı ve insani olarak yapılmasını sağlamak için deneye başlamadan önce eğitim ve pratiğe sahip olmalıdır (5,11).

Uygulama protokolü, mide konumuna uygun gavaj tüpü boyu ve çapının belirlenmesiyle başlar. Her tür ve yaş grubu için gavaj tüpü boyu ve çapı farklıdır. Dik tutulan bir deney hayvanında gavaj için kullanılacak tüpün boyu, yaklaşık olarak ağızdan sternumun sonuna kadar olan mesafedir (5). Polietilen gavaj tüplerinde ölçülen mesafe asetat kalemi ile işaretlenerek, hayvanın ağızından sokulacak mesafe belirlenmiş olur. Çelik gavaj tüplerinde ise yine aynı şekilde uygun boy bulunur ve bu boydaki tüp satın alınıp kullanılır. Daha sonra, hayvan elle tutulup, özellikle tüpün trekeaya girme riskini azaltmak için baş yukarı-arkaya doğru yönlendirilerek kısıtlandıktan sonra (veya bir yardımcı tutma işini yaparken), gavaj tüpünün ön ucu hayvanın ağızına sokulup, damak çatısı boyunca ilerlenir. Gavaj tüpünün ön ucu boğaza girdiğinde, direnç olacaktır. Tüpü zorla ittirmeyip, yavaşça sokulmalıdır. Özofagusu dirençsiz girildikten sonra, gavaj tüpü gerektiği kadar ilerletilir ve verilecek



Şekil 10a. Sıçana çelik tüple gavaj



Şekil 10b. Sıçana polietilen tüple gavaj

madde çözeltisi, tüpün diğer ucuna takılı enjektörden yavaşça enjekte edilir (Şekil 10a). Madde verildikten sonra, gavaj tüpü yine yavaşça çıkarılır. Deney hayvanına özel üretilmiş çelik gavaj tüpünün ucundaki yuvarlaklık, tüpün trakeaya girmemesini sağlar (1,3,5).

Polietilen gavaj tüpü kullanılacaksa, kemirme ve ısırma ortadan kaldırmak, alt-üst çene yi birbirinden ayırmak ve dili öne alarak boğazı kapamamak için ayrıca bir ağız tıkaçı kullanmak gerekir (Şekil 10b).

Gavaj tüpünün uzunluğuna bağlı olarak, ölü hava boşluğunun ihmal edilemeyecek bir hacmi olduğu unutulmamalıdır. Gavaj tüpü tamamen maddeyle doldurulduktan sonra, verilecek miktar enjektöre çekilmelidir.

Kobayın yumuşak damağı (palatal ostium), küçük bir açıklıkla devam eder. Bu, bir gavaj tüpünün geçişini zorlaştırabilir. Gavaj tüpü düzgün bir şekilde yerleştirildikten sonra madde, kobayın yutmasına izin verilerek yavaşça verilir (8).

Tavşanlarda lastik mide tüpleri, ağız tıkaçları ve enjektöre ihtiyaç vardır. Gavaj tüpü önceden

tuzlu suya batırılırsa, gavaj tüpü özafagusa kolayca girecek ve zarar da vermeyecektir. Gavaj tüpündeki ölü boşluk önemli bir hacimdir, bazen verilmesi gereken hacimden daha fazla olabilir. Eğer verilecek maddenin gerektiğinden fazla hazırlanması istenmiyorsa, tüpün içindeki ölü hacmi serum fizyolojik ile doldurmak önerilir (1).

Gavaj tüplerinin boyu kadar türe özgü uygun çapta olmaları da önemlidir. Fareler için 0.8 mm, sıçanlar için 1-2 mm, kobaylar için 1.5-2 mm ve tavşanlar için 3-5 mm gavaj tüpü çapları uygundur. Tek seferde her türe verilecek gavaj hacimleri, hayvanın yaşına dolayısıyla büyüklüğüne bağlı değişmekle beraber, ortalama olarak fare için 0.25 ml, sıçan için 1 ml, kobay için 1 ml ve tavşan için 7.55 ml kabul edilebilir (1,5). Bununla birlikte deney hayvanlarına yapılacak gavaj hacmi mümkün olduğunca az olmalıdır. Özellikle nokturnal hayvanlara sabah yapılacak gavajda midelerinin dolu olduğu, gece aç bırakılsalar bile tamamen boş bir mide sağlanamayacağı unutulmamalıdır. Büyük hacimlerde madde verilmesi, kemirgenler gibi kusamayan türlerde

mide gerilmesine bağlı olarak strese, reflüye veya trakeaya akarak akut pnömoniye neden olabilir (11). Yüksek viskoziteli ve yağlı maddeler, aspirasyon riski ve daha uzun süre kısıtlama stresinden dolayı, uygulama kolaylığı açısından mümkün olduğu kadar seyreltilmelidir.

Parenteral

En sık kullanılan parenteral uygulama yolları deri içine madde enjekte etmek için intrakutan (i.c.) veya intradermal (i.d.); nispeten yavaş bir şekilde emilen deri altı (subkutan, sc); daha hızlı emilim avantajına sahip olmasına rağmen ağrıya neden olabilen intramüsküler (i.m.); karın içine (i.p.) ve maddelerin verilmesinde en hızlı ve en kesin metot olarak venlere (intravenöz, i.v.) enjeksiyondur (1,2,14). Bunlar dışında kullanılan enjeksiyon yolları da vardır fakat bunlar çalışmaya bağlı özel uygulamalardır.

Enjeksiyonda steril, uygun çapta iğne kullanılmalı; enjeksiyon hacmi türe ve enjeksiyon yerine uygun seçilmeli; hava kabarcıklarından kaçınılmalı; enjeksiyon maddesinin vücut veya

oda sıcaklığında olmasına, pH'sına, viskozitesine ve verilme hızına dikkat edilmelidir. Her zaman uygun olan en küçük iğne kullanılmalıdır. Büyük çaplı iğnelerin kullanılması sadece viskoz maddelerin geçişini kolaylaştırmak, kan veya hücreleri verirken hücre hasarından kaçınmak için olmalıdır. İ.v. enjeksiyonlardan hemen sonra iğne dışarı çekilip, kanamayı durdurmak için enjeksiyon bölgesine güçlü bir şekilde pamuk veya steril gazlı bezle bastırılmalıdır (1,5).

Intravenöz Enjeksiyonlar

Fare ve sıçanda kuyruk venlerine i.v. enjeksiyon için hayvanlar, sadece kuyrukları dışarıda kalacak şekilde kısıtlayıcıya konur, anestezi gerektirmez. Kısıtlayıcıya yüz üstü konan fare ve sıçanın kuyruğunun sırt yönünde görülen dorsal ven, 90° sağ ve solunda lateral venler vardır. Kuyruğu ısı lambası, ısı yastığı veya ılık su ile ısıtmak; 90° çevirip kısıtlayıcının baskı yapması; alkollü pamuk ile iyice silmek venin vazodilasyonuna neden olur. Kuyruk elle sabit tutularak, yaklaşık 30°'lik bir açı ile vene girilir (Şekil 11, 12); mad-



Şekil 11. Farede kuyruk venine i.v. enjeksiyon



Şekil 12. Sıçanda kuyruk venine i.v. enjeksiyon

de yavaşça enjekte edilir. İğne damar içine doğru oturmuşsa, madde geçerken damar kırmızı rengini kaybedecektir. İğne damarın dışında ise, lokal şişlik olacaktır (1,3,5).

Sıçanda i.v. enjeksiyon için lateral safen venler, dorsal metatarsal venler ve penis veni de kullanılabilir. Lateral safen venlerin görünür hale gelmesi için, arka bacak yan tarafları tüylerinden temizlenmelidir. Hayvanın örtü veya havlu ile kısıtlanması tercih edilir. Metatarsal damarlara (ayaklarının altında, oldukça görünür) enjeksiyonda, sıçanın enjeksiyon sonrası konacağı kafesin temizliğine büyük özen gösterilmelidir; hayvanın çıktılarının yaşam alanını kirlettiği ve bunun enjeksiyon yerinde enfeksiyona sebep olabileceği unutulmamalıdır. Penis vene yapılacak enjeksiyon, anestezi gerektirir. Penis elle çıkarılır, sol elin işaret parmağı ile başparmağı arasında sıkıştırılır ve çok küçük bir açıyla, neredeyse damara paralel olacak şekilde damara girilir. Doğru girildiğinde madde verilmesiyle damar kırmızı rengini kaybeder, yanlış girildiğinde ise madde verilmesiyle damarın dışında şişlik oluşur (5). Ayrıca sıçanda sık i.v. enjeksiyonlar veya enjeksiyon sonrası kan almaları gerektiğinde, kalıcı bir juguler ven kateterinin implantasyonu önerilir. Bu yöntem, serbestçe

hareket eden hayvanlarda stres içermeyen i.v. enjeksiyonunun yapılmasına izin verir (6).

Intravenöz enjeksiyon kobayda zor olabilir fakat kulak damarları, yine de en uygun olanlardır. Kulak önce traş edilmeli, uygun bir antiseptik ile temizlenmeli ve ısıtılarak vazodilatasyon sağlandıktan sonra enjeksiyon, eğitilmiş bir kişi tarafından çok yavaş yapılmalıdır (8). Bunun dışında lateral pedal venleri, dorsal metatarsal venleri ve penis veni (anestezi gerekli) i.v. enjeksiyon için kullanılabilir (5).

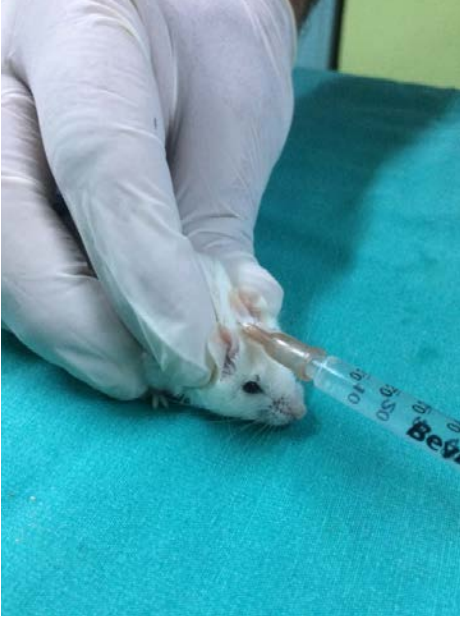
Tavşanda i.v. enjeksiyon için, kulağının dışyan bölgesinden geçen lateral (marginal) kulak venleri en kolay erişilebilenlerdir. Tavşanın bir kısıtlayıcıya konmasından sonra, enjeksiyon bölgesi tüyleri yolunarak temizlenir. Alkol ile dezenfeksiyondan sonra, iğne kulağa kan damarları yönünde yerleştirilir (Şekil 13) ve madde yavaş yavaş enjekte edilir. Tekrarlanacak enjeksiyonlar ve infüzyonlar için kelebek iğne veya kateter yerleştirilebilir (1,5,9).

Subkutan Enjeksiyonlar

Deney hayvanlarında sıklıkla kullanılan s.c. enjeksiyon bölgeleri ense ve sırt derisinin altıdır. İğnenin deriyi deldiğini doğrulamak için iğne



Şekil 13. Tavşanın lateral kulak venine enjeksiyon



Şekil 14a. Farede ense derisi altına enjeksiyon



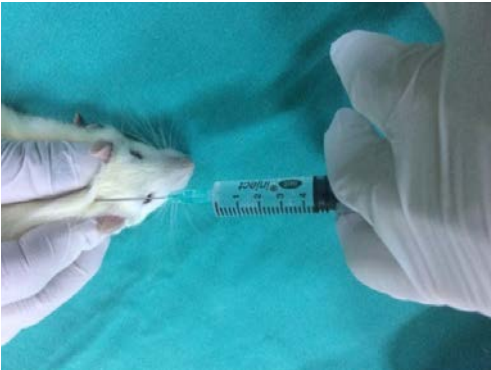
Şekil 14b. Farede sırt derisi altına enjeksiyon

çevrilir, deri delinmişse kolayca dönecektir, madde enjekte edilir. Enjeksiyondan sonra, iğne yavaşça çekilir ve enjeksiyon bölgesinden sıvı sızmasını önlemek için parmak ile enjeksiyon bölgesine bastırılır (1).

Farede s.c. enjeksiyonda, kısıtlama kolaylığı ve araştırmacının tek başına yapabilmesinden dolayı ense derisinin altı tercih edilebilir. Hareketi kısıtlanmış farenin ense derisinde sol elle

bir üçgen boşluk oluşturulur. Önceden hazırlanmış iğne, servikal vertebralara ve araştırmacının parmaklarına zarar vermemek için hayvana paralel olarak yönlendirilir; iğneyi hafifçe kaldırmak da doğru yerleşime yardım eder (5) (Şekil 14a). Aynı şekilde sırt derisi altına da kullanılabilir (3) (Şekil 14b).

Sıçanda s.c. enjeksiyonlar da faredeki gibi yapılır (Şekil 15a ve 15b). Daha fazla madde uy-



Şekil 15a. Sıçanda ense derisi altına enjeksiyon



Şekil 15b. Sıçanda sırt derisi altına enjeksiyon



Şekil 16. Farede i.p. enjeksiyon



Şekil 17. Sıçanda i.p. enjeksiyon

gulaması gerektiğinde, deri altına ozmotik mini pompaların, peletlerin veya silikon kapsüllerin implantasyonu gerçekleştirilebilir (6).

Kobayda ve tavşanda da s.c. enjeksiyonlar, hayvanın ense veya sırt derisi altına uygulanır. Tavşanlarda verilen maddelerin pH'sı nötr olmalıdır, çünkü tavşanlar tahriş edici maddelerin enjeksiyonundan sonra deri altı apseler geliştirmektedir (5,9).

Intraperitoneal Enjeksiyonlar

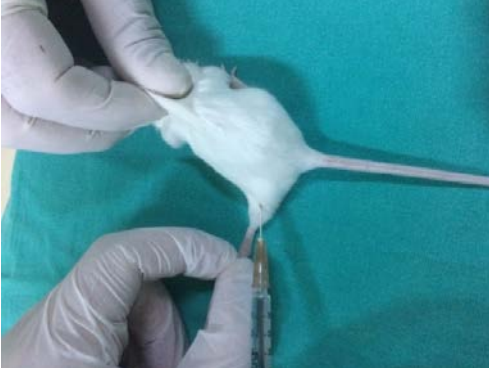
Farede i.p. enjeksiyonda idrar kesesinden kaçınmak için, orta hattan uzakta karnın sol alt veya sağ alt kadranı kullanılır (Şekil 16). Bağırsaklara (esas olarak hareketliliklerinden dolayı) zarar verme riski azdır. Karaciğerin zarar görmemesi için, farenin baş aşağı tutulması faydalı olabilir (1). Prosedürün doğru şekilde yapıldığından

emin olmak için, pistonu geri çekerek idrar, bağırsak içeriği veya kanın gelmediğinden emin olmak gerekir.

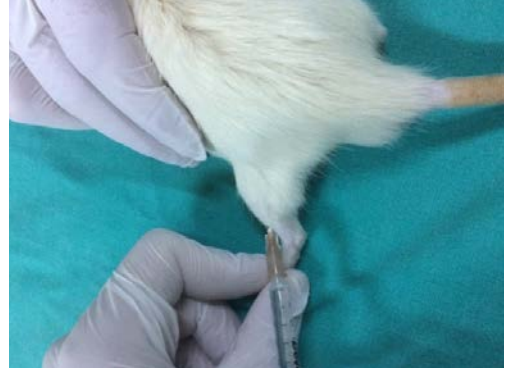
Sıçanda da i.p. enjeksiyon yaparken, enjeksiyon yapılacak tarafın arka bacağı gerginleştirilerek, iğnenin daha kolay girmesi sağlanır. İğne yaklaşık 5 mm deriye sokulur, daha sonra 45° çevrilir ve karın kası geçilip, dirençsiz karın boşluğuna girilir (1,6) (Şekil 17).

Kobayda i.p. enjeksiyon sıçandaki gibidir (5). Eğer madde tahriş edici ise, peritonit veya çekumun yapışması söz konusu olabilir (8).

Tavşanda i.p. enjeksiyon bazı kaynaklarda önerilmemesine rağmen, gerektiğinde dikkatle uygulanabilir. Hatırlanması gereken, enjekte edilen materyalin en azından bir kısmının çekum, yağ dokusu veya mesaneye girme olasılığından dolayı, emilim oranında değişkenliği olabileceğidir (5,9).



Şekil 18. Farede i.m. enjeksiyon



Şekil 19. Sıçanda i.m. enjeksiyon

İntramuskuler Enjeksiyonlar

Genel olarak, i.m. enjeksiyonlar, zengin vasküler beslenmeden dolayı, maddelerin hızlı emilimi ile sonuçlanır (11). Hayvanın bir yardımcı tarafından tutulması, işlemin doğru ve kolay yapılmasını sağlar. Fareye i.m. enjeksiyon, hassas bir prosedürdür, kuadriseps kaslarına yapılır (5) (Şekil 18). Kas kütlesi küçük olduğundan özel bir dikkatle yapılmalıdır. Verilebilecek hacim çok küçük olduğundan ve ağırlı olabileceği düşünülerek, farede i.m. enjeksiyondan sakınmak gerekir (3,5).

Sıçanda da i.m. enjeksiyon kuadriseps kaslarına ve triseps femoris kaslarına yapılır. Uyulğun posterior kaslarından siyatik sinir geçtiği için dikkatli olunmalıdır. İğne ucu, ideal olarak kas grubunun ortasına yakın olmalıdır, bunun için de i.m. enjeksiyon daha iyi kontrol sağlayan kısa bir iğne ile gerçekleştirilmelidir (5) (Şekil 19).

Kobayda i.m. enjeksiyon arka bacakların uyulruk kaslarına yapılır (8) (Şekil 20).

Tavşanda arka bacakta kuadriseps kasına (Şekil 21) veya dorsal lomber kaslara da i.m. enjeksiyon yapılabilir (9).



Şekil 20. Kobayda i.m. enjeksiyon



Şekil 21. Tavşanda i.m. enjeksiyon

Tablo 2. Deneysel hayvanlarında önerilen tek doz enjeksiyon hacimleri (ml) ve iğne kalınlığı (Gauge:G)

Enjeksiyon Yolu	Fare (25 gr)		Sıçan (250 gr)		Kobay (350 gr)		Tavşan (2.5 kg)	
	Hacim	İğne	Hacim	İğne	Hacim	İğne	Hacim	İğne
i.p	0.5-2.0	25 G	3-5	24 G	7-10	24 G	15-20	21 G
sc	0.25-2.5	26 G	1-5	25 G	1-2	25 G	10-20	21 G
i.m.	0.05	26 G	0.1	25 G	0.1	25 G	0.2-0.5	25 G
i.v.	0.13-0.2	26 G	0.5-1	25 G	0.5-1.75	26 G	1-5	23 G

Deneysel hayvanlarına tek seferde verilebilecek hacimler ve iğne ölçüleri Tablo 2'de gösterilmiştir (1,5).

KAN ALMA

Kan alma yönteminin belirlenmesi sadece yapılabirlik açısından değil, hipotezin doğru sonuçlarla değerlendirilmesi açısından da önemlidir. Kan almak için venler, arterler, orbital pleksus, kalp kullanılabilir veya dekapitasyon yapılabilir. Kan alma yönteminin seçimi arteryel kan, venöz kan veya arteriyovenöz kan ihtiyacı; kan alma süresi, sıklığı, gerekli hacim; anestezi veya aseptik tekniğin gerekip gerekmediği; deneyin hayvan için ölümlü sonuçlanıp sonuçlanmayacağı gibi faktörlere bağlıdır ve araştırmanın amacıyla belirlenir.

Deneysel hayvanlarından, genel olarak anestezi altında kan alınması tavsiye edilir. Eğer anestezi kan alınacaksa, araştırmacı kan alma stresinin fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde sapmaya neden olabileceğini düşünmelidir.

Deneysel için gerekli miktar (serum, plazma, tam kan) kullanılacak hayvan türünün seçilmesinde önemlidir. Kan hacmi, hayvanın vücut ağırlığına göre tahmin edilir. Her bir hayvanın kan hacmi nispeten sabit olup, vücut ağırlığının yaklaşık % 8'ini oluşturur (1). Kural, hayvanda anormal fizyolojik cevap ve sıkıntıya neden olmadan, herhangi bir 2 haftalık periyotta, en fazla kan hacminin % 10'unun (yaklaşık olarak vücut ağırlığının % 1'i yani 10 ml/kg) alınmasıdır (15). Güvenli kan alımına yönelik kılavuzlarda, hayvanlardan bu maksimum kan hacimlerinin alınmasından sonra, kan hacminin 24-48 saat içinde normale dönebileceği fakat kemik iliğinde kan hücrelerinin yenilenmesi için 14-21 gün gerektiği bildirilmektedir (1,4,7,10,14) (Tablo 3).

C57BL/6 farelerinden 6 hafta boyunca haftada bir, erkeklerden tam kan hacminin % 15'i ve dişilerinden % 25 alındığında kilo kaybı, davranışsal değişiklikler ve klinik olarak anlamlı anemi oluşmadığı gösterilmiştir. Daha büyük hacimlerin alınması (kan hacminin %18'ini geçen), hayvan için daha uzun iyileşme süreleri gerektirir.

Tablo 3. Deneysel hayvanlarının total kan hacmi ve alınabilecek kan hacimleri

Tür	Total Kan Hacmi (ml/kg)	Total Ortalama Kan Hacmi (ml/kg)	Bir Hayvanın Total Kan Hacmi (ml)	Tek Seferde Alınabilecek Maksimum Kan Hacmi*, ** (ml)	Terminalde Alınabilecek Maksimum Kan Hacmi* (ml)
Fare	62-80	71	1.6-3.2	0.2-0.3	1-1.5
Sıçan	58-70	64	20-40	2-3	8-12
Kobay	64-90	77	40-80	4-8	15-30
Tavşan	44-70	56	160-480	20-40	60-160

*Alınabilecek maksimum kan hacmi yaşa, vücut ağırlığına ve yonteme bağlı olarak değişebilir.

** Tek seferde alınabilen hacimler, haftalık olarak tekrarlanabilir.

Total kan hacminin tek seferde %30-40'ının alınması hipovolemik şok ve %40'dan fazlasının alınması, hayvanın türü ve genel sağlık durumuna bağlı olarak ölümüyle sonuçlanabilir (16).

Venlerden Kan Alma

Kuyruk venlerinden kan alma

Fare ve sıçan gibi küçük kemirgenlerden, kuyruğun son 2-3 mm'si keskin bir makas, neşter veya düz kenarlı tıraş bıçağı ile kesilerek az miktarda kan alınabilir. Bu yöntem, kan yaymaları veya ölçüm çubukları (glukoz ölçümü gibi) için kullanılabilir. Anestezi altında yapılması gerekir (5). Ayrıca kıkırdak ve nihayetinde koksigeal omurga travmasına neden olabileceği, kuyruğun vücut sıcaklığı kontrolünde ve vücut dengesinde önemli olduğu hatırlanarak, fazla sayıda yapılamayacağı unutulmamalıdır. Daha fazla miktarda kan gerekiyorsa, kuyruktaki venlerden alınabilir. Fare ve sıçan hafif anestezi altında iken, kuyruk venlerini genişletmek için hayvanın kuyruğu 1 dakika 45°C suda bekletilir. Kuyruk ucundan birkaç cm uzaklıktan, başparmağı ve işaret parmağı ile tutulup sabitlenen kuyrukta, iğne lateral veya



Şekil 26. Sıçanda lateral venden kan alma

dorsal vena yerleştirilir (17) (Şekil 26). Kan akışı, parmakların kuyruk tabanından ucuna doğru hafifçe sağımıyla güçlendirilebilir fakat hemolizden korunmak için uygulanan basınç kontrol edilmelidir (5,17). Bu teknik farede 0.1-0.2 ml, sıçanda yaklaşık 1 ml'ye kadar küçük kan hacimleri için kullanılabilir (5). 23-24 G'lik kateterler sıçan kuyruk venlerine yerleştirilerek, 5-6 saat süren çalışmalarda kan alma ve madde verme için kullanılabilir (17).

Safen venlerden kan alma

Fare, sıçan ve kobayın safen veninden kan almak için arka bacak uyluğun üzeri tıraş edilerek, damarın kaudalde görünmesi sağlanır. Küçük bir iğne ile damar, en proksimal görünür kısımdan delinir ve akan kan tüpe toplanır veya hematokrit tüpüne alınır (Şekil 27). Bu teknikle 0.2-0.5 ml'lik bir hacim toplanabilir. Kesi bölgesinde oluşan kabuk, 24 saat sonra tekrar kan almak için kolayca çıkarılabilir (5,17).

Pedal venden kan alma

Kısıtlanmış fare ve kobayda, arka ayaklardaki pedal venler küçük bir iğne ile delinerek, akan



Şekil 27. Sıçanda safen venden kan alma

kan bir hematokrit tüpü veya küçük bir test tüpüne alınabilir (5,18).

Dorsal metatarsal venden kan alma

Dorsal metatarsal ven, sıçanda küçük miktarlarda kan toplamak için kullanılabilir. Ayak bileğinin üstünde bir lokalizasyondadır. Bacağın dorsal yüzeyi traş edilip, damar içine küçük bir iğne (23 G) ile girilir. Bu teknikle 0.1-0.2 ml kan alınabilir (17).

Juguler venden kan alma

Fare, sıçan ve kobayın juguler veninden kan almak için anestezi gerekir. Farede juguler venden kan almak için boyun bölgesi traş edilir, alkolle silinir ve başı yukarı ve arkaya doğru çekilerek sabitlenir. Bu pozisyonda, juguler venler mavi renkte ve sternoklaviküler kavşağın 2-4 mm lateralinde görünür. 25 G'lik bir iğne kullanılarak, arkadan öne doğru (boyundan kafaya) 1-3 mm derinlikte damara girilir. Enjektöre kan geldiğinde damarın çökmesini önlemek için yavaşça çekilir (5,18).

Sıçan ve kobayda juguler venden kan alma prosedürü aynıdır. Hayvan, düz bir yüzey üzerinde sırt üstü yatırılıp, ayaklarından gergin şekilde flasterlenerek kısıtlanır. İğne yüzeye paralel tutularak, orta hattın yaklaşık 1 cm lateralinden girilir ve kanın enjektörün içine aktığı görülünceye kadar yine yaklaşık 1 cm derinliğe kadar itilir. Alternatif olarak, boyundaki küçük bir insizyon, juguler venin doğrudan görülmesine izin verir. Sıçanda juguler vene kateter de yerleştirilebilir fakat en fazla 14 gün kullanılabilir (5,17).

Kulak venlerinden kan alma

Büyük kobaylarda ve tavşanlarda, lateral kulak venlerinden kan elde edilebilir. Hayvanlar, hafif sedasyon yapılarak kısıtlayıcıya konmalıdır. Kelebek iğneleri, iğne neredeyse kulak yüzeyine paralel, yaklaşık 30° ile damara sokulur. Tekrarlı

kan alınması gerektiğinde, kateter yerleştirilip, bantlanabilir (5,19).

Orbital pleksustan kan alma

Farelerde, sıçanlarda ve kobaylarda orbital pleksustan kan alımı sırasında, hayvanlara inhaler anesteziklerle hafif anestezi sağlamak yeterlidir. Göz kürelerini dışarı çıkarmak için hayvanların sırt ve boyun derisi sıkıca tutulur. Orbital pleksustan kan alırken, Pasteur pipeti veya hematokrit tüpü, göz kapağı ve göz küresi arasındaki gözün medial kantusuna yavaşça sokulur (Şekil 28). Sfenoid kemiğin derinliğine ulaştığında, pipet veya tüp hafifçe döndürülür. Kanın tüpün dışına dökülmesini önlemek için, orbital pleksustan çıkarılmadan önce pipetin açık ucu parmak ucuyla kapatılmalıdır. Bu teknik, 0.5-3 ml arasında kan elde etmek için kullanılır (5).

Bu teknikle farenin aynı gözünden tekrar kan alımı için, en az iki hafta beklenmesi önerilir (20). Sıçanda kan alınan bölge 3-7 gün sonra iyileşir. Bu şekilde, her bir gözden kan, dönüşümlü olarak birçok kez toplanabilir fakat kanama, iltihaplanma ve körlük gibi komplikasyonlara neden olabileceği unutulmamalıdır (17). Ayrıca orbital pleksustan steril kan örnekleri toplanamaz çünkü göz çukurundaki doku sıvıları ve sekresyonlar kanı kontamine edecektir (1,5).



Şekil 28. Fareden orbital pleksustan kan alma

Arterden Kan Alma

Kuyruk arterinden kan alma

Sıçandan arter kanı almak için, ventral kuyruk arteri kullanılabilir. Hayvan, kısıtlayıcı içinde veya düz bir zeminde sırt üstü yerleştirilir. Tüp hazırlanır, kuyruğun tabanına yakın bir mesafeden, arter bir iğne ile delinir veya bir kesi yapılır ve akan kan tüpe toplanır. Diğer bir yöntemde kısıtlayıcıdaki hayvanın kuyruğu alkolle temizlendikten ve ısıtılarak görünür hale getirildikten sonra iğne, artere paralel olarak en az 3 mm lümenine girecek şekilde yerleştirilir. Hematokrit tüpü de iğnenin merkezi-ne yerleştirilir ve akan kan tüpe toplanır (5).

Karotis arterden kan alma

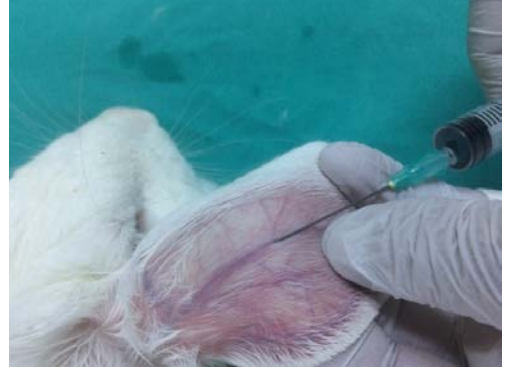
Sıçan ve tavşanda karotis arter, yüksek arteriyel kan basıncı ve akışı nedeniyle hızlı kan toplama için kullanılabilir. Anestezi altında, genellikle kalıcı bir kateterin artere cerrahi olarak yerleştirilmesi ile gerçekleştirilir. Kateter yerinden çıkarsa ciddi kanamalar, tromboembolik olaylar meydana gelebilir (10,17).

Kulak arterinden kan alma

Tavşanlarda, gerekli kan miktarı fazla değilse kulak arterinden kan almak, karotis arterden kan almaktan daha kolay bir yöntemdir. Kulağın orta hattında olan arter üzerindeki tüyler uzaklaştırılıp, alkolle temizlendikten sonra, kan almak için kullanılacak iğne, arter içine sokulur ve kan iğnenin ucundan tüpe alınır veya enjektöre çekilir (1) (Şekil 29).

Kalpten Kan Alma

Deneysel hayvanlarının kalbinden kan alma, derin anestezi altında, genellikle deneyin sonunda, hayvanın ölümünden hemen önce ve genellikle göğüs kafesi açılarak gerçekleştirilir. Fare, kobay ve tavşanda kalpten kan alma, terminalde kullanılan bir yöntemdir (1,5,17,19,20).



Şekil 29. Tavşanda kulak arterinden kan alma

Göğüs kafesi açılmamış anestezi altındaki sıçanın kalbinden kan alırken, sol elin baş ve işaret parmağı toraksın üzerine hafifçe bastırılarak kalp atımları hissedilir. Bu nokta sternumun orta hattının biraz solundadır. Sternumun kenarından interkostal aralıktan girilebileceği gibi yine sternumun alt orta hattında, sol el işaret parmağıyla göğüs kafesi hafifçe kaldırılarak yaklaşık 45° açıyla kalbe girilir. Hafifçe vakum yapılan enjektöre kanın gelmesiyle kalbe ulaşıldığı anlaşılır. Eğer hayvanın yaşaması isteniyorsa ilk seferde ve ventriküle girmek gerekir (1,5). Her girişim, kalpte ve etrafında kanamaya neden olabileceğinden toplamda sadece 2-3 kez yapılmalıdır (17). Hayvanın hayatı sonlandırılmayacaksa, mümkün olan en küçük iğne kullanılmalı ve komplikasyonları önlemek için alınacak hacim en aza indirilmelidir. Sıçanda yapılan diğer bir uygulamada ise hayvan sağ yanına yatırılır, iğne dirseğin hemen arkasından 90° açıyla göğse sokulur. Şırınganın içine hızlı kan akışı, doğru yerleşimi gösterir. Terminalde göğüs açılarak kalpten kan alırken, kalın bir iğne ile doğrudan kalbin ventrikülüne girilir (5,19).

Dekapitasyon

Bu teknik, kanın saç ve vücut sıvıları ile kontaminasyonunun kontrendike olmaması koşuluyla, nispeten büyük hacimlerde kan elde etmek

için kullanılabilir. Araştırmacı tarafından bilimsel olarak gerekçelendirildiğinde ve mümkünse anestezi altında gerçekleştirilmelidir (20).

De kapitasyon uygun ekipman kullanılarak, tecrübeli bir personel tarafından yetkin bir şekilde yapıldığında, anestezi uygulanmış veya uygulanmamış hayvanlardan büyük hacimlerde kan alımı sağlar. Bazı araştırmacılar bu tekniği estetik açıdan kabul edilemez bulabilirler. Dekapitasyon giyotin ile uygulanacaksa, özel kısıtlayıcıdaki hayvanın başı keskin bir giyotin bıçağı ile tek seferde kesilip, boyun, hızla bir toplama kabı üzerine yerleştirilir. Bu kap, üzerine huni konmuş büyük bir kan tüpü olabilir (17).

Hayvan deneyleri etik kurulları, birçok projede, hayvanlar üzerinde yapılacak uygulamaların en doğru ve insani şekilde gerçekleştirilmesi için ön deney yapılmasını önermektedir.

Kaynaklar

- Liu E, Fan J. Practical Techniques for Animal Experimentation. Liu E, Fan J (eds). Fundamentals of Laboratory Animal Science. 1st ed. Florida:CRC Press, 2018:225-283.
- Küçük M, Çevik A, Kalaycı R. Laboratuvar hayvanlarında temel uygulamalar. Deneysel Tıp Dergisi, 2012;2(4):39-47.
- Baumans V. The laboratory mouse. In: Hubrecht R, Kirkwood J (eds). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell, 2010:276-309.
- Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P. Mice. In: Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P (eds). Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. 4th ed. Danvers:John Wiley&Sons, Inc., 2013:54-104.
- Baumans V, Pekow CA. Common nonsurgical techniques and procedures. Hau J, Schapiro SJ (eds). Handbook of Laboratory Animal Science (Volume 1, Essential Principles and Practices). 3rd ed. Florida:CRC Press, 2011:401-445.
- Koolhaas JM. The laboratory rat. In: Hubrecht R, Kirkwood J (eds). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell, 2010:311-326.
- Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P. Guinea pigs. In: Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P (eds). Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. 4th ed. Danvers: John Wiley&Sons, Inc., 2013:195-226.
- Kaiser S, Krüger C, Sachser N. The guinea pig. In: Hubrecht R, Kirkwood J (eds). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th ed. United Kingdom:Wiley-Blackwell, 2010:380-398.
- Lidfors L, Edström T. The laboratory rabbit. In: Hubrecht R, Kirkwood J (eds). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th ed. United Kingdom:Wiley-Blackwell, 2010:399-417.
- Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P. Rabbits. In: Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P (eds). Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. 4th ed. Danvers:John Wiley&Sons, Inc., 2013:249-294.
- Turner PV, Brabb T, Pekow C, Vasbinder MA. Administration of substances to laboratory animals: routes of administration and factors to consider. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2011;50(5):600-613.
- Curfs JHAJ, Chwalibog A, Savenije BS, Ritskes-Hoitinga M. Nutrient requirements, experimental design, and feeding schedules in animal experimentation. Hau J, Schapiro SJ (eds). Handbook of Laboratory Animal Science (Volume 1, Essential Principles and Practices). 3rd ed. Florida:CRC Press, 2011:307-342.
- Savenije B, Strubbe J, Ritskes-Hoitinga M. Nutrition, feeding and animal welfare. In: Hubrecht R, Kirkwood J (eds). The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. 8th ed. United Kingdom:Wiley-Blackwell, 2010:183-193.
- Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. J Appl Toxicol. 2001;21(1):15-23.
- Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. J Pharmacol Pharmacother. 2010;1(2):87-93.
- Raabe BM, Artwohl JE, Purcell JE, Lovaglio J, Fortman JD. Effects of weekly blood collection in C57BL/6 mice. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2011;50(5):680-685.
- Koch MA. Experimental Modeling and Research Methodology. In: Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. The Laboratory Rat. 2nd ed. Amsterdam:Elsevier Academic Press, 2005:587-625.
- Hoff J. Methods of blood collection in the mouse. Lab Animal 2010;29(10):47-53.
- Küçük M, Çevik A, Kalaycı R. Laboratuvar hayvanlarında temel uygulamalar: Laboratuvar hayvanlarından kan alma teknikleri. Deneysel Tıp Dergisi, 2017;8(14):11-20.
- Suckow MA, Danneman P, Brayton C. Experimental Methodology. In: Suckow MA, Danneman P, Brayton C. The Laboratory Mouse. 1st ed. Florida:CRC Press, 2001:120-140.

Deney Hayvanı Modeli Seçimi

3

Aydın ÇEVİK

ÖZET

Biyomedikal araştırmalarda hayvanların kullanılması, uzun süredir devam eden bir uygulamadır ve günümüzde de sıkça tartışma konusu olmaktadır. İnsanlar üzerinde deney yapmanın etik ve yöntemsel kısıtlılıklarının yanı sıra insanlarla memeli hayvanlar arasında anatomik ve fizyolojik benzerliklerin ortaya konulması, araştırmacıları geniş bir yelpazede mekanizmaları irdelemek, bulguları ve yeni tedavi stratejilerini değerlendirmek için hayvan modelleri kullanmaya itmiştir. Bununla birlikte, bir araştırmacının bilim dünyasına konusuyla ilgili önemli bir katkı sağlamadan önce, deney hayvanları üzerinde yapacağı bilimsel çalışmaların haklı gerekçelerini ortaya koyması, sorumluluğunu yüklediği etik ilkeler doğrultusunda temel bilgilere sahip olması zorunludur.

Bu bölümde, hayvan deneylerinin kısa tarihçesi, deney hayvanı modeli kavramı, deney hayvanı modellerinin sınıflandırılması, hayvan deneylerinde yasal gereksinimler, doğru model seçimi, modellerin doğrulanması, hayvandan insana ekstrapolasyon gibi konularda gerekli bilginin sunulması amaçlanmaktadır.

GİRİŞ

Biyomedikal araştırmaların amacı; tanı, tedavi ve koruyucu hekimlik süreçlerini geliştirmek, hastalığın etiyooloji ve patogenezi daha iyi anlayabilmektir. İnsan aşaması öncesinde, biyomedikal araştırmalar bilimsel ilkelerle uyumlu olmalı, yeterli düzeyde laboratuvar ve hayvan deneylerine dayanmalıdır (1). İnsan ve hayvanların yararına, sağlığın korunmasında en iyi yöntemlerin bulunması ve biyolojik bilgilerimizin artması gibi amaçların yanı sıra geçerli bir alternatif yöntemin (hücre ve doku kültürleri, matematiksel modeller, bilgisayar modelleri, tek hücreliler vs) olmaması, hayvanlar üzerinde deneye başvurmayı zorunlu kılmaktadır (2). Bununla birlikte, Deney hayvanlarının insan ve hayvanlarda hastalıkların tanı ve tedavisi, ilaç ve aşı vb ürünlerin geliştirilmesi ve güvenlik testleri, fizyolojik ve patolojik mekanizmaların anlaşılması, davranışsal özelliklerinin belirlenmesi, çevrenin korunması, türlerin korunması, bilimsel araştırma, bilim insanları ve araştırmacıların eğitimi, adli soruştırmalar kapsamı dışında kullanılmaması gerektiği ulusal ve uluslararası yasa ve yönetmeliklerde açıkça vurgulanmaktadır (3,4).

Bir yüzyılı aşkın süredir bilimsel araştırmalarda elde edilen tıbbi ve biyolojik bilgilerin en önemli kaynağını deney hayvanları oluşturmaktadır. Hayvan kullanımına alternatif yöntemlerin umut verici bir şekilde artmasına rağmen deney hayvanları yakın gelecekte de önleyici tıbbın, yeni tanı ve tedavi stratejilerinin, cerrahi ve transplantasyon tekniklerinin geliştirilmesinde büyük rol oynamaya devam edecektir.

TARİHÇE

Tarihte, insanların hayvanları deneylerde kullanmalarına ilk olarak M.Ö. 400 yıllarında rastlanmıştır. Anatomik yapıları belirlemeye yönelik bu çalışmaları; Galenos (131-201)'un hayvan organlarının fizyolojik görevlerini anlamaya dayalı deneyleri takip etmiştir. Modern hayvan deneylerinin ise 17. yüzyılda İngiltere ve Fransa'da başladığı kabul edilmektedir. Bu deneylerin en dikkat çekenini ise William Harvey (1578-1657)'in kalbin pompa görevini kanıtlaştığı çalışmalarıdır (5, 6, 7, 8).

Hayvan deneyleri günümüze dek yöntemsel ve teknolojik olarak sürekli gelişim göstererek gelmiştir. Özellikle de William Russell ve Rex L.Burch'un "İnsan Deneysel Tekniklerinin Kuralları (1959)" adlı kitaplarında ilk kez bahsettikleri 3R kuralı, günümüzdeki yasal düzenlemelerin özünü oluşturmuştur. Bu kural; mümkün olan her durumda, canlı hayvan yerine bilimsel geçerliliği olan alternatif bir yöntemin tercih edilmesini (Replacement), istatistiksel hesabı etkilemeyecek en az sayıda hayvanla çalışılmasını (Reduction), hayvanlara acı, ızdırap verecek ve kalıcı hasar yapacak prosedürlerin iyileştirilerek hayvan refahının artırılmasını (Refinement) ifade etmektedir. (3,5,6) Yüzyıllar boyunca artan bilgi birikimi ve değişen etik anlayış sonucunda, hayvan deneyleri bilimsel ve etik bakımından yeniden düzenlenmiştir. Hayvan haklarını korumak, refahı sağlamak ve etik standartları

oluşturmak amacıyla kurulan Hayvan Deneyleri Etik Kurulları önemli sorumluluklar üstlenmişlerdir (3,4,5,6).

DENEY HAYVANI MODELİ

Bilimsel amaçlarla ve etik standartlara uygun olarak deneylerde kullanılmak üzere yetiştirilen omurgalı ve omurgasız hayvanlar "deney hayvanı" olarak tanımlanmaktadır. Bilimsel araştırmalar ve testlerle birlikte eğitim-öğretim amacıyla, dünya genelinde 179 ülkede kullanımına izin verilen deney hayvanı sayısı, yalnız 2008 yılı dikkate alındığında, 115 milyonu geçmektedir (9). Bilimsel amaçla kullanılan omurgalı hayvan türlerinin başında fareler ve sıçanlar gelmektedir. Kullanım oranlarına göre bu türleri ikiyaşayışlılar ve balıklar takip etmektedir. Listenin geriye kalanını ise kuş, kobay, tavşan, kedi, köpek, çiftlik hayvanları ve maymunlar oluşturmaktadır (1, 8).

Omurgalı ya da omurgasız olduğuna bakılmaksızın herhangi bir türde yapılacak bir hayvan deneyinin haklı bir gerekçesi olmalı, deney protokolü bilimsel kurullara ve etik ilkelere göre tasarlanmalıdır (6,10,11). Bir bilimsel araştırmanın hayvanlar üzerinde yürütülebilmesi için; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurullarından onay alınması zorunludur (1,3,4,6). Araştırmacılar, deney hayvanlarını genellikle insan ya da bazı hayvan türleri için model olarak kullanmaktadır. Bir deney hayvanı modeli; normal biyolojik ve fizyolojik mekanizmaların ve davranışların yanı sıra spontan ya da indüklenmiş bir patolojik durumun araştırılmasına olanak sağlamalı, en az bir biyolojik işlev yönünden insan ya da diğer hayvan türlerine benzerlik göstermelidir (6,8,12,14). Bir insan hastalık modeli ise insanda karşılaşılan ya da karşılaşılabilecek bir hastalığın patolojisini açıklamak ya da bir tedavi stratejisi ortaya koymak amacıyla geliştirilmektedir (10,15).

Hayvan modeli kullanılan bir araştırmada, seçilen bu hayvanın imgesinden çok fizyolojik

davranışı ile insandaki durum arasında benzerlik kurarak çıkarımda bulunulması hedeflenmektedir (13). Aslında, araştırmalarda hayvanların kullanılmasının diğer hayvanlara yararı olsa da, insan koşullarının iyileştirilmesine daha fazla odaklanılmaktadır (11).

Özgün bir hayvan modeli, araştırılan duruma uygun olduğuna inanıldığından, denenen tedavilere insanlara benzer şekilde yanıt vereceği öngörüldüğü için seçilmektedir. Modelin kullanılacağı deneyin iyi tasarlanmış olması, uygulanan herhangi bir tedaviye yanıt verebilmesi bakımından büyük öneme sahiptir. Model deneye karşı duyarsızlaşmışsa, deney kontrol ve deney grupları verileri arasında ayırım yapılamayacak kadar kötü tasarlanmışsa, yetersiz sayıda hayvandan veri elde edilmişse, model amacına uygun olarak seçilmemiştir (16,17).

İnsan ve hayvan modeli arasında bazı farklılıkların olması en az benzerlikler kadar önemlidir. Aksi takdirde hayvan bir model olmaz. Fareler; boyutlarının küçük, üretimlerinin hızlı ve kolay olması ve genetik manipülasyonlara izin vermeleri nedeniyle insanlardan farklılık gösterirler. Bu nedenle de model olarak araştırmalarda daha yaygın olarak kullanılırlar. Buna karşın çok küçük boyutta olmaları, onların kalp cerrahisinde tercih edilmemelerine neden olmaktadır. Kanseri, diyabet, kalp ve nörolojik hastalıkların geliştiği fare ve sıçan soyları, bu hastalıkların araştırılmasında model olarak sıklıkla kullanılırken, uzun ömürlü türlerin gerekli olduğu düzenleyici toksikoloji araştırmaları için uygun model olmamaktadır (18).

İnsan hastalıklarının hayvan modelleri, doğrulanmaya gereksinim duyarlar. Hayvan modelleri kullanılarak yapılan araştırmalar genellikle insanlarda bir yanıtı öngörmeyi amaçlamaktadır. Hayvanlarda belli bir hastalık için geliştirilen yeni bir tedavi, klinik denemelerle doğrulanamıyorsa biyolojik olarak geçerli kabul edilmez ya da modelin kullanıldığı deney

kötü tasarlanmıştır. Yeni hayvan modellerinin bulunması kadar daha fazla araştırmada kullanılarak geliştirilmesi de türlerin biyolojilerinin daha da iyi anlaşılması bakımından büyük bir öneme sahiptir (16, 19,23).

HAYVAN MODELLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

İnsanlarda biyolojik yapı ve fonksiyon çalışmaları için çok sayıda hayvan modeli kullanılmış ve kullanılmaktadır. Modeller, biyolojik bir mekanizmanın normal biyolojide çalışıp çalışmadığını ya da anormal işlevle ilişkili olup olmadığını anlamayı amaçlayan çalışmalarda kullanılabilir. Modeller, aynı zamanda, az ya da çok karmaşık bir biyolojik problemi anlamaya yönelik "açıklayıcı" modeller olarak da geliştirilebilir ve uygulanabilir. Üçüncü bir önemli hayvan modeli grubu "öngörücü" modellerdir. Bu modeller, bir hastalığın tedavi edilmesi veya kimyasal bir bileşiğin toksisitesinin değerlendirilmesi için bir tedavinin etkisini belirlemek ve ölçmek için kullanılır (13,14,19). Hayvanlar insan hastalıklarının araştırılması için kullanılmaları durumunda ise beş ayrı kategoriye ayrılırlar:

1. İndüklenmiş modeller: Deneysel (cerrahi, kimyasal ya da viral) yolla hayvanlarda, hedef organizmada görülenlere benzer hastalık veya bozukluk oluşturulmasıdır. En çok kullanılan modeldir. Örneğin, streptozotosin ile tip 2 diyabetik fare ya da koroner arterin cerrahi olarak ligatüre edilmesiyle miyokardiyal enfarktüsü oluşturulabilir. Yakın türlerde biyolojik benzerliğe rağmen farklı yanıtlar alınabilmektedir. Örneğin, deneysel olarak farelerde şistosomiasis enfeksiyonu oluşturulabilirken, sıçanlar uygun bir model değildirler (18).

2. Spontan modeller: Genetik olarak kendiliğinden oluşan ve insanlardaki hastalığa benzer patojenez gelişen modeldir. Örneğin, spontan

tip 1 diabetik sıçan modeli olan BB sıçanlardaki belirtiler ve patojenez insanlardakine benzerlik göstermektedir. Homozigot nude fareler atimiktir. Allograft ve çoğu kez ksenograft reddi görülmediğinden heterotransplantasyon çalışmalarında tercih edilirler (19).

3. Negatif modeller: Belirli bir hastalığın kesinlikle gelişmediği hayvan türü veya soylarıdır. Örneğin, tavşanda gonokok infeksiyonu gelişmemektedir. Negatif hayvan modelleri, transgenik teknolojinin gelişmesiyle giderek daha önemli hale gelmiştir. Örneğin, kendi tiroglobülinin enjeksiyonu ile otoimmün tirodit gelişiminin eksikliğini incelemek için yeni bir transgenik fare oluşturulmuştur. Bu fare soyunun reaksiyon gelişmemesinden sorumlu belli yüzey epitoplarından yoksun olduğu saptanmıştır (13).

4. Olası modeller: Öncelikle hayvanlarda tanımlanmış olan bazı hastalıkların daha sonra insanlarda benzeri tanımlanabileceği varsayılarak çalışılan modellerdir. Örneğin, papillomatosis ve deli dana hastalığı gibi. Benzer bir hastalığın insanlarda görülmesi durumunda model uyarlanabilmektedir (19).

5. Transgenik ve knock-out modeller: Rekombinant DNA teknolojisi yardımıyla genomlarına yapay olarak yerleştirilmiş yabancı bir DNA içeren (transgenik) ya da Gen-hedefleme teknolojisi (homolog rekombinasyon) kullanılarak belirli bir geni çıkartılmış veya işlevi engellenmiş (knock-out) hayvanlardır. Ankilozan spondilit modeli HLA-B27 transgenik fare ve Li-Fraumeni sendromu modeli P53 knock-out fare iyi birer örnektir (18).

DOĞRU MODEL SEÇİMİ

Deney planlaması yapılırken öncelikle kapsamlı bir literatür araştırması yapılmalıdır. Bir

deneysel çalışma için en uygun hayvan modelini seçmek ya da alternatif bir yöntemin tercih edilmesi amacıyla güncel literatürler dikkate alınmak istendiğinde durum biraz karmaşık bir hal alabilmektedir. Böyle bir durumda, araştırmacılara yardımcı olabilecek çok sayıda web sitesi, veri tabanları ve arama motorları bulunmaktadır. Bu web tabanlı kaynaklar arasında Altweb (Hayvan Testlerine Alternatif Yöntemler) IMSR (Uluslararası Fare Soyları Kaynağı), AWIC (Hayvan Refahı Danışma Merkezi), ANZCART (Araştırma ve Eğitim Amaçlı Hayvan Bakımı için Avustralya/Yeni Zelanda Konseyi) gibi kaynaklar araştırmacılara yeni hizmetler, alternatifler sunmakta, mevcut bilgilerin güncellenmesini sağlamaktadır (11,13).

Doğru hayvan modelinin seçiminde; türlere özgü biyolojik özelliklerin iyi bilinmesi, kullanılacak hayvanlara ait "tür, soy, altsoy, mikrobiyolojik (konvansiyonel, gnotobiyotik, spesifik patojen free) ve genetik (inbred, outbred, mutant, transgenik) durumlarının iyi tanımlanmış olması gereklidir. Ayrıca bilginin aktarılabilir olması, sonuçların genelleştirilebilmesi, maliyet ve bulunabilirlik en az etik standartlar kadar önemlidir. Deneysel manipülasyonları test etmek için de pilot çalışma yapılmalıdır (20).

Seçilen hayvan modeli, uluslararası tanımlamalara uygun bir şekilde ifade edilmelidir. Hayvanların genetik ve mikrobiyolojik özellikleri yanı sıra barınma standartları, diyetleri ve yaş ve cinsiyeti, verilecek maddenin dozu, verilmiş yolu da bu tanımlama da belirtilmelidir (1,14).

Hayvan modeli olarak inbred soylar, hem deneysel tedavilere yanıt olarak hem de genetik çeşitliliğin kontrolü ve araştırılması için büyük bir avantaj sağlar. Genetik ve genetik olmayan faktörlerin ayrılmaz bir şekilde karıştığı outbred soylar ise çok daha az uygunluk taşır. Çünkü rastgele ve kontrolsüz genetik çeşitlilik, tedaviye yanıtı engelleyebilmektedir (17).

Araştırmacı; etik ilke ve standartlar doğrultusunda istatistiksel bakımdan mümkün olabilecek en az sayıda hayvan ile yeterli materyal elde edilmeye çalışılmalıdır. Deneyde kullanılacak hayvanlar; standart mikro ve makro ortam koşullarında en uygun barınma, üretim ve bakım olanağı sağlanan ve düzenli olarak sağlık taraması yapılan, deneyimli ve bilgili personele sahip çalışma izni olan tedarikçi kurumlardan sağlanmalıdır (1, 17).

Hayvan deneylerinin standartlaştırılması; deney hayvanlarının içinde bulunduğu mikro ve makro ortamların, hayvanlarla çalışan personelin, kullanılacak cihaz ve ekipmanların sabit ya da kontrol altında tutulmasını kapsamaktadır. Hayvan sayısının yanı sıra vücut hacmi, yaşam süresi, cinsiyeti, yaşı, gebelik durumu, biyolojik ritimi, üretim tarzı gibi hayvanlara ait faktörlerin kontrolü de standartlaştırma için gereklidir. Türe özgü çevre koşullarının, fizyolojik gereksinimlerinin karşılanması ve en iyi barınma olanaklarının sağlanması da önemlidir. Diğer yandan deney hayvanlarının metabolizmasını etkileyen değişkenler (diyet alışkanlıkları, hayvana verilecek ajanın etki yolu (deri altı, periton veya damar içi, vs.) kadar örnek alınan yer ve örneklem sıklığı da kontrol altında olmalıdır (1,2,8,13,21).

Standartlaştırma işleminin; deneyin tekrarlanması durumunda benzer sonuçların alınmasının yanı sıra, elde edilecek veriler arasındaki farklılıkların da azalmasına yol açacağı bilinmelidir. Hayvanların refahını bozan stres vb faktörlerin deney sonuçlarını da olumsuz yönde etkilediği unutulmamalıdır (3, 22).

HAYVANDAN İNSANA EKSTRAPOLASYON

Deneysel hayvan modellerinden elde edilen sonuçları; insana kalitatif ya da kantitatif olarak uyarlayabilmek mümkün olabilmektedir. Böylelikle, insanda morbidite ve mortalite oranları azaltılmakta ve insan sağlığına önemli

yararlar sağlanmaktadır. Hayvandan elde edilen bilginin insana doğrudan aktarılabilmesi her zaman garanti edilememektedir. Genç, sağlıklı ve homojen dağılım gösteren erkek ya da dişi bir örnek deney hayvanlarından elde edilen verilerin, fenotipi, genotipi, etnik kökeni farklı, birden fazla hastalığı bulunan, her iki cinsiyetten heterojen dağılım gösteren insanlara uyarlanmaya çalışılması, hayvan sonuçlarının geçerliliğini olumsuz etkilemektedir. Ayrıca, kötü tasarlanmış araştırmalar, uygun olmayan model seçimleri de hayvan modellerden elde edilen verileri doğrulamanın önünde bir engel oluşturmaktadır (10,14,24).

Sonuç olarak, hayvan deneylerinin bilime olan katkıları yakın gelecekte de devam edecektir. Bununla birlikte biyoetiğin hayvan kullanımlı bilimsel araştırmalar üzerinde giderek artan etkinliği doğrultusunda, elde edilen bilgilerin ve teknolojik ilerlemenin de yardımıyla daha geçerli, güvenilir, biline dayalı öngörüsü yüksek yeni hayvan modellerine ve yeni alternatif yöntemlere ulaşılması mümkün olacaktır. Araştırmacıların kendilerine yüklenen sorumluluğun bilinciyle, doğru model seçimine büyük önem vermeleri bu süreçte olumlu yönde katkı sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Kaya M, Çevik A. Hayvan Deneylerinde Planlama ve Model Seçimi. DETAE Deneysel Tıp Dergisi. 2011; 1(2): 36-39.
2. De Aguiar-Nascimento JE. Fundamental steps in experimental design for animal studies. Acta Cir. Bras. 2005; 20 (1): 1-8.
3. Balkan A, Balkan M. Hayvan Çalışmalarında Etik, Laboratuvar Standardizasyonu ve Hayvan Bakımı ile İlgili Yasal Zorunluluklar. Turk Toraks Derg 2013;14(suppl.2): 6-9.
4. Gölcü BM, Aksoy A. Avrupa Birliği ve Türkiye’de Deneysel Hayvanları Mevzuatına Genel Bir Bakış. Türkiye Klinikleri J Lab Anim 2017;1(1): 56-62.
5. Altuğ, T. Biyolojik Araştırmalarda Deneysel Hayvanı Kullanılmasının Ana İlkeleri. İstanbul: II. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Genetik Öğrenci Kış Okulu Kitabı; 2005; 97-101.

6. Ergün Y. Hayvan Deneyselerinde Etik. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi 2010;19 (1): 220-235.
7. Franco NH. Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective. *Animals*. 2013;3: 238-273.
8. İde T. Hayvan Modelleri. Ankara: Laboratuvar Hayvanları Biliminin Temel İlkeleri Türkçe Çeviri, Züpten LFM, Baumans V, Beynen AC. 2003; 187-194.
9. Taylor, K., Gordon, N., Langley, G., Higgins, W. Estimates for Worldwide Laboratory Animal Use in 2005. *ATLA* 2008; 36: 327-342.
10. Parvova I, Danchev N, Hristov E. Animal Models of Human Diseases and their Significance for Clinical Studies of New Drugs. *J Clin Med*. 2011; 4(1):19-29.
11. Wood MW, Hart LA. Selecting appropriate animal models and strains: Making the best use of research, information and outreach. *AATEX* 2007; 14: 303-306.
12. Çevik A. Obezite ve Deneysel Model. *Türk İmmüno- loji Dergisi Suppl. (Deneysel Hayvan Modelleri Çalış- tayı, 2011)* 2012; 2(18):103-108.
13. Hau J. Animal Models. Florida: Handbook of Labora- tory Animal Science, Vol. II 2nd ed; 2011. p.6-24.
14. Rand M.S. Selection of Biomedical Animal Models. Totowa: Sourcebook of Models for Biomedical Re- search; 2008. p.9-15.
15. Gelmez MY, Kasapoğlu P, Adaş ÇU., Tahralı İ, Bilgiç Gazioğlu S, Çevik A, et al. Metabolik Sendromda De- neysel Hayvan Modelleri. *DETAE Deneysel Tıp Der- gisi*. 2012; 2(4): 15-21.
16. Barré-Sinoussi F, Montagutelli X. Animal models are essential to biological research: Issues and perspec- tives. *Future Sci OA*, 2015;1(4):63-65.
17. Festing M. The Choice of Animal Model and Reductio- on. *ATLA* 2004;32(2): 59-64.
18. Perlman RL. Mouse Models of Human Disease: An evolutionary perspective. *Evol, Med, Public Health* 2016; 1(1):170-176.
19. Maurer KJ, Quimby FW. Animal Models in Biomed- ical Research. London: Laboratory Animal Medicine, 3 rd ed; 2015. p.1497-1534.
20. Stokes WS. Selecting appropriate animal models and experimental designs for endocrine disruptor research and testing studies. *ILAR J*. 2004;45(4):387- 93.
21. Naycı S. Hayvan Çalışmalarında Planlama ve Uygun Model ve Denek Seçimi Nasıl Yapılmalı? *Türk Toraks Derg*. 2013; 14(Suppl. 2): 10-4.
22. Güneli E, Ateş M, Gümüştekin M. Deneysel Hayvan Araştırmalarının Planlamasında Dikkat Edilecek Hu- suslar. *J of Clin and Anal Med*, 2012;1:5-9.
23. McGonigle P, Ruggeri B. Animal Models of Human Disease: Challenges in enabling translation. *Bioc- hem Pharmacol*. 2014;87(1),162-171.
24. Hudler P. The Use of Animals in Biomedical Research. *Slov Vet Res* 2007;44 (3):55-62.

Deney Hayvanları Tanımı ve Etiği

4

Altan ARMUTAK, Mutlu KÜÇÜK

Genel olarak bilimsel araştırmalarda, deneylerde ve biyolojik testlerde kullanılan hayvanlar “Deney Hayvanları” olarak tanımlanır. Bu hayvanlar çoğunlukla laboratuvarlarda ya da çiftliklerde, bilimsel araştırmalarda kullanılmak üzere yetiştirilirler. Çiftliklerde ve laboratuvarlarda özel olarak üretilen bu hayvanlar, yapay ortamlarda doğmakta, bu ortamda araştırma, deney ve testlerde kullanıldıktan sonra insan eliyle yaşamlarına son verilmektedir.

Yine bu hayvanlardan genellikle laboratuvarlarda özel tekniklerle üretilen ve başta sıçan, fare olmak üzere kobay, hamster ve tavşan gibi canlıların “Laboratuvar Hayvanları” olarak adlandırılabilirdiği; bunların dışında kalan ve çiftliklerde üretilen keçi, koyun, sığır, domuz ve tavuk gibi hayvanların da “Deney Hayvanları” olarak tanımlanabileceği de ileri sürülmüştür.

Bilimsel araştırmalarda yer alan deney hayvanlarının çalışmalarda kullanılmasının bilinen en eski başlangıcı İlkçağ’ın Eski Yunan ve Roma İmparatorluğu dönemine dek uzanır. Hippokrates (M.Ö.460-370) ‘ten Galen (M.S. 131-201)’e dek uzanan bu süreçte yer alan çok sayıda araştırmacı, önce anatomi daha sonra da fizyoloji disiplinlerindeki araştırmalarında hayvanları denek olarak kullanmışlardır. Batıda ortaçağ

boyunca yasaklanan bilimsel araştırmalar Rönesans ile yeniden canlanmış ve yine en çok anatomi ile fizyoloji alanlarında çalışmalar yapılmıştır. Bu arada Rönesans’tan sonra özellikle Aydınlanma Çağı’nda taraftar bulan ve hayvanların ruhsuz birer makine olduğu, acı duymadığı fikri, çok sayıda bilim insanının hayvanları daha rahat bir şekilde deneylerde kullanması sonucunu doğurmuştur. Bu görüş, daha sonraki yüzyıllarda bilimsel deneylerde kullanılan hayvan sayısı ve türünün sayıca büyük bir artış ve çeşitlilik göstermesine neden olmuştur.

Hayvanların hakları konusundaki hareketler ise, temelde hayvan deneylerine bir tepki olarak doğmuştur. Anestezinin keşfinden önce yapılan bu deneylerin pek çoğu acı vericidir. Hayvanlar üzerinde yapılan bu acı veren deneyler sürerken, onların da insanlar gibi acıya duyarlı canlılar olduğu anlaşılmış ve buna bağlı olarak canlı hayvanlar üzerinde inceleme yapılmasını uygun gören Viviseksiyonist görüşe karşı olan Antiviviseksiyonist gruplar ortaya çıkmıştır. Ülkelerin neredeyse tümünde hayvanlara eziyet edilmemesi konusunda bir düşünce birliği olmakla beraber, biyomedikal araştırmalarda kullanılan deney hayvanlarını korumak ve bu araştırmaları yetkili kişi ve kuruluşlara yaptır-

mak amacıyla pek az ülkede yasal düzenlemeler oluşturulmuş ancak bu düzenlemelerde de bir birlik sağlanamamıştır.

Hayvanları koruma amaçlı ilk yasa 1822 yılında İngiltere’de yürürlüğe girmiş ve yine ilk kez İngiltere’de 1876 yılında hayvan deneylerinin mutlaka anestezi altında yapılmasını ön-gören bir yasa (Cruelty to Animal Act)’da kabul edilip ilk Antiviviseksiyonist dernek kurulunca, bu hareket Britanya Adaları’nda büyük bir hız kazanmış ve sonra daha da güçlenerek hayvan hakları ve hayvan refahı hareketleri için temel oluşturmuştur.

Özellikle XX. yüzyılda deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilen araştırmalar sonucunda önemli bilimsel ilerlemeler sağlanmıştır. Yine bu yüzyılın başlarında bilim insanlarınca, deneylerde kullanılan bazı türlerin ve o türlere ait soy ya da hatların denemelere daha uygun olduğu ortaya konulmuş ve böylece deneylerde kullanılan hayvan türlerine bir sınırlama ve düzen getirilmiştir. İkinci Dünya Savaşı’ndan sonraki yıllarda deneylerde kullanılan hayvan sayısında görülen büyük artış, ancak hayvan hakları ve hayvan refahı hareketlerinin yaygınlaşması, 1978 yılında “Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi”nin ilanı, çeşitli yasa ve yönetmeliklerin kabulü, harekete geçen uluslararası kuruluşlar ve daha sonra dünya genelinde deney hayvanları etik kurullarının kurulup etkinliklerini arttırması ile durdurulabilmiştir.

Hayvan deneyleriyle birlikte gündeme gelen etik sorunların çözümünde yol gösterici olabilmek amacıyla, Dünya Sağlık Örgütü’nün işbirliği yaptığı bir kuruluş olan CIOMS-“Council for International Organizations of Medical Sciences” (Uluslararası Tıp Bilimleri Kuruluşu Danışma Konseyi) tarafından, bilimsel araştırmalarda kullanılan hayvanları korumaya yönelik bir yönetmelik hazırlanmıştır.

Yönetmelikte şu temel sorunlara değinilmiştir:

- Bilimsel amaçla hayvan kullanımı temelinde hiç istenmemektedir.

- Olanak varsa başka yöntemlerin kullanılması daha uygundur.
- Bugünkü olanaklarımızla deneylerde hayvan kullanımı kaçınılmazdır.

Yine deney hayvanı kullanılarak yapılan çalışmalarda etik açıdan önemli noktalar da belirlenmiştir:

- Deney hayvanlarının sağlandığı yerler.
- Deney hayvanlarının bakımı.
- Deney hayvanlarına uygulanan araştırma yöntemleri.
- Deney hayvanlarına yapılan araştırma sonrası uygulamalar.

Deney hayvanları etiğinin en önemli dönüm noktası hiç şüphesiz William Russel ile Rex Burch tarafından 1959 yılında yazılan “The Principles of Humane Experimental Techniques” adlı kitapta ortaya atılan “3R Kuramı”dır. Deney hayvanları etiğinde bir devrim niteliği taşıyan ve günümüzde de etki ve geçerliliğini sürdüren bu kuram ile bilimsel araştırmalarda kullanılan deney hayvanlarına uygulanacak yaklaşımlara etik standartlar getirilmiştir.

3 R KURAMI

Replacement (Omurgalı deney hayvanı yerine alternatif yöntemlerin kullanımı):

Bilimsel araştırmalarda omurgalı deney hayvanları yerine alternatif yöntemleri kullanmaktır. İyi bir ön araştırma ile deneysel çalışmalarda gelişmiş deney hayvanları kullanmak yerine, maliyeti yüksek bile olsa, farklı yöntemler tercih edilebilir.

Günümüzde deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalara alternatif olarak düşünülen yöntemler şunlardır:

- Doku ve organ kültürlerinin kullanımı.
- Omurgalılar yerine omurgasız hayvanların kullanımı.
- Embriyolu yumurtaların kullanımı.
- Bir hücrelilerin kullanımı.

- Bilgisayar modelleri ve veri bankalarının yararlanma.
- Matematik yöntemlerden yararlanma.
- İnsan ve insanlardan elde edilen materyalin kullanımı.
- Eğitimde deney hayvanları yerine yapay modellerin ve filmlerin kullanımı.

Alternatif yöntemlerin deney hayvanlarıyla yapılan araştırmaların yerini alması ile ilgili çalışmaların ortaya çıkmasındaki en önemli etken etik kaygılar olmakla birlikte, bu alandaki yöntemler geliştikçe ortaya çıkan başka olanaklarda onlara yönelme eğilimini arttırmaktadır. Bu yöntemlerden doku kültürü bir dereceye kadar pahalı olmakla beraber diğer yöntemlerin birçoğu deney hayvanı üretim ve barındırma tekniğine göre çok daha ucuzdur. Ayrıca hayvan deneylerine oranla onları standardize etmek çok daha kolaydır. Yapılması uzun süre alan hayvan deneylerini bazı alternatif tekniklerle daha kısa sürede gerçekleştirmek mümkün olabilmektedir. Fakat bütün bu yöntemlerden elde edilen bulgular organizmayı ve organizmanın içinde gelişen bütün biyolojik olayları temsil etme kapasitesinde değildir. Bazen insan gibi memeli hayvanlar sınıfına dahil olan deney hayvanlarından elde edilen bilgilerin bile insana uyarlanmasında yoğun problemler yaşanırken, uzak biyolojik objelerden, hatta canlı olmayan sistemlerden elde edilen sonuçların pratiğe aktarılması çok daha zor olmaktadır. Fakat bütün zayıf noktalarına karşın özellikle gelişmiş ülkelerde çalışma grupları oluşturularak geçerliliği kabul edilebilecek alternatif yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu yönlü projelere, kurum ve kuruluşlarca oldukça güçlü ekonomik destekler de verilmektedir.

Reduction (Hayvan Sayısını Azaltmak)

Bilimsel araştırmalarda mümkün olan en az sayıda deney hayvanı kullanmaktır. Temeli, ista-

tistik yönden kabul edilebilecek asgari sayıda hayvanın deneylerde kullanılması esasına dayanır. Bu kural daha az hayvan kullanılarak sonuca varmayı önermektedir. Bu önerinin özünde kesinlikle bir deneyde istatistik kurallarını zorlayacak azlıkta hayvan kullanma yöntemleri kastedilmemektedir. Buradaki azaltma önerisi başka önlemleri önermektedir. Bu önerilerin temel noktası gereksiz yere hayvan kullanımının önüne geçilmesidir. Çalışmalarda hayvan sayısının azaltılabilmesi için öncelikle iyi bir literatür çalışması yapılmalıdır. Daha önce yapılmış çalışmaların tam olarak irdelenmemesi gereksiz yere çalışmalar yapılmasına neden olabilir. Bazı çalışmaların sonuçları yıllar önce klasik kitaplara geçtiği halde o çalışmanın tekrar yapılması boş yere hayvan feda edilmesinden başka bir şey değildir. Bir hayvanın boş yere feda edilmediğinin en önemli kanıtı, o çalışma bittikten sonra elde edilen bulguların bilime olan katkısıdır. Bilime yeni bir katkıda bulunmayan çalışmalar bir yerde hayvanın yaşama hakkını ve refahını da ihlal edilmiş olmaktadır.

Refinement (Acı ve Ağrının Giderilmesi)

Öncelikli olarak hayvanların deneyler öncesinden başlanmak üzere türlerine özgü koşulların oluşturularak refahlarının sağlanması, herhangi bir sakıncası yoksa tüm girişimlerin anestezisi altında yapılması, olası acı ve ağrıların dindirilmesi için önlemlerin alınması ve tüm çabalara karşın deneyler sırasında ve deney bitiminde acı ve ağrıları dindirilemeyen hayvanların ötenazi edilmesi yaklaşımlarını içermektedir. Bu kuralda deney hayvanlarının üretimden deneyde kullanılmalarına ve deneyin sonuçlanmasına kadar geçen bütün aşamalarda hayvanların refahlarının sağlanması ve onlara acı verilmemesi, varsa acı ve ağrıların giderilmesi için tüm tedbirler alınır.

Hayvanların deneylerde kullanımları sırasında da refinement kuralına uyulması gerek-

lidir. Bu aşamada en önemli koşul hayvanlara yapılan girişim sırasında gereksiz ağrı duymalarının sağlanmasıdır. Bunun için cerrahi girişimler mutlaka anestezi altında yapılmalı ve operasyonun başından son anına kadar hayvanın ağırlı uyarılara cevabı olmadığından emin olunmalıdır. Operasyon sonrası eğer yapılan araştırmada yan etkisi olmayacaksa ağrılar, analjezik kullanarak elimine edilmelidir. Fakat bazen kullanılacak analjezikler, nadir durumlarda özellikle deneyin biyokimyasal parametrelerini etkileyebilir. Bu olay deneyin boş yere tekrarlanması sonucunu doğurabilir ve feda edilen hayvan sayısını arttırarak sonuçta 3R kuramının "reduction" maddesine aykırı bir davranış sergilenmesine neden olabilir. Çalışmalarda analjezik madde kullanılması için mutlaka çaba gösterilmeli ve çalışmanın özelliğine göre uygun analjezik seçilerek doğru doz ve zamanda kullanılmasına özen gösterilmelidir.

Ötenazi: Acısız, ağrısız, tatlı ölüm anlamındadır. Refinement kuralları bünyesinde deney bitiminde hayvanlara uygulanacak ötenazi yöntemlerinin tartışılması da önemli bir ağırlığa sahiptir.

Ötenazi;

- Mutlaka veteriner hekim tarafından ya da onun gözetiminde veya bilgisi dahilinde yapılmalıdır.
- Deney hayvanı hangi amaçla olursa olsun yakılarak ya da boğularak öldürülemez.
- Ani ve ağrısız ölümlerle sonuçlanacak bir yöntem seçilmelidir.
- Panik, ağrı, acı veya rahatsızlık olmaksızın ölüm şekillenmelidir.
- Bilinç en kısa sürede kapanmalıdır.
- Güvenilir ve uygulanabilir olmalıdır.
- Hayvanda istenmeyen fizyolojik ve psikolojik etkileri en az olmalıdır.
- Gözlemci ve uygulayıcılar üzerinde duygusal ya da psikolojik bir etki oluşturmamalıdır.

- Çevresel ve ekolojik etkileri en az olmalıdır.
- Deney hayvanı odalarından farklı bir ortamda gerçekleştirilmelidir.
- Yöntem her şeyden önce insancıl olmalıdır.
- Yöntem Yasa ve Etik Kurul tanımlamalarına uygun olmalıdır.
- Mutlaka deneyimli personel (aynı kişi/kişiler) tarafından yapılmalıdır.
- Kullanılan yöntem deney sonuçlarını değiştiren bir etkiye sahip olmamalıdır.
- Deney sonlanmasındaki ötenazi, deney koşullarına uygun zamanlamalarda yapılmalıdır.
- Ötenazi yapılacak hayvanların yaşı ve sayıları göz önüne alınmalıdır.

Ötenazi yöntemlerinden hayvanlara en az acı verecek ve minimum stres oluşturacak olanlara öncelik tanınmalıdır. Bu yöntemlerden özellikle dekapitasyon ve servikal dislokasyon gibi fiziksel ötenazi yöntemlerinin ciddi deneyim gerektirdiği unutulmamalıdır. Fiziksel ötenazi yöntemini uygulamak zorunda kalacak araştırmacılar, bu işlem için deneyimli kişilerden mutlaka yardım ve destek almalıdırlar. Çünkü bu tip bir yöntemin deneyimsiz bir araştırmacının elinde, çok olumsuz sonuçlara neden olacağı unutulmamalıdır. Bu nedenle, olanaklar ölçüsünde ve deneyin sonuçlarını eğer etkilemeyecekse, mutlaka kimyasal ötenazi tercih edilmelidir. Uygun bir kimyasal madde ile gerçekleştirilirse bu yöntemin diğer yöntemlere göre çok daha etik, güvenilir ve hayvan hakları ile refahına uygun olduğu da bir gerçektir.

Gündeme gelişinden bu yana geçen 60 yıllık süre içerisinde hayvan hakları ve hayvan refahında sağlanan gelişmeler ve ilerlemeler klasikleşmiş "3R Kuramı"na yeni eklemeler yapılması gereksinimini doğurmuştur. Bu yenilikler "**Rehabilitation**" ve "**Responsibility**" başlıkları altında toplanır.

Rehabilitation (Deney Sonrası Bakım)

Deneylerin bitiminden sonra hayatta kalan ve yaşamlarını sağlıklı olarak sürdüren hayvanlara

ölene değin bakılması ya da bakılması için sağlandığı kuruma geri verilmesi esasına dayanır. İnsanlar için, bilimsel çalışma, test ve bazı derslerin uygulamaları sırasında yaşamlarını feda eden deney hayvanlarından, sağlam ve sağlıklı kalan bireylerin, başka araştırmalarda kullanılmadan, ölene değin fizyolojik gereksinimlerinin ve refahlarının karşılıksız olarak sağlanarak bakılmaları şeklinde bir yaklaşım içerir. Bu yaklaşımın temelinde, canlı varlıkların işleri bitince ortadan kaldırılması gereken mekanik araçlar olmadığı ve her canlının yaşamına saygı duyulması gerektiği düşüncesi, yani “yaşama saygı” felsefesi yatmaktadır.

Responsibility (Sorumluluk)

Araştırmalarda ve kurslarda bilim insanlarının ve toplumun deney hayvanı kullanımı konusunda bilinçlendirilerek, duyarlılıklarının ve kişisel sorumluluklarının artırılması temeline dayanır. Bu sorumluluğun en önemli bölümünü de deneylerde kullanılan hayvanlara karşı gösterilmesi gereken etik duyarlılıklar oluşturur.

Artık “**5R Kuramı**” olarak da adlandırılacak ve her geçen gün yeni eklemeler yapılacak bu yaklaşımlara ek olarak deney hayvanları eğitimi verilen araştırmacıların çalıştıkları hayvanlara yönelik “**Empati**” yapmaları da birçok etik sorunun oluşumunu engelleyecektir.

Empati: Araştırmacının deney hayvanlarına bir eşya değil, canlı bir varlık olarak bakması ve bu hayvanları anlamaya çalışması olarak yorumlanabilen empatik yaklaşımın, araştırmacıların, hayvan refahına aykırı davranmalarına ciddi düzeyde engel olacağı düşünülmektedir. Laboratuvardaki hayvanları anlamaya çalışan araştırmacılar, zaman içerisinde hayvanları daha yakından tanıma olanağına kavuşurlar. Bu durum, çalışmalarda başarı oranlarını arttırabileceği gibi, bir yandan da hayvanlara karşı

duyulması gereken merhamet ve sorumluluk duygularını harekete geçirerek etik sorunların oluşumuna engel olur.

Bir Hayvan Deneyinin Yapılabilmesi İçin Yanıtlanması Gereken Etik Sorular:

- Hayvan deneyi bilimsel açıdan istenilen kalite kriterlerine sahip midir?
- Deney hayvanlarda ciddi yan etkiye neden olacaksa bu yan etkiler nelerdir?
- Alternatif yöntemler var mıdır?
- Hayvan sayısı en aza indirilmiş midir?
- Hayvanların içinde tutulduğu koşullar nelerdir?
- Deneyin önem derecesi yüksek mi yoksa sınırlı mıdır?
- Deney gerçek mi yoksa olası bir öneme mi sahiptir?
- Deneyin önemi, hayvanların uğradığı ciddi yan etkilere ya da ızdırap çekmelerine değecek midir?

Bir Hayvan Deneyinin Yapılabilmesi İçin Kabul Edilen Temel Etik Kriterler:

- Deney daha önce ayrıntılı olarak çalışılmışsa, tekrar yapılması uygun değildir.
- Deneyden çok kesin ya da etkili bir sonuç beklenmiyorsa, deney yapmaktan kaçınılmalıdır.
- Yeni bilgiler getirecek deneyler, etkileri kısa sürede görülmeyecek olsa bile, etik açıdan kabul edilebilir ve yapılmalıdır.
- Belli bir hayvan türü ile yapılmış bir deneyi, yeni bir beklenti olmadığı halde, yalnızca değişiklik olsun diye farklı ve ilgisiz bir hayvan türü ile tekrarlamak yanlıştır ve etik açıdan kabul edilemez.
- Deneyden beklenen yararlar, kullanılacak hayvanların çekeceği sıkıntıya değecek kadar önemli ise, bu deney yapılmalıdır.
- Deneyden bir yarar sağlanacaksa, deneyin maliyeti ve süresi dikkate alınmamalıdır.

- Yöntem olarak sağlam olmayan veya yöntemin hatalı olduğu belirlenen deneyler, etik olarak kabul edilemez.
 - Alternatif bir yöntem varsa ve bu daha pahalı bile olsa, hayvan kullanımı yasaklanmalıdır.
- a. Bilimsel amaçla hayvan kullanımı temelde hiç istenmemektedir.
 - b. Olanak varsa başka yöntemlerin kullanması daha uygundur.
 - c. Bugünkü olanaklarımızla deneylerde hayvan kullanımı kaçınılmazdır.

Etik Kurullar

Türkiye’de 5199 Sayılı “Hayvanları Koruma Kanunu”nun 2004 yılında kabul edilmesinden önce, 1996 yılından başlamak üzere sağlık bilimleri alanında deney hayvanı kullanarak eğitim vererek araştırma, test ve deneyler gerçekleştiren üniversiteler ve fakülteler bünyesinde birçok etik kurul yapılandırılarak faaliyete geçmiştir. Tüm bu etik kurullar 2004 yılında yukarıda bildirilen yasal düzenlemeye yönelik olarak kapatılmıştır. Yasa’da yer alan 9. Madde’deki “Hayvan deneyi yapan kurum ve kuruluşlarda bu deneylerin yapılmasına kendi bünyelerinde kurulmuş ve kurulacak etik kurullar yoluyla izin verilir” hükmü gereğince Ankara’da Tarım ve Köyişleri Bakanlığı’na bağlı olarak “Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu” meydana getirilerek ülke çapında yeni kurulan tüm “Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulları” bu merkeze bağlanarak faaliyete geçmiştir. Etik Kurullar çalışmalarında, deney hayvanlarının haklarını ve refahını, klasikleşmiş 3R Kuramı’nı temel alarak korumaya özen gösterirler.

Etik Kurullar; kurum ya da kuruluşlarda bulunan ve bilimsel araştırmalar, testler, tıbbi uygulamalar ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde deney hayvanı kullanılarak yapılacak işlemleri asgari etik ilkeler çerçevesinde değerlendirmeyi, görüş bildirmeyi, önerilen protokolleri incele-

meyi, çalışmalar için izin vermeyi, uygulamaların izlenmesini, deney hayvanları üzerinde yapılan bütün işlemlerin kayıt altına alınmasını ve bu işlemlerin anında ya da geriye dönük olarak izlenebilmelerini sağlayan ve bu alanda bilgi birikimi ile yetkiye sahip kişilerden oluşturulmuş kurullardır. Etik kurul onayından geçmemiş çalışmalara izin verilmez. Etik kuruldan izin alan çalışmaların bildirilen yöntem ve özellikle hayvan hakları ve hayvan refahına uygunluğu Kurul tarafından takip edilir ve gerekirse çalışma durdurulabilir ya da etik izninin iptali yoluna gidilebilir.

Ülkemizde; 5199 Sayılı “Hayvanları Koruma Kanunu”nun yanı sıra; 16/ 05/2004 tarihli “Deney Hayvanlarının Korunmasına Dair Yönetmelik” ile 13/ Aralık 2011 tarihli “Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik” ve en son 15 Şubat 2014 tarihli “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik” etik kurulların görev, yetki ve çalışma alanları ile deney hayvanlarının refah ve haklarının korunmasına yönelik olarak önemli hükümler içerir.

Kaynaklar

- Altuğ, T. (2000): Laboratuvar Hayvanları Ders Notları. (Yayınlanmamıştır). s.1-50. İstanbul.
- Anonim (2005): Biyoetik Terimleri Sözlüğü. Türkiye Felsefe Kurumu Derneği Yayınları. Ankara. s. 128-130.
- Anonymous (2013): Responsibility in the use of animals in bioscience research. Wellcome trust. UK. p. 1-24.
- Anonymous (1998): Encyclopedia of Animal Rights and Animal Welfare. Greenwood Press, Westport, Connecticut. USA. p. 1-446.
- Armutak, E., Yiğit, F. (2014): Laboratuvar Hayvanları Rehberi. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. s.1-80
- De Grazia, D. (2006): Hayvan Hakları. Dost Yayınları; Kültür Kitaplığı (Tercüme: Hakan Gür). Ankara. s. 147-173.
- Erk, N. (1978): Veteriner Tarihi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 352; Ders Kitabı: 251. İkinci Baskı. Ankara, s. 1-190.
- Mandal, J., Parija, S. C. (2013): Ethics of involving animals in research. Trop. Parasitol; 3(1): 4-6.
- Poyraz, Ö. (2000): Laboratuvar Hayvanları Bilimi. Karde-len Ofset Basımevi. Ankara. s.3-18.
- Ünder, H. (1996): Çevre Felsefesi: Etik ve Metafizik Görüşler. Doruk Yayınları, Ankara. s. 159-183.

Transgenik Hayvanların Ürolojide Kullanılması

5

GÜL BAKIRER ÖZTÜRK

Genomlarında farklı bir türün genlerini taşıyan hayvanlar transgenik olarak isimlendirilmektedir. Bu tanım bünyelerinden belirli biyolojik maddeler ürettirilen hayvanlar için biyofabrika olarak, insan hastalık modeli ya da talep edilen özellikleri geliştirilmiş hayvanlar için genetik olarak değiştirilmiş hayvanlar olarak da kullanılabilir.

Deney hayvanları başta olmak üzere hayvanların genetiği üzerinde değişiklik yapmanın amaçları şu şekilde özetlenebilir: rekombinant protein üretimi, tarımsal özellikleri üstün hayvan üretimi, insan hastalıklarının hayvanlarda modellenmesi, çeşitli hastalıklara dirençli hayvanların geliştirilmesi, çevre dostu çiftlik hayvanlarının oluşturulması ve ksenotransplantasyon çalışmaları (1,2,3).

1974 yılından itibaren gelişmeye başlayan transgenik hayvan teknolojisi bilim insanlarının ve kamuoyunun dikkatini çekmiştir. Geçen yıllar boyunca keçilerden antitrombin III ve örümcek ipeği proteinlerinin sentezlenmesi, aquasolmon üretimi gibi yakalanan başarılar ticari olarak istenilen başarıyı yakalayamasa da özellikle insan hastalık modellerinin hayvanlarda uygulanabilir hale gelmesi açısından büyük gelişme kaydedilmiştir (3,4,5).

Başlıca transgenik hayvan üretim yöntemleri pronükleer mikroenjeksiyon, embriyonik kök hücre manüplasyonları, somatik hücre nükleer transferi ve sperm aracılığı ile transgenезis olarak tanımlanmaktadır.

Pronükleer mikroenjeksiyon yönteminde in vitro ortamda döllenmiş embriyoların hayvan türüne göre saptanan zamanlarda oluşan dişi ve erkek pronükleuslarının birleşmeden önce mikroenjeksiyon tekniği ile genellikle daha büyük olan erkek pronükleusuna istenilen konsantrasyonlarındaki DNA moleküllerinin transfer edilmesidir. Embriyo in vitro ortamda transfer edileceği döneme kadar geliştirilip hayvanın taşıyıcı anneye transferi ve doğumu sağlanmaktadır. Birçok türde gerçekleştirilebilen, en çok kullanılan ve güvenilen yöntem olan pronükleer enjeksiyon yöntemi istenilen genin rastgele entegrasyonu oluşması dezavantajını taşımaktadır (2). Yine son yıllarda hedefli entegrasyona yönelik araştırmacılar CRISPR-Cas9 gibi yeni tekniklere yönelmişlerdir (6).

Embriyonik kök hücre manüplasyonları embriyonun blastokist dönemindeki iç hücre kitlesinden elde edilen embriyonik kök hücrelerin istenilen genler ile transfeksiyonu (elektroporasyon, kimyasal teknikler ya da virüsler aracılığı ile) sonrasında yine blastokistlere mik-

roenjeksiyon ile transfer edilmesi ve taşıyıcı annelere transferi şeklinde özetlenmektedir (1,2). Bu yöntemin dezavantajı ise kimerik embriyolar oluşumuna sebep olmasıdır.

Somatik hücre transferi klonlama yöntemidir. Bu yöntemde üretilmek istenen canlının somatik hücre çekirdeği çıkartılıp önceden çekirdeği alınmış yumurta hücresine transfer edilerek embriyonun gelişmesi, transferi ve doğunu amaçlanmaktadır. Bu noktada transgenik bir hayvanın üretimi transfer edilen çekirdeğin önceden istenilen gen ile transfekte edilmesine bağlıdır. 1996 yılında Dolly adlı klonun doğumu ile çiftlik hayvanlarında kanıtlanan bu yöntem ülkemizde 2007 yılında Birler ve ark. tarafından başarı ile gerçekleştirilmiştir (1,2,7).

Sperm aracılığı ile transgenesis yöntemi ile spermatozoonları DNA içeren solusyonlarda muamele ederek plazma membranlarına DNA tutunmasını sağlayıp in vitro fertilizasyon ya da sitoplazma içi sperm enjeksiyonu yapılarak yumurta hücrelerinin döllenmesi ve transgenik embriyoların türe özgü sürelerde embriyo gelişimlerinin beklenip taşıyıcı annelere transfer edilip yavrunun doğmasının sağlanmasıdır.

Tüm yöntemlerde elde edilen yavrularının genetik olarak istenilen geni içerip içermediği Southern blotting ve PCR teknikleri ile yapılmaktadır.



Resim 1. Bireysel havalandırma kafesi

Transgenik hayvanların kullanım ve bakım koşulları

Ülkemizde Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlar İçin Kullanılan Hayvanların Refah ve Korunmasına Dair Yönetmelik ile Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelikleri genetiği değiştirilmiş hayvanların kullanımı ve bakım koşulları ile ilgili ayrıntılı bilgiler sunmaktadır. Yine çalışma izni verilen deney hayvanı merkezleri Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı aracılığı ile bulunabilmektedir.

Deney hayvanları ile ilgili yönetmeliklere ek olarak transgenik hayvanlar özel bakım koşulları gerektirmektedir. Kısaca özetlemek gerekirse öncelikle ayrı havalandırmalı bir biçimde tutulmalı, hayvanlar taşıdıkları gen ne olursa olsun bireysel havalandırmalı kafeslerde barındırılmalı, kafes değişimleri özel güvenlik kabinlerinde steril olarak gerçekleştirilmeli, çalışmacılar hayvanları kullanmadan önce özel bir eğitim almalı, çalışma bittikten sonra hayvanların tüm atıkları çevreye DNA bulaşıklığı olmaması açısından bir krematoryumda yakılarak yok edilmelidir.

Transgenik hayvanlar üretimleri zor ve pahalı canlılardır. Bu yüzden kullanılmaları ve barındırılmaları esnasında tüm bu kurallara dikkat



Resim 2. Kül Fırını/Yakma Fırını

edilmelidir. Ülkemizde transgenik hayvanları üreten merkezler ile ithal eden firmalar bulunmaktadır. Dikkat edilmesi gereken en önemli nokta hayvanlar elimize ulaşmadan önce çalışılacak merkezin belirlenmesidir. Hayvanlar ile ilgili çalışmalar yapıldıktan sonra doku, kan, DNA, yumurta hücresi ve spermatozoa gibi saklanabilir materyaller için plan yapılması da iyi bir stratejidir. Bu amaçla biyobanka oluşturmak ilerde bu hayvanların kullanımı açısından üretim merkezlerinde kullanılan bir stratejidir. Ayrıca hayvanlar eğer damızlık olarak alınmış ise doğan yavrularda transgen kontrolü yapılması için planlamanın önceden yapılması tavsiye edilmektedir.

Ürolojide kullanılan bazı genetiği değiştirilmiş hayvan örnekleri

Ürolojide kullanılmış genetiği değiştirilmiş modellerin avantajları belirli gen ürünlerinin incelenmesine olanak vermeleri ile normal idrar kesesi fizyolojisi ile fonksiyon kaybının incelenmesine olanak sağlaması iken, en büyük dezavantajları pahallı ve uğraştırıcı üretimleri ile limitli yüzeysel geçerlilikleri ve düşük etyolojik geçerlilikleridir (8).

Aşırı Aktif İdrar Kesesi Çalışmaları

- Nöronal nitrik oksit sentaz knock out fare
Burnett ve arkadaşlarının 1997 yılında geliştirdikleri bu model toplam üretilen idrar miktarı değişmeksizin idrar sıklığını göstermektedir. Sıçanlarda intraveziküler olarak nitrikoksit radikalleri ya da nitrikoksit sentetaz inhibitörleri verildiğinde alt üriner sistemdeki fonksiyonlarındaki, idrar kesesi kapasitesindeki azalmaya ve kaslardaki kasılmaların artmasına bağlı değişiklikleri desteklemektedir.
- Uroplaktin knock out fareler
Uroplaktin IIIa ya da II knock out farelerde idrar kesesinin spontan aktivitesi ve intermik-

turasyon basıncında artma, kaçınılmaz olarak detrusor kasında kontraksiyonların oluşması gibi semptomlar gözlemlenmiştir.

- Prostaglandin reseptörü yönünden knock out fare
EP3 yönünden knock out farelerin genişlemiş idrar kesesi kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. İntravezikal olarak EP3 reseptör agonistleri verildiğinde bu hayvanların idrar kesesi aşırı aktivitesi sergilemedikleri görülmüştür.
- Pürinejik reseptörü yönünden knock out fare
P2X3 reseptörü yönünden knock out farelerde düşük idrar kesesi duyarlılığı, düşük üriner sıklık ve daha büyük atılım hacmi gözlemlenmiştir.
- Östrojen reseptörü knock out fare
ER β ya da ER α reseptörleri yönünden knock out farelerde normal farelerle kıyaslandıklarında boşaltım alışkanlıkları ya da diğer herhangi bir uyanık kontrol sistometri parametresi yönünden farklılık göstermemiştir.

Regucalsin proteinini fazla eksprese eden transgenik sıçan (Tg-RGN)

Vaz ve arkadaşlarının Tg-RGN sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada RGN'nin sıçan prostatında glikolitik metabolizmayı inhibe etme konusunda etkisinin olduğunu ve bunun düşük bir hücre proliferasyonu ile desteklendiğini yine bunun da RGN kaybının hiperglikolik profil predispoze edebileceğini bununla birlikte prostat hücrelerinde proliferasyonu desteklediği öne sürülmektedir (9).

Tip 1 Diyabetin genetik modelleri

Obez olmayan Diyabetik fare, Akita fare ve diyabete meyilli BiiBreeding sıçandır. Obez olmayan diyabetik farede şiddetli bir otoimmün tip

1 diyabet görülür. Akita faresinde otoimmünite olmadan insüline bağlı diyabet görülür ki bu da hayvanın insülin Z geninde dominant bir mutasyon taşıması sonucu olmaktadır. Biobreding sıçan ise spontan otoimmün tip 1 diyabetin görüldüğü bir modeldir. Daneshgari ve arkadaşları diyabetik üropatinin özellikle tip 1 diyabetik küçük deney hayvanlarında diyabetik idrar kesesi fonksiyon yetersiliği ile birlikte görüldüğünü ve bu hayvanlarla çalışmanın diyabetik üropatilerin incelenmesinde önemli bulgular sağlayacağını bildirmiştir (10).

Obesiteyle ilişkili strese bağlı idrar tutamama transgenik sıçan modeli

Wang ve arkadaşlarının Zucker zayıf (ZL) ve Zucker Şişman (ZF) sıçanlarda yaptıkları bir çalışmada ZF sıçanların insülin direncine bağlı olarak daha yüksek boşaltım sıklığı ve düşük noktasak sızdırma basıncına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Obesitenin üretral sfinktere intramiyosellüler yağ nedeniyle zarar verdiği bunun atrofiye ve üretral kaslarda distorsiyona neden olduğu, ZF sıçanların obesiteyle ilişkili üriner idrar tutmama için ideal bir model olduğu bildirilmiştir (11).

MCP-1 Eksprese eden transgenik fare

Xu ve arkadaşlarının geliştirdiği MCP-1 eksprese eden transgenik fare modelinde URO-MCP-1 farelerin LPS gibi idrar kesesi iritanlarına karşı duyarlı olduğu ve sistit indüksiyonu sonrasında pelvik ağrı ve boşaltım disfonksiyonu geliştirdiği ve buna bağlı bu hastalığın incelenmesi için değerli bir model olduğu gösterilmiştir (12).

Prostat kanseri modelleri genetiği değiştirilmiş hayvanlar

Nawijn ve arkadaşlarının yaptığı derlemede prostat kanserinin genetik fare modellerinin

tek gen, onkogen, tümör baskılayıcı genler ve çok gen lezyonlarının birleşimi şeklinde üretildiklerini, yüksek düzeyde prostatik intra epitelial neoplazi lezyonları ile lokal invaziv prostat kanserinin incelenmesi için paha biçilemez yararlılıkta olduğunu saptamıştır (13).

Luciferaz transgenik fare

Hsieh ve arkadaşlarının prostat gelişimi androjene cevabının canlı hayvanlarda izlenmesi için geliştirdikleri bir luciferaz transgenik fare modelinde ateşböceği luciferaz geni ile prostat spesifik antijen promotörü ile hedeflenmiştir. Bu sayede prostatın postnatal gelişimi, involusyonu ve prostat gelişiminin androjene bağlı restorasyonu biyoillüminesans görüntüleme teknikleri ile gözlemlenebilmiştir (14).

Transgenik hayvanları seçimi

En çok kullanılan modeller fare üzerine olduğundan hayvan seçimleri ya da üretilmek istenen transgenik hayvanın hali hazırda üretilmiş olup olmadığını İnsan-Fare hastalık bağlantısı (Mouse Human Disease Connection) arama sitesinden kontrol edebilirsiniz. Bilinen gen ya da bakılmak istenilen hastalık adı yazıldığında modelin bulunduğu ya da satıldığı merkez otomatik olarak bulunmaktadır (15).

Uluslararası bir dernek olan "International Society for Transgenic Technologies"den rodentler dışındaki diğer transgenik hayvan kaynakları ile ilgili bilgi edinilebilir (16).

Kaynaklar

1. Houdebine LM. Transgenic Animal models in Biomedical Research. Totowa: Humana press; 2007. p163-202.
2. Blanco J, Ratanpara S. Transgenic Animals An Interactive Qualifying Project Report submitted to the Faculty of Worcester Polytechnic Institute. 2012 IQP-43-DSA-9353.

3. Niemann H, Kues W, Carnwath JW. Transgenic Farm Animals; present and future. *Rev. Sci.tech.Off. int. Epiz.* 2005;24(1):285-298.
4. Keefer C. Production of bioproducts through the use of transgenic animal models. *Anim.Reprod.Sci.* 2004;82-83:5-12.
5. Bağış H. Transgenik biyoreaktörlerde rekombinant proteinlerin üretimi. *J.Fac.Vet.Med.Univ.İstanbul.* 2002;28 (1):113-123.
6. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 2014;346(6213):1077.
7. Birlir S, Pabuccuoğlu S, Demir K, Cirit U, Karaman E, Bacinoğlu S et al. Production of Cloned Lambs: Transfer of Early Cleavage Stage Embryos to Final Recipients *J. Fac. Vet. Med. İstanbul Univ.*2010;36 (1), 1-8.
8. Parsons BA, Drake MJ. Animal models of overactive Bladder research. *Urinary Tract.* Springer;2011. P 15-43.
9. Vaz CV, Marques R, Cardoso HJ, Maia CJ, Socorro S. Suppressed glycolytic metabolism in the prostate of transgenic rats overexpressing calcium-binding protein regucalcin underpins reduced cell proliferation. *Transgenic Res.* 2016; 25,139-148.
10. Daneshgari F, Leither EH, Liu G, Reeder J. Animal models of Diabetic uropathy. *The Journal of Urology* 2009; 182, S8-S13.
11. Wang L,Lin G, Lee YC, Reed-Maldonado A, Sanford MT,Wang G et al. Transgenic animal model for studying the mechanism of obesity-associated stres urinary incontinence. *BJUI* 2016;119,317-324.
12. Xu S, Wang X, Wang Y, Lutgendorf S, Bradley C, Schrepf A et al. Transgenic Mice Expressing MCP-1 by the Urothelium Demonstrate bladder Hypersensitivity, pelvic pain and Voiding Dysfunction; A Multidisciplinary Approach to the study of chronic pelvic pain research network animal model study. *Plos one* 2016;1-13.
13. Nawijn M, Bergman AM, van der Poel HG Genetically Engineered Models of Prostate Cancer.*European Association of Urology.* 2008; 7, 566-575.
14. Hsieh CL, Xie Z, Liu ZY, Green JE, Martin WD, Datta MW et al. A luciferase transgenic Mouse model; visualisation of prostate development and its androgen responsiveness in live animals. *Journal of Molecular Endocrinology* 2005;35,293-304.
15. <http://www.informatics.jax.org/humanDisease.shtml>
16. <https://www.transtechsociety.org/index.php?submenu=GENRA&src=gendocs&ref=LivestockandNonrodents&category=Main>

KISIM 2

ÜROONKOLOJİDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Asif YILDIRIM

Prostat Kanseri

6

Özgür EFİLOĞLU, Turgay TURAN, Asif YILDIRIM

Prostat kanseri (PCa) erkeklerde en sık teşhis edilen ikinci kanser olup 2012 yılında dünya genelinde yaklaşık 1,1 milyon erkeğe prostat kanseri tanısı konmuştur. Bu tüm kanserlerin %15'ine denk gelmektedir.

Hayvan modelleri, özellikle fare modelleri, insan prostat kanserinin etiyolojisi, önlenmesi ve tedavisi çalışmalarında merkezi bir rol oynamaktadır. Doku kültürü modelleri PCa'nin bi-

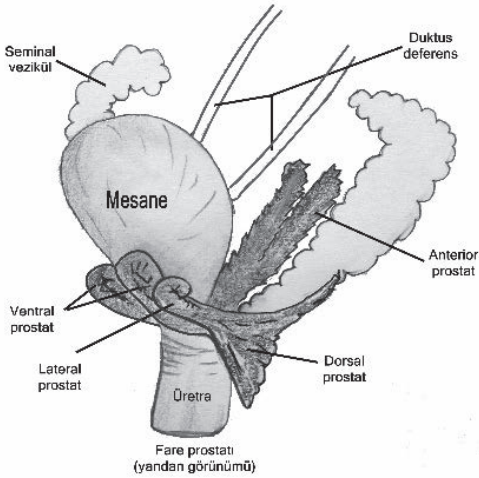
yolojisini anlamada son derece faydalı olsa da kanser başlangıcında ve ilerlemesinde önemli bir rol oynayan tümör mikro çevresindeki karmaşık hücresel etkileşimleri tekrarlayamazlar.

Fare prostat anatomisi

Fare prostatı, insan gibi üretral kanala sahiptir ancak peritoneal boşluğa bitişik ve peritoneal bir astar içinde dört ayrı lob olarak bulunur (Şekil 1). Anterior, dorsal, lateral ve ventral prostat lobları, farede sağda ve solda çift olarak bulunur ve her biri ayrı bir anatomiye ve histolojiye sahiptir.

Mikroskopik seviyede, fare ve insan prostatı daha benzer hale gelir. Fibromusküler stroma farelerde insandan daha az belirgin olarak epitelyum bezlerini kuşatır. Epitelyal hücre bölmesi, bazal ve luminal hücrelerden oluşan iki hücre katmanından oluşur. Epitelyal hücrelerin yanı sıra dağınık nöroendokrin hücreler vardır.

İnsan PCa'nin çoğunluğu, prostattaki dokunun yaklaşık %75'ini oluşturan periferik bölgede bulunur. Farelerdeki dorsolateral lob, insan periferik bölgesine en benzer bölge olarak tanımlanmıştır, ancak fare lobları ve insan prostatın herhangi bir bölgesi arasında doğrudan bir



Şekil 1. Fare prostatı

ilişki olmadığı saptanmıştır. Farelerde bulunan kanser metastazları, mezenkimal hücrelerden kaynaklanma eğilimi gösterirken, insan metastazları, özellikle PCa'inde epitelyal hücrelerden kaynaklanır.

Genetiği değiştirilmiş fare modellerinde (GEM) prostat lezyonlarının sınıflandırılması:

Adenokarsinom:

İnvaziv karsinom fokal glandüler farklılaşma gösteren atipik hücrelerin infiltratif büyüme paterni ile tanınabilmektedir. Farelerde, bu genellikle bol fibrotik stroma ile karakterize olan stromal desmoplazi ile ilişkilidir. Fibrotik stromada genellikle artmış iğsi şekilli hücrelerin (fibroblastlar ve/veya miyofibroblastlar) yanı sıra kronik inflamatuvar hücrelerin sayısı da artmıştır. GEM modellerinde en invaziv karsinomlar adenokarsinomlardır. Farelerde adenokarsinomlar sıklıkla insan PCa'lerinde nadir görülen skuamöz veya müsinöz farklılaşmaya sahiptir.

Sarkomatoid karsinom:

Özellikle saldırgan davranış gösteren GEM modelleri, adenokarsinom içinde fokal veya geniş sarkomatoid farklılaşmalar göstermektedir. Bu, insan patolojisinde olduğu gibi invaziv adenokarsinom ile karıştırılmış veya bitişik olan yüksek oranda atipik iğsi hücrelerin mevcudiyeti ile karakterizedir.

Nöroendokrin (NE) karsinom:

İnsan prostatik adenokarsinomunda fokal nöroendokrin farklılaşma yaygın olarak izlenir. GEM fare modellerinde nöroendokrin karsinomlar hızlı büyüme ve metastaz ile ilişkilidir ve insan nöroendokrin PCa'inde olduğu gibi oldukça öldürücüdür. Genellikle TRAMP (Transgenik Adenokarsinom Fare Prostat) farelerinde

görülürler ve diğer GEM'e çaprazlanırlar. Bunlar en yaygın metastatik ve agresif fare PCa'leridir.

Metastatik ve kastrasyon dirençli prostat kanseri:

PCa'inde morbidite ve mortalitenin önemli bir nedeni iskelet metastazıdır. Kemik metastazının patogenezi ilgili hayvan modellerinin eksikliği nedeniyle yeterince anlaşılmamıştır. Androjenler PCa onkogenezi ve progresyonunda önemli rol oynarlar, bu nedenle androjen ablasyon tedavisi (cerrahi veya medikal kastrasyon) tedavinin standartıdır. Bununla birlikte, çoğu PCa vakası sonunda PCa ile ilişkili ölümün ana nedeni olan kastrasyona dirençli PCa (CRPC) haline gelir. Bu nedenle, PCa gelişimi ve metastaz ilerlemesini anlamak için yeni PCa hayvan modellerinin geliştirilmesi gereklidir. Nöroendokrin tümörler visseral organlara, beyin ve omuriliğe metastaz yaparlar ve farklı olarak litik kemik lezyonları da oluştururlar. Uzak metastaz geliştiren sınırlı GEM modeli vardır. Bu metastatik lezyonlar lenf nodları ve akciğerler gibi visseral organlarda meydana gelme eğilimindedir ve büyük ölçüde NE ve sarkomatoid karsinomlardır.

PCa genellikle androjen reseptörü (AR) sinyaline bağımlı olduğundan, ilerlemiş PCa androjen baskılama tedavisi (ADT) ile tedavi edilir ve bir süre boyunca başarılı olur. Çoğu hastada hastalık tekrarlar ve kastrasyon dirençli prostat kanserine ilerler. GEM'de ADT modellemesinde orşiektomi (cerrahi kastrasyon), androjen reseptör veya androjen biyosentezinin farmakolojik inhibitörleri kullanılır. GEM'de CRPC'ini modellemek için ADT sonrası yerleşmiş tümörün gerilemesi ve bunu takiben tümörün yeniden büyümesi veya nüksü gösterilmelidir. Transgen ekspresyonunu (probasin ve Nkx3.1 promotörleri gibi) tetiklemek için kullanılan promotörlerin kendileri androjenle düzenlenir. Bu nedenle, bu promotörleri kullanan farelerde

ADT'yi takiben tümör regresyonu dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır.

Prostat kanseri fare modelleri:

PCa'nin fare modelleri iki kategoride incelenebilir; genetik olarak tasarlanmış fare (GEM) modelleri ve ksenograft modelleri.

GEM modelleri:

Bu modeller insan prostat kanserini taklit eden genetik lezyonları yaratmak için probasin veya diğer prostat spesifik promoterler yoluyla onkojenlerin kısıtlı ekspresyonunu veya Cre rekombinazı (tümör süpresörlerini inaktive etmek için) kullanmaktadır. GEM modellerin önemli bir avantajı, tümör progresyonunda preinvaziv lezyonlardan başlayıp invaziv lezyona geçiş sürecini göstermesi ve metastatik lezyonları tamamen sağlam bir immün sistemi içeren prostatik mikro çevrede yansıtabilmesidir. Bu modellerin başlıca dezavantajı, model fenotipleri etkileyebilen insan ve fare prostatlarında önemli biyolojik farklılıklar olmasıdır. GEM modellerinde karsinogenez genellikle cinsel olgunlaşma zamanında başlatılır ve tümör mikro çevresindeki yaşlanma ile ilişkili değişiklikler insan PCa'ine benzememektedir. Kimyasal olarak aktifleştirilmiş Cre-rekombinaz kullanan yeni nesil modeller, daha sonraki zamanlarda karsinogenezin aktivasyonuna izin verebilir, fare prostat stromasında yaşlanma ile ilgili değişikliklerin insanlarda görülenlerle daha benzer hale getirilir. GEM modelleri ayrıca, ksenograft modellerine kıyasla daha yüksek maliyetlere ve daha uzun zamana ihtiyaç duyar.

TRAMP modeli:

Bu modelde hem büyük hem de küçük Simian Virus 40 (SV40) tümör antijenlerinin ekspresyonu, prostat spesifik sıçan probasin promoteri (PB) tarafından düzenlenmiştir. TRAMP uzak

organ metastazlarını sergileyen (nadiren iskelet sistemi metastazı) ilk fare modelidir. Aynı zamanda kastrasyona dirençli hastalığı gösteren ilk GEM'dir. Bu model 28 haftada prostat kanserine hızlı ilerleme, %100 lenf nodu metastazı ve %67 akciğer metastazı ile karakterizedir.

LADY modeli:

Bu modelde büyük PB promoteri (LPB) SV40 Large T-antijeni ve Tag1 eksprese etmektedir. Küçük T-antijeni olmaması TRAMP'tan başlıca farkıdır. Yedi transgenik hat oluşturulmuş ve neoplazi evresine hücrelerin ne kadar hızlı geldiğine bağlı olarak üç gruba ayrılmıştır. En hızlı yol 12T-7f olarak belirlenmiştir. 12T-7f ileri evre adenokarsinomu geliştiren tek yoldur. Kanseri hiperplazi olarak küçük bir odakta başlar, ardından hiperplazi, displazi, HGPIN ve nihayetinde adenokarsinom oluşturmaktadır. PCa'nin çeşitli aşamalarını incelemek için ideal bir modeli temsil etmektedir. Bazı fareler 12T-10 hattında lenf nodlarına, karaciğere ve akciğere metastaz geliştirmişlerdir, ancak bu hat daha fazla nöroendokrin fenotip göstermiştir.

C-Myc Onkogeni aşırı ekspresyonuna dayalı fare modeli:

Hücre proliferasyonunu ve apoptozu düzenlediği bilinen transkripsiyon faktörü c-Myc prostat kanserinde sıklıkla aşırı eksprese edilir. Prostatta c-Myc aşırı ekspresyonu sonucunu belirlemek için C3 (1)-c-Myc, ARR2PB-Myc ve probasin-Myc transgenik fare soyları oluşturulmuştur. C3 (1)-c-Myc transgenik farelerinin ventral prostat epitel hücrelerinde c-Myc'in aşırı ekspresyonu farelerin ömrü boyunca adenokarsinomaya ilerlemeyen düşük grade prostatik intraepitelyal neoplazileri (PIN) oluşturmaktadır. PIN lezyonları ARR2PB-Myc farelerinde 2 haftalıkken ortaya çıkar ve bu lezyonlar 3-6 aylıkken invaziv adenokarsinomalara iler-

lemektedir. Pb-Myc fareleri benzer patolojik değişiklikler daha yavaş geliştirir. ARR2PB-Myc ve Pb-Myc fareleri viral olmayan bir onkogeni eksprese ettikleri ve nöroendokrin karsinomu olmayan invaziv adenokarsinom geliştirdikleri için SV40 T antijenini eksprese edenlere göre avantajlıdır ancak, metastaz oluşturmazlar.

TMPRSS: ERG füzyon genli transgenik fareler:

Erkek seks hormonu androjeni tarafından regüle edilen TMPRSS2 ve potansiyel bir onkogen olan ERG, kromozom 21 üzerinde birbirine yakın olarak yer almaktadır. Füzyon yapıldığında TMPRSS2, ERG geninin aşırı ekspresyonunu çalıştırmaktadır. Genlerin füzyonunda, TMPRSS2'nin kodlanmamış ekson 1'i, ERG'nin ekzon 2'sinin yanına yerleştirilmekte ve bu da kesilmiş bir ERG ürünü oluşturmaktadır. Bu ERG ürünü ARR2PB promoterinin kontrolü altına alan bir fare modelinde fareler, 12-14 haftalıkken yaklaşık %38'lik bir sıklıkta PIN geliştirmektedir. Eş zamanlı TMPRSS2-ERG ekspresyonunun ve PTEN kaybının veya PI3K yolunun aktivasyonunun, daha erken yaşta ortaya çıkan daha saldırgan bir PIN ile sonuçlanmaktadır. Heterozigot PTEN ifadesi ile birleştirilmiş transgenik ERG ekspresyonunun farelerde invaziv prostat adenokarsinomuna neden olduğunu gösterilmiştir.

Büyüme faktörleri ve büyüme faktörü reseptörlerine dayalı fare modelleri:

Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ailesinin bir üyesi olan HER2/Neu (ErbB2) reseptörünün probasin gen promoteri tarafından aktive edilen transgenik fare modelleri geliştirilmiştir. Bu fareler, prostatik atipik hiperplazi, ardından PIN ve invaziv karsinomu geliştirmektedir. Nöroendokrin orijinli değildirler. Fib-

roblast büyüme faktörü, 8-izoform b (FGF8b), hormona dirençli PCa dahil olmak üzere insan klinik seks-organ-bağlantılı kanserlerde yüksek ekspresyon göstermektedir. ARR2PB promoterinin kontrolü altında FGF8b'yi aşırı eksprese eden transgenik fareler, multifokal epitelyal hiperplazi ve yüksek dereceli PIN'i geliştirdi, ancak lokal invazyon veya metastaz oluşturmamaktadırlar. FGF7'yi aşırı eksprese eden transgenik fareler, 12 aydan sonra prostat epitelyal hiperplazisi geliştirir ve bunlarda invaziv karsinomaya ilerlemezler. Transforme büyüme faktörü reseptörü beta (TGFbeta), IGF 1, keratinosit ve EGF'lerle de transgenik modeller geliştirilmiştir.

p53 mutasyon modeli:

P53 insan tümörlerinde en sık mutasyona uğramış tümör baskılayıcı genidir. p53'ün tek başına delesyonu prostatta tümör oluşturmamaktadır. Ancak kombine homozigot PTEN ve p53 delesyonu tek başına PTEN delesyonundan anlamlı derecede daha penetran ve hızla gelişen prostat kanserine yol açtığını gösterilmiştir. PTEN/p53'ün homozigot delesyonlu 7 aylık farede sarkomatoid karsinom üretilebilmiştir.

Retinoblastom (Rb) modeli:

Retinoblastoma tümör baskılayıcı geni insanda 13. kromozom uzun kolunda bulunur ve PCa'ı ile ilişkilidir. Rb tek başına (*PBCreRbf lox*) kaybı, preinvaziv lezyonları düşündüren, bazal membranın bütünlüğü kaybı ile birlikte hiperplazi ile sonuçlanmaktadır. Ancak Rb/p53 birlikte kaybında (*PBCre4Rbf loxp53f lox*) metastatik karsinom ortaya çıkmaktadır.

PTEN modeli:

10. kromozomdan silinen fosfataz ve tensin homoloğu, bir tümör baskılayıcıdır ve bunun kaybı primer prostat kanserinin %35'i ve metas-

atik dokuların %63'ü ile bağlantılıdır. PTEN'in farelerdeki iki alleldeki ablasyonu, embriyonik dönemde ölüm ile sonuçlanır ve null mutantlar kullanılarak prostat kanserinde PTEN fonksiyonunun analizini engeller. Bununla birlikte, heterozigot mutant (PTEN +/-) fareleri, bağırsaklar, lenfoid hücreler, meme, tiroid, endometriyal ve adrenal bezler dahil olmak üzere çoklu dokularda neoplazi geliştirir. Farelerde, PTEN'in bir allelinin kaybı, prostatta yüksek dereceli PIN'in gelişimi ve PTEN'in koşullu kaybı, bazı hayvanlarda lenf düğümlerine ve akciğere metastaz yapan invaziv prostat kanseri ile ilişkilidir. PTEN kaybının insan prostat kanserlerinde gözlenen diğer genetik anormallikler ile birleştirilmesi birkaç hastalık modeline yol açmıştır. PTEN/p53 birleşimi farelerde agresif prostat kanserini geliştirir. Nkx3.1/PTEN birleşik mutant fareleri, androjen bağımsız prostat kanseri geliştirir.

Ksenograft modelleri:

Ksenograft modellerinde insan PCa hücreleri immün sistemi baskılanmış farelere subkütan veya prostata ortotopik olarak enjekte edilerek implante edilir. Ortotopik modeller prostat mikro çevresinde büyüme avantajına sahiptir ve yüksek oranlarda metastaz oluştururlar. Doku rekombinasyon modelleri olarak bilinen ikinci bir ksenograft model sınıfında, immün sistemi baskılanmış farelerde deri altından veya renal kapsülün altına yerleştirilen mezenkimal hücrelerle birleştirilmiş epitelyal hücreler kullanılır. Bu modellerde epitelyal ve/veya stromal bölüm, genetik lezyonları ve kök hücreleri fare veya insan prostat dokularından dönüştürülen parakrin sinyallerini tanımlamak için genetik olarak manipüle edilebilir.

Fare PCa ksenograftları, sinjeneik, immün sistemi olan konakçı farelerde fare PCa hücrelerinden oluşturulabilir. Bu fare ksenograftları, tümör progresyonu ve terapötik dirençte tümör mikro çevresindeki bağışıklık hücrelerinin rolü-

nü araştırmak için yararlıdır. Bu tür modellerin önemli bir dezavantajı, neredeyse tamamı ilerlemiş kanserlerden türedikleri için davranışları daha az agresif lezyonları yansıtmayabilirler. Tümör mikro çevresi, lokasyon (deri altı veya böbrek kapsülü) ve konakçı bağışıklık sisteminin anormalliklerine bağlı olarak değişiklik gösterir.

Ksenograft modellerinde yaygın kullanılan hücre dizileri:

Prostat ksenograft modelleri için en yaygın kullanılan hücre dizileri LNCaP, PC3 ve DU145'tir. LNCaP lenf nodu metastazından türetilen androjene duyarlı bir insan PCa hücre dizisidir. LNCaP hücrelerinin mutasyona uğramış bir androjen reseptörüne (AR) sahip olduğu bilinmektedir. Tümör oluşturma gücü, atimik nude farelerde oldukça zayıf olmasına rağmen, LNCaP subgruplarını yaratmak için kullanılmıştır. Prostat içine implantasyondan sonra, LNCaP-LN3 hücrelerinin bölgesel lenf nodu metastazlarının daha sık olduğu saptanmıştır. Intrasplenik implantasyondan sonra LNCaP-LN3 hücreleri karaciğer metastazı yapmıştır. PC3 hücre dizisi, insan prostatik adenokarsinom kökenli bir kemik metastazından türetilmiştir.

İntravenöz PC3 enjeksiyonu lenf nodu metastazına neden olur. PC-3M hücreleri, PC3'ün metastaz türevi varyantıdır. DU145 ise PC3 hücrelerine kıyasla daha az metastatik potansiyele sahiptir ve insan Pca kökenli beyin metastazından türetilmiştir.

Hücre dizisi ksenograft modelleri:

İnsan prostat kanseri için klasik modeller, hücre kültürü ortamında üretilmiş prostat kanseri hücrelerinin (LNCaP, PC3 veya DU145) immün yetersizliği olan farelere enjeksiyonu ile oluşturulan ksenograftlardır. Bu tür hücre dizisi kse-

nograft modelleri temel çalışmalar için değerlidir. Ancak klinikte antikanser ilaç etkinliğini ortaya koymada sınırlı kabiliyete sahiptirler. Bu durum orijin aldıkları kanserlerin heterojenliğine zıt olarak, in vitro düzeyde prostat kanseri hücre dizilerinin artan homojenitesine bağlı olabilir. Ayrıca, hücre dizisi ksenograftları nadiren, hücre dizilerinin türetildiği orijinal kanser örneklerinin doku mimarisine sahiptir ve sonuç olarak kanser hücrelerinin ve bunların mikro çevrelerinin çeşitli bileşenlerinin karmaşık biyokimyasal ve fiziksel etkileşimlerini doğru şekilde temsil etmemektedirler.

Kanser dokusu ksenograft modelleri:

Taze kanser doku örneklerinin immün yetmezliği olan farelere doğrudan implantasyonuna dayanan, hasta kaynaklı kanser dokusu ksenograft modelleri daha gerçekçi prelinik modeller sağlamaktadır. Bu tür ksenograftlar orijinal kanserin ve mikro çevresinin hücresel heterojenliğini, yapısal ve moleküler özelliklerini taşırlar. Bununla birlikte, kanser dokusunun başarılı bir şekilde aşılması, seçilen graft bölgesinin türüne bağlıdır. İmmün yetmezliği olan farelerde üç graft bölgesi esas olarak kullanılır. Bunlar subkutan, ortotopik ve subrenal kapsüllerdir.

Subkutan ksenograftlar:

Subkutan modellerinin avantajları tümör oluşturma, yönetim ve tekrarlanabilirlik kolaylığıdır. Bununla birlikte, konvansiyonel subkutan ksenograftlar metastaz oluşturmamaktadır.

Subrenal kapsüller ksenograftlar:

Fare ürogenital sinüs mezenkimal hücreleri ile PCa hücrelerinin yeniden birleştirilmesi ve daha sonra büyümeyi ve diğer fenotipleri değerlendirmek için böbrek kapsülünün altına

bu rekombinant dokuyu nakletme işlemidir. Önemli bir avantajı böbreğin yüksek vaskülarizasyonu nedeniyle yüksek kan akımı sağlanmasıdır. Yüksek graft perfüzyonu nakledilen hücreler ve dokulara (vaskülarize edilmeden önce) besinlerin, hormonların, büyüme faktörlerinin ve oksijenin bol miktarda ulaşması ve aşılamanın başarısı için büyük öneme sahiptir.

Ortotopik ksenograftlar:

Ortotopik graft alanı orijinal kanserinkine benzer bir mikro çevre sağlarken, prostat kanseri dokusunun spontan metastatik kabiliyetini test etmek için teorik olarak ideal graft bölgesidir. Ancak uygulanan cerrahi prosedür diğerlerine göre daha zordur. Ek olarak, ortotopik bölge sınırlı bir ksenograft taşıma kapasitesine sahiptir ve bu da kullanımını ciddi ölçüde kısıtlar.

Fare dışı hayvan modelleri:

PCa köpeklerde ve bazı sıçanlarda doğal olarak görülmektedir. Köpekler PCa özellikleri açısından insanlara en çok benzeyen canlıdır. Köpeklerde PCa vakalarının %24'ünde osteoblastik bir şekilde kemiğe metastaz yapar. Köpeklerde de PCa'ı yaşa bağımlıdır. Köpekler ideal bir model gibi görünebilir, ancak kullanımlarında sınırlamalar vardır. PCa'ı hadım edilmiş köpeklerde azalmaz, bu da tümör büyümesinin androjen bağımlı olmadığını gösterir. Köpeklerde nispeten uzun bir büyüme süreci vardır. Yüksek maliyet, uzun gebelik süresi ve genetik manipülasyonun zorluğu, köpeği gerçekçi olmayan deneysel bir model haline getirmektedir. Dunning, Kopenhag ve Wistar sıçanları dahil olmak üzere birçok sıçan türü iyi karakterize edilmiş ve prostatta geniş bir yelpazede kanser fenotipleri geliştirilmiştir. Ancak tümörlerin nadir görülmesi, fenotiplerdeki değişkenlik, uzun latens süreleri ve metastaz eksikliği nedeniyle bunların model olarak kullanılma olasılığı düşüktür.

Kaynaklar

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M et al: Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International journal of cancer* 2015, 136(5).
2. Grabowska MM, DeGraff DJ, Yu X, Jin RJ, Chen Z, Borowsky AD et al: Mouse models of prostate cancer: picking the best model for the question. *Cancer and Metastasis Reviews* 2014, 33(2-3):377-397.
3. Shappell SB, Thomas GV, Roberts RL, Herbert R, Ittmann MM, Rubin MA et al: Prostate pathology of genetically engineered mice: definitions and classification. The consensus report from the Bar Harbor meeting of the Mouse Models of Human Cancer Consortium Prostate Pathology Committee. In: *AACR*; 2004.
4. DePinho RA: The age of cancer. *Nature* 2000, 408(6809):248-254.
5. Ittmann M, Huang J, Radaelli E, Martin P, Signoretti S, Sullivan R et al: Animal models of human prostate cancer: the consensus report of the New York meeting of the Mouse Models of Human Cancers Consortium Prostate Pathology Committee. *Cancer research* 2013, 73(9):2718-2736.
6. Wu X, Gong S, Roy-Burman P, Lee P, Culig Z: Current mouse and cell models in prostate cancer research. *Endocrine-related cancer* 2013, 20(4):R155-R170.
7. Palmgren JS, Karavadia SS, Wakefield MR: Unusual and underappreciated: small cell carcinoma of the prostate. *Seminars in oncology* 2007, 34(1):22-29.
8. Bavik C, Coleman I, Dean JP, Knudsen B, Plymate S, Nelson PS: The gene expression program of prostate fibroblast senescence modulates neoplastic epithelial cell proliferation through paracrine mechanisms. *Cancer research* 2006, 66(2):794-802.
9. Bianchi-Frias D, Vakar-Lopez F, Coleman IM, Plymate SR, Reed MJ, Nelson PS: The effects of aging on the molecular and cellular composition of the prostate microenvironment. *PLoS one* 2010, 5(9):e12501.
10. Valkenburg KC, Williams BO: Mouse models of prostate cancer. *Prostate cancer* 2011, 2011.
11. Gingrich JR, Barrios RJ, Morton RA, Boyce BF, DeMayo FJ, Finegold MJ et al: Metastatic prostate cancer in a transgenic mouse. *Cancer Res* 1996, 56(18):4096-4102.
12. Masumori N, Thomas TZ, Chaurand P, Case T, Paul M, Kasper S et al: A probasin-large T antigen transgenic mouse line develops prostate adenocarcinoma and neuroendocrine carcinoma with metastatic potential. *Cancer Res* 2001, 61(5):2239-2249.
13. Parisotto M, Metzger D: Genetically engineered mouse models of prostate cancer. *Molecular oncology* 2013, 7(2):190-205.
14. Tomlins SA, Laxman B, Varambally S, Cao X, Yu J, Helgeson BE et al: Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Neoplasia* (New York, NY) 2008, 10(2):177-188.
15. Carver BS, Tran J, Gopalan A, Chen Z, Shaikh S, Carcacedo A et al: Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. *Nature genetics* 2009, 41(5):619-624.
16. Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, Lin HK, Dotan ZA, Niki M et al: Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 2005, 436(7051):725-730.
17. Maddison LA, Sutherland BW, Barrios RJ, Greenberg NM: Conditional deletion of Rb causes early stage prostate cancer. *Cancer Res* 2004, 64(17):6018-6025.
18. Zhou Z, Flesken-Nikitin A, Corney DC, Wang W, Goodrich DW, Roy-Burman P et al: Synergy of p53 and Rb deficiency in a conditional mouse model for metastatic prostate cancer. *Cancer Res* 2006, 66(16):7889-7898.
19. Wang S, Gao J, Lei Q, Rozengurt N, Pritchard C, Jiao J et al: Prostate-specific deletion of the murine Pten tumor suppressor gene leads to metastatic prostate cancer. *Cancer cell* 2003, 4(3):209-221.
20. Banach-Petrosky W, Jessen WJ, Ouyang X, Gao H, Rao J, Quinn J et al: Prolonged exposure to reduced levels of androgen accelerates prostate cancer progression in Nkx3.1; Pten mutant mice. *Cancer Res* 2007, 67(19):9089-9096.
21. Ammirante M, Luo J-L, Grivnenikov S, Nedospasov S, Karin M: B-cell-derived lymphotoxin promotes castration-resistant prostate cancer. *Nature* 2010, 464(7286):302.
22. Voskoglou-Nomikos T, Pater JL, Seymour L: Clinical predictive value of the in vitro cell line, human xenograft, and mouse allograft preclinical cancer models. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2003, 9(11):4227-4239.
23. Lin D, Xue H, Wang Y, Wu R, Watahiki A, Dong X et al: Next generation patient-derived prostate cancer xenograft models. *Asian journal of andrology* 2014, 16(3):407-412.
24. Garber K: From human to mouse and back: 'tumorgraft' models surge in popularity. *Journal of the National Cancer Institute* 2009, 101(1):6-8.
25. Kerbel RS: Human tumor xenografts as predictive preclinical models for anticancer drug activity in humans: better than commonly perceived-but they can be improved. *Cancer biology & therapy* 2003, 2(4 Suppl 1):S134-139.
26. Xin L, Ide H, Kim Y, Dubey P, Witte ON: In vivo regeneration of murine prostate from dissociated cell populations of postnatal epithelia and urogenital sinus mesenchyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003, 100 Suppl 1:11896-11903.

Mesane Kanseri

7

Abubekir BÖYÜK, Selçuk ERDEM, Öner ŞANLI

Giriş

Mesane kanseri (MK) tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Çünkü MK en sık görülen 9. kanser olması yanında, kansere bağlı ölümlerin de 13. en sık sebebidir (1). Amerika Birleşik Devletleri'nde 2016 yılında 76.960 hasta yeni MK tanısı almış ve 16.390 hastada MK'ne bağlı ölüm öngörülmüştür (2). Mesane kanseri erkekleri kadınlara göre 3.5 kat (3.2/0.9) daha fazla etkilemekte ve insidansı yaşla birlikte artmaktadır (1). Mesane kanserinin %90-95'i ürotelyal kanser histolojik tipinde olmasına karşın; ürotelyal kanser dışında skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom gibi non-ürotelyal varyant histolojiler ve skuamöz differansiasyon, sarkomatoid differansiasyon ve mikropapiller patern gibi ürotelyal varyant histolojileri bulunmaktadır. Yeni tanı alan hastaların yaklaşık %75'i kasa invaziv olmayan MK (KİOMK), %25'i ise kasa invaziv MK (KİMK) veya metastatik hastalıktır (3,4,5). Mesane kanseri insidansı son elli yılda %50 artmışken, bu süre zarfında MK mortalite oranı ise yaklaşık olarak %30 oranında azalmıştır (6).

Mesane kanserinde Türkiye yaşa bağlı insidansın (16.6/100.000) ve yaşa bağlı ölüm oranı-

nın (6.6/100.000) en yüksek olduğu beş ülkeden biridir (7). Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı verilerine göre MK erkeklerde en sık görülen 3. kanserdir (8). Mesane kanseri, tedavisi boyunca tüm kanser türleri arasında en yüksek maliyete sahiptir ve ülkemizin sağlık ekonomisi üzerinde ciddi bir yük oluşturmaktadır (9).

Mesane kanseri gelişiminde birçok etyolojik faktör olmakla birlikte en önemli etyolojik faktör sigara kullanımıdır ve tüm vakaların yarısından sorumlu tutulmaktadır (10). Bunun yanında MK olgularının yaklaşık %8-20'sinin mesleki maruziyete bağlı olarak gelişmektedir. Analizlere göre kauçuk, petrol ürünleri ve boyaları, elektrik ve kimya sanayi işçilerinde MK riskinin arttığı saptanmıştır (11, 12).

Mesane kanseri karsinogenezinde birçok moleküler mekanizma bulunmaktadır. MK'nin gelişimine bakarsak, 2 ayrı yolağın tanımlanmış olduğunu görmekteyiz. Birincisi, düşük dereceli pTa olarak başlayıp bu şekilde devam eden ve genişletilmiş sistoskopi aralıkları ve tek doz mitomycin haricinde daha agresif tedavi protokolleri uygulamadığımız gruptur (13). Bu grupta daha çok FGFR3 başta olmak üzere onkogenlerin aktive edici mutasyonları söz konusudur. Örneğin FGFR3 geninin 3 ayrı domaininde

10'dan fazla aktive edici mutasyon tanımlanmıştır. Ayrıca FGFR3'un aktive edici mutasyonları tümörün derecesi ve patolojik evresi arttıkça azalmaktadır. Düşük dereceli tümörler yine takipleri esnasında çeşitli genetik değişiklikler geçirerek; örneğin 9qdel'u ile, yoluna yüksek dereceli bir tümör olarak devam edebilmektedir. Diğer taraftan CIS yolağında devam eden tümörler ise; daha çok tümör süpresör genlerin inaktivasyonu sonucu bu yola girmektedirler ve KIMK (kasa invaze mesne kanseri) olarak tanıdığı süreye kadar tekrar pek çok genetik değişiklik tümörün genomuna eklenmektedir. Bu konu Şanlı ve ark.'larının kaleme aldığı bir derleme makalesinde detaylı olarak ele alınmıştır (14).

Son dönemde MK konusunda meydana gelen önemli gelişmelerden birisi de The Cancer Genome Atlas (TCGA) projesi ile MK genomunun sekanslanmasıdır. Bu projenin sonuçlanması ile yalnızca MK'nin genetik alt yapısını anlayabilmek için önemli bir aşama kaydedilmemiş, aynı zamanda bu genetik alt yapıya yönelik bazı terapötik hedefler de saptanmıştır (14). Bunun yanında mesane kanserinin son dönemde ortaya konulan moleküler sınıflaması, mesane kanserinde kişiselleştirilmiş tıp uygulamaları konusunda önemli bir basamağı oluşturmaktadır. Örneğin yakın bir gelecekte MK'inde hangi hastaların kemoterapiye yanıt vereceğinin tespiti mümkün olacaktır.

Yukarıda kabaca detaylandırılan MK'inin moleküler mekanizmalarının anlaşılmasında Deneysel Üroonkoloji'nin rolü büyüktür. Çünkü bu bilgilerin önemli kısmı temelde kemirgenlerin kullanıldığı deneysel modellerde elde edilen verilere dayanmaktadır. Bu çalışmalar yapılırken kanserin etyopatogenezinin aydınlatılması, kanserojen olabilecek maddelerin etkisinin araştırılması, kanseri önlemeye aday olduğu düşünülen maddelerin denenmesi ve

kanser tedavisinin klinik faz çalışmaları amaçlanmaktadır. Ancak hayvan deneylerinden elde edilen bulguların doğruluğu ve geçerliliği uygun hayvan modelinin seçilmesine bağlıdır. Çünkü seçilecek deney hayvanı, tümör gelişiminde veya tümörün tedaviye yanıtının değerlendirilmesinde mümkün olduğu kadar normal durumları taklit edebilmelidir.

Mesane kanseri özelinde ise ideal bir deney hayvanı modelinde: 1-Tümör intravezikal (ortotopik) gelişebilmeli, 2- Tümör saf ürotelyal orijinli, değişik evrelerde (CIS, papiller ve invaziv) ve büyük kısmı yüzeysel tümör olmalı, 3- Konağı hayvanın immunitesi deneysel modele uygun olmalı ve immunoterapi (örneğin BCG), kemoterapi ve fotodinamik terapi gibi antitümör modaliteleri ile tedavi edilebilir olmalı, 4- Tümör gelişimi teknik olarak kolay ve deneysel çalışma için kabul edilebilir sürede gerçekleşmeli ve yüksek oranda tekrarlanabilir olmalıdır (15).

Deney hayvan modellerinde sıklıkla kullanılan hayvanlar kemirgenlerdir (sıçanlar ve fareler), bunların maliyeti ucuz ve üretimi kolaydır, ayrıca bazı özellikleri genetik olarak değiştirilebilir (16). Bunun yanında kemirgenlerin üriner sistem özellikleri insan üriner sistemine benzerdir (17). Sıçanların mesane boyutunun farelerin mesane boyutundan yaklaşık 8-10 kat daha büyük olmasından dolayı bu hayvanlarla yapılan çalışmalarda, tümör gelişimi takibi, sistoskopi yapılması ve intravezikal tedavi uygulaması daha kolay olmaktadır (18).

Mesane kanseri için geliştirilmiş başlıca deney hayvan modelleri en basit haliyle şu başlık altında özetlemek mümkündür: 1-Zenogenik (Xenograft) modeller, 2-Sinogenik (Syngenic) modeller, 3-Transjenik (Transgenic) hayvan modelleri, 4-Heterotopik tümör büyümesi, 5-Ortotopik tümör büyümesi modelleridir. Bu sınıflamanın haricinde daha detaylı sınıflamalar da yapılmıştır (19).

1. Zenojenik modeller

İnsanlardan elde edilmiş kanser hücrelerinin, spontan olarak veya genetik mühendislik sonucu immün sistemi baskılanmış hayvanlarda kullanıldığı modellerdir (16,20). Bu durum başka bir türden yapılan hücre nakline immün yanıtı engelleyerek sıçan veya farenin bünyesinde tümör hücresinin gelişmesini sağlar. Zenojenik deney hayvan modelinde in-vivo tümör gelişimi daha hızlı olabilmektedir. Bu modelde oluşan tümör hızlı bir lokal seyir, lenf nodu metastazı ve uzak metastaz davranışı gösterir. Bu nedenle, özellikle ileri evre mesane tümörüne yönelik yeni geliştirilen tedavi alternatifleri için önemli bir modeldir. Bu modelde tümör hücrelerinin biyolojik davranışı, monoklonal antikorlar, sitotoksik ajanlarla tedavi ve radyoterapinin etkinliği araştırılabilir (21). Örneğin, Davis ve ark'larının yaptığı çalışmada mesane tümöründe ekspresyonu artan vasküler epitelial growth faktör (VEGF) reseptörlerini hedef alan antikorlar paklitaksel ile kombine edilerek verildiğinde tümör gelişiminin ve anjiogenezinin durduğu gösterilmiştir (22).

Bu deney hayvan modelinde immün sistemi baskılanmış hayvanlar kullanıldığı için konağın immun sistemi ile tümörün etkileşimi ve kanser oluşumundaki biyolojik yollar araştırılmaz. Bu nedenle özellikle BCG immünoterapisi gibi intravezikal tedaviler de bu modelde çalışılmaz.

2. Sinojenik modeller:

Bu deneysel hayvan modelinde, deney hayvanında kimyasal kanserojen ajanlar kullanılarak veya aynı genetiğe sahip başka bir hayvandan alınan tümör hücresinin cilt altına veya mesaneye inokülasyonu ile tümör oluşturulması esasına dayanır. Zenojenik modelde çalışılmayan tümör konak etkileşimi bu modelde çalışılabilir. Ayrıca zenojenik modelde mümkün olmayan

immünoterapi etki mekanizması ve etkinliği de sinojenik modelde araştırılabilir (21). Bu model ile yapılan bir çalışmada negatif etkili immün regülatör proteinlere karşı verilen antikorlarla beraber eş zamanlı BCG uygulanması sağkalım ve tümöre karşı reaktif T hücre sayısında artışa neden olduğu gösterilmiştir (23).

Bu çalışma modelinin en önemli dezavantajlarından birisi tümör inokülasyonu sonrası, her hayvanda farklı tümör evresi görülebilmektedir. Yapılan bir çalışmada ortalama 3-5. günlerde tümör geliştiği, bu süre zarfında bazı hayvanlarda KİOMK gelişirken bazılarında KİMK geliştiği, bunun da intravezikal immünoterapi veya kemoterapinin zamanlamasında probleme yol açtığı vurgulanmıştır (24).

Bu modelde mesanede tümör oluşturulması için sık kullanılan ajanlardan birisi N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide (FANFT)'dir. Ancak bu maddeyle tümörün oluşması yaklaşık olarak 8-11 ay sürmekte ve yukarıda belirtildiği gibi tümörler değişik evrelerde saptanabilmektedir. Bunun yanında, bu modelde hangi kemirgen türünün kullanılacağı da önem taşımaktadır. Örneğin sıçanlarda ürotelyal kanser yerine daha çok skuamöz hücreli kanser gelişmekte ve bu kanserler lenf nodu veya uzak metastaz geliştirmek yerine, lokal invazif özellik göstermektedirler. (17)

3. Transjenik hayvan modelleri:

Onkogenlerin aktivasyonu veya tümör süpresör genlerin inaktivasyonu ile genetiği değiştirilmiş hayvan modelleridir. Özel olarak üretilen deney hayvanları (knockout sıçan veya fareler) bir genin yokluğunun, aktivasyonunun veya inhibisyonunun etkisini açıklamak için kullanılır.

Mesane kanseri karsinogenezisinde yukarıda kabaca detaylandırıldığı gibi birçok moleküler çalışma bulunmaktadır. Kemirgen modellerinde ve insan doku çalışmalarında tümör süpresör genlerin inaktivasyonunun MK geliş-

minde ve progresyonunda önemli rol oynadığı gösterilmiştir (25, 26, 27). Bunun haricinde bazı genlerin aşırı ekspresyonunda da; MK gelişim ve progresyonu riskini arttırdığı bildirilmiştir. Örneğin CK20 ve HER2 artmış ekspresyonu ve azalmış PTEN ekspresyonu ile birlikte P13K upregülasyonunun MK gelişim riskini arttırdığı bazı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (28, 29).

İnsan MK'inde rolü olduğu bilinen bir süpresör gen olan p53 geninin farelerde yokluğunun lenfomaya bağlı ölüme neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle p53 knockout fare modeli geliştirilerek bu modelde MK araştırmaları yapmak teknik olarak mümkün olamamaktadır. Bu tür problemleri aşmak için kondisyonel transjenik modeller geliştirilmiştir. Kondisyonel transjenik modelde sadece çalışmak istenen hedef dokuda gen fonksiyon kaybı sağlanarak çalışmalar yapılmaktadır (30). Bu modele örnek olarak, He ve ark.'larının pRb geninin her iki alelini ürotelyumda kondisyonel olarak inaktive ettikleri hayvan modeli verilebilir (31). Bu modelde araştırmacılar mesane kanseri gelişimini 10 hafta süre ile deney sıçanlarının içme sularına karıştırdıkları N-buthyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine ile sağlamışlardır. Araştırmacılar, bu model ile bu genin inaktivasyonunun ürotelyumda proliferasyona neden olmadığını göstermişlerdir. Aksine bu genin inaktivasyonu p53 yolağını ve apoptozisi aktive etmiştir. Tümör gelişimi ise daha çok her iki genin inaktive edildiği sıçanlarda görülmüştür (31).

4. Heterotopik tümör büyümesi:

Hedef organ dışında farklı bir organ veya dokuda tümör geliştirilmesi esasına dayanır. Tümör lokalizasyonu için daha çok flank bölge veya ekstremitelerin üst kısımları kullanılır ve tümör hücreleri cilt altı dokuya inoküle edilir. Bu modelin en önemli avantajları; tümörün palpasyonunun mümkün olması ve radyolojik

görüntüleme imkanının olmasıdır. Böylece tümör gelişimi, temelde boy ve ağırlık ölçümü ile kolayca takip edilebilmektedir. Bunun yanında bu model için öğrenme dönemi oldukça kısadır. Yapılan çalışmalarda hem lokal hem de sistemik tedavi için uygun olduğu belirtilmiştir (32, 33).

Bu modelin en önemli dezavantajı intravazikal immunoterapi veya kemoterapiye uygun olmamasıdır. Aynı zamanda bu modelde gelişen tümörlerin asıl gelişim yerlerinden farklı davranış sergileyebildiği, aynı tedavi edici ajanın ortotopik modelde farklı heterotopik modelde farklı (uyumsuz) sonuçlar verdiği de gösterilmiştir (34).

5. Ortotopik tümör büyümesi:

Hayvan mesanesinde tümör oluşturulması esasına dayanır. Konak tümör etkileşiminin en iyi değerlendirildiği modeldir. Özellikle K10MK'de geniş bir çalışma alanı oluşturmaktadır. Uygulaması zordur ve deneyim gerektirir. Tümör hücre biyolojisi, antikor, sitotoksik tedavi ve radyoterapinin etkinliğinin araştırılması için uygun modellerdir. Fakat tümör gelişim süresi diğer modellere göre uzun olmaktadır, bu da tedavi edici etkinliğin araştırılmasında dezavantaj oluşturmaktadır (32).

Hem kimyasal kanserojen ajanlar ile indüksiyona; hem de tümör hücre inokülasyonuna uygun bir yöntemdir. Kimyasal ajanlarla indüksiyon uygulaması kolay bir yöntemdir; fakat tümör inokülasyonu teknik olarak zor bir işlemdir. Tümör inokülasyonu anestezi altında ve üretral kateterizasyon ile yapılır (35, 36). İnokülasyon öncesi üroepitelyumda kimyasal ajanlarla (örneğin N-metil nitroz üre veya hafif titrasyonda asitle) veya elektrokoterizasyonla hasar oluşturulması gerekir (35, 36). Bu deney hayvan modelinde tümör büyümesinin tespiti zordur, palpasyonla sadece subjektif değerlendirme yapılabilir. Bu yüzden "end point" çalışmaları için

idealdir. Yani son değerlendirme yapılabilirken tümörün gelişme süreci ile ilgili yorum yapmak pek mümkün değildir. Deney hayvanı deney sonunda sakrifiye edilerek tümörün ölçümleri ve gelişim hakkında değerlendirme yapılır (36, 37). Tümörün gelişimi sürecinde radyolojik görüntülemeler kullanılabilir, fakat maliyeti fazladır ve deneyim gerektirir.

Ortotopik tümör modeline örnek olarak Xiao ve ark.'larının çalışması verilebilir. Bu modelde araştırmacılar, daha önce farelere N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazoly] formamide (FANFT) verilerek geliştirilmiş olan ürotelyal karsinom hücre dizisini (AY-27) kullanmış ve tümörün mukozal inokulasyonunu mesaneyi hafif asidik bir solüsyon (0.4 ml, 0.1 N hidroklorik asit) ile 15 sn süre ile yıkayarak sağlamışlardır (15). Sonrasında ise; AY-27 hücre dizisini 18F uretral kateter yardımı ile mesane içerisine vermişler ve anestezi altındaki fareleri her 15 dakikada bir 90 derece döndürerek mesanedeki hücre dizisinin tüm mesane ile temasını sağlamışlardır. Tümör dizisi toplamda 1 saat mesane içerisinde tutulmuş ve sonrasında ise farelerin sondası alınarak spontan işemeleri sağlanmıştır. Ardından; fareler rutin kafeslerine alınarak, hematüri varlığı ve genel durumları monitörize edilmiştir. Sonrasında ise fareler inokulasyondan sonraki 8-14 gün içerisinde seri magnetik rezonans (MR) görüntülemeler ile tümör büyümesi açısından değerlendirilmişler ve ardından sakrifiye edilmişlerdir. Bu modelle yazarlar toplam 82 farenin 80 (%97)'inde tümör implantasyonundan sonra 16-17. günlerde değişik evrelerde mesane tümörü geliştirmeyi başarmışlardır. Sonuçta farelerin %65 (52/80)'inde kasa invaze olmayan mesane tümörleri gelişirken, %29'unda T2 hastalık, 5 farede ise T3 hastalık saptanmıştır. Bu modelde erken tümör gelişiminin 1-13. günlerde, tümörün progresyonunun 14-21. günlerde, ileri evre hastalığın ve ekstrevezikal yayılımının 22-50. günlerde meydana geldiği bildirilmiştir (15).

Bu modelin belki de en önemli dezavantajı deney hayvanlarının yaklaşık olarak %25'inde bu modelin başarılı olamamasıdır. Başarı düzeyini artırmak için çeşitli modifikasyonlar denenmiştir. Bunlardan birisinde, Gunther ve ark.'ları mesane duvarının bazı kısımlarını geliştirdikleri model ile koterize ettikten sonra mesaneye bir üretral sonda yardımı ile mesane tümör hücrelerini vermişler ve bunun mesanede yaklaşık olarak 3 saat kadar kalmasını sağlamışlardır (37). Diğer bir modelde de Davis ve ark.'ları metastatik mesane kanseri hücre dizilerini mesane duvarına bir bül formasyonu oluşacak şekilde implante etmişlerdir (22).

Sonuç

Deney hayvan modelleri mesane kanserinin etyopatogenezi, tümör davranışının anlaşılması, koruyucu ve küratif tedavi araştırmaları için gereklidir. Aynı zamanda bu modeller preklinik çalışmaları klinik çalışmalara dönüştürebilmek için zorunlu birer adımdır. Kullanılacak olan deney hayvan modeli organa özgü olmalı ve insan tümörlerine benzer histolojik ve genetik özellikler taşımalıdır. Optimal sürede yeterli sayıda hayvanda tümör gelişmeli, sonuçları klinik açıdan anlamlı olmalı ve elde edilen sonuçlar insanlar üzerinde yapılacak araştırmalarla ilişki kurulabilir olmalıdır.

Mesane, doğal yolla (üretra) erişimi bulunduğu için deneysel modeller açısından oldukça elverişlidir. Mesane kanseri konusunda geliştirilmiş pek çok farklı deneysel model bulunmakta olup, bu kitap bölümünde bunlar basitçe özetlenmiştir. Yine de; MK ile uğraşan araştırmacı, çözüm bulmaya uğraştığı klinik probleme en uygun deneysel modeli detaylı bir araştırma ile saptamalı, pilot çalışma ile sınamalı ve gerekli olan yerlerde kendi modifikasyonlarını ekleyerek, araştırılan probleme özgü deneysel modeller geliştirmelidir.

Tablo 1. Mesane kanseri oluşumunda kullanılan kimyasal indükleyiciler (38 ve 39. Referanslardan alınmıştır)

Kimyasal ajan	Kullanım şekli	Konakçı	Gelişen lezyon ve tümör
FANFT	Diyetle, %0,1, 45 hafta Diyetle, %0,02, 4 hafta Diyetle, %0,1, 38 hafta	C3H/He fare Fisher 344 C3H/He fare	Displazi, KİS, DHK 6. hafta hiperplazi, 8. hafta nodüler hiperplazi, 10.-14. hafta papiller tümör Displazi, KİS, DHK
EHBN	%0,025 suda, 4,12, 20, 28 ve 36 hafta	B6D2F1	4. hafta displazi, 12.-36. hafta hiperplazi, displazi, papillo, skuamöz difr. Adeno kanser, KİS, metastaz
MNU	%0,05 suda, 32 hafta İntravezikal 5 mg/Kg, 1,5 mg/2 hafta intravezikal İntravezikal 0.15 ml, 6 hafta 4 doz	B6D2F1 Wistar rat Fisher 344 Fisher 344	DHK (invaziv), skuamöz difr. 15. ay sonra, ekzoftik papillom ve invaziv karsinom Hiperplazi, papiller lezyon, skuamöz metaplazi 10 hafta sonra, DHK
BBN	%0,05 suda, 40 hafta %0,05, %0,01 ve %0,005 suda, 4, 8, 16, 20 ve 26 hafta 50-100 mg gastrik intubasyon, 2-9 hafta %0,05 suda, 20 hafta %0,05 suda, 16-32 hafta Gavaj; 3 doz/gün, (+1/2 propan-diol 300 mg/Kg)	ACI rat C3H/He fare B6D2F1 Wistar rat Fisher 344 Wistar rat	3. hafta; Hiperplazi, 4 ve 12 hafta Papillom, 20. hafta DHK %0,05; 4. hafta hiperplazi, 12.-26. hafta displazi, KİS, invaziv kanser %0,01; 4. hafta hiperplazi, 8.-12. hafta displazi, 20.-26. hafta hiperplazi, displazi, KİS, invaziv kanser %0,005; 4. hafta lezyon yok, 8.-12. hafta hiperplazi, 16.-20. hafta hiperplazi, displazi, 26. hafta hiperplazi, displazi, KİS, invaziv kanser DHK, Skuamöz diff, papiller tümör Hiperplazi, DHK, papiller tümör DHK, Papillom, invaziv karsinom

DHK: değişici hücreli karsinom, FANFT: N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide), BBN: N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine ve MNU: N-Methyl-N-nitrosurea, EHBN: N-Ethyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine, KİS: karsinoma in situ

Kaynaklar

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F, Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in Globocan 2012. *Int. J Cancer* 2015; 136, E359–E386
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal, A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 66; 2016: 7–30.
3. Smith AB, Deal AM, Woods ME, Wallen EM, Pruthi RS, Chen RC, Milowsky MI, Nielsen ME Muscle-invasive bladder cancer: evaluating treatment and survival in the National Cancer Data Base. *BJU Int* 2014; 114: 719–726.
4. Burger M, Catto JW, Dalbagni G, Grossman HB, Herr H, Karakiewicz P, Kassouf W, Kiemeny LA, La Vecchia C, Shariat S, Lotan Y, Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol* 2013; 63: 234–241.
5. Büyük A, Şanlı Ö, Erdem S, Tefik T, Özcan F, Özlük Y, Kılıçarslan I, Tunç M. The association between variant urothelial histologies, pathological stage and disease specific survival in patients with bladder cancer. *Turk J Urol*. 2018; 44: 24-30.
6. Wood DP. Urothelial tumors of the bladder. In *Campbell-Walsh Urology*. Kavoussi LR, Partin AW, Novick AC, Peters CA. 10th ed. Elsevier-Saunders, 2012. 2309-2335.

7. Mahdavi N, Ghoncheh M, Pakzad R, Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiology, Incidence and Mortality of Bladder Cancer and their Relationship with the Development Index in the World. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17: 381-6.
8. Aydin S, Boz MY. Rapid changes in the incidence of urinary system cancers in Turkey. *Turk J Urol* 2015; 41: 215-20.
9. Svatek RS, Hollenbeck BK, Holmang S, Lee R, Kim SP, Stenzl A, et al. The economics of bladder cancer: costs and considerations of caring for this disease. *Eur Urol* 2014; 66: 253-62.
10. Freedman, ND, Silverman DT, Hollenbeck AR, Schatzkin A, Abnet CC, Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. *JAMA* 2011; 306: 737-745.
11. Smith ND, Prasad SM, Patel AR, Weiner AB, Pariser JJ, Razmaria A, Maene C, Schuble T, Pierce B, Steinberg GD, Bladder cancer mortality in the United States: A geographic and temporal analysis of socioeconomic and environmental factors. *J Urol* 2016; 195: 290-296.
12. Cumberbatch MG, Windsor-Shellard B, Catto JWF, The contemporary landscape of occupational bladder cancer within the United Kingdom: A meta-analysis of risks over the last 80 years. *BJU Int* 2017; 119: 100-109.
13. Castillo-Martin M, Domingo-Domenech J, Karni-Schmidt O, Matos T, Cordon-Cardo C. Molecular pathways of urothelial development and bladder tumorigenesis. *Urol Oncol* 2010; 28: 401-8.
14. Sanli O, Dobruch J, Knowles MA, Burger M, Alemozaffar M, Nielsen ME, Lotan Y, Bladder cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Apr 13;3:17022. doi: 10.1038/nrdp.2017.22.
15. Xiao Z, McCallum TJ, Brown KM, et al. Characterization of a novel transplantable orthotopic rat bladder transitional cell tumour model. *Br J Cancer* 1999; 81: 638-646.
16. Tombul ST, Müezzinoğlu T, Mesane kanserinde deneysel hayvan modelleri, *Üroonkoloji Bülteni*, 2013; 12: 50-53.
17. Oyasu R. Epithelial tumours of the lower urinary tract in humans and rodents. *Food Chem Toxicol* 1995; 33: 747-755
18. Oshinsky GS, Chen Y, Jarrett T, et al. A model of bladder tumor xenografts in the nude rat. *J Urol* 1995;154:1925-1929.
19. John BA, Said N. Insights from animal models of bladder cancer: recent advances, challenges, and opportunities. *Oncotarget* 2017; 8: 57766-57781.
20. Van der Weyden L, Bradley A. Mouse chromosome engineering for modeling human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2006; 7: 247-76.
21. Eijan AM, Lodillinsky C, Sandes EO. Animal Models for Basic and Preclinical Research in Bladder Cancer. In *Bladder Cancer- From Basic Science to Robotic Surgery*. Ed: Canda AE. Croatia: InTech, 2012. page 383-404
22. Davis DW, Inoue K, Hicklin DJ, Abbruzzese JL et al. Regional effects of an antivascular endothelial growth factor receptor monoclonal antibody on receptor phosphorlation and apoptosis in human 253J B-V bladder cancer xenografts. *Cancer Res* 2004; 13: 4601-4610.
23. Mangsbo SM, Sandin LC, Anger K, Korman AJ et al. Enhances tumor eradication by combining CTLA-4 or PD-1 blockade with CpG therapy. *J Immunother* 2010; 33: 225-235.
24. Hendricksen K, Molkenboer-Kuenen J, Oosterwijk E, et al. Evaluation of an orthotopic rat bladder urothelial cell carcinoma model by cystoscopy. *BJU Int* 2008; 101: 889-893.
25. Zhang ZT, Pak J, Shapiro E, Sun TT, Wu XR. Urothelium-specific expression of an oncogene in transgenic mice induced the formation of carcinoma in situ and invasive transitional cell carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 3512-3517.
26. Puzio-Kuter AM, Castillo-Martin M, Kinkade JW et al. Inactivation of p53 and Pten promotes invasive bladder cancer. *Genes Dev* 2009; 23: 675-680.
27. Gao J, Hunag HY, Pak J et al. p53 deficiency provokes urothelial proliferation and synergizes with activated Ha-ras in promoting urothelial tumorigenesis. *Oncogene* 2004; 23: 687-696.
28. Jung S, Wu C, Eslami Z et al. The role of immunohistochemistry in the diagnosis of flat urothelial lesions: a study using CK20, CK5/6, P53, Cd138, and Her2/Neu. *Ann. Diagn Pathol* 2014; 18: 27-32.
29. Sfakianos JP, Lin Gellert L, Maschino A et al. The role of PTEN tumor suppressor pathway staining in carcinoma in situ of the bladder. *Urol Oncol* 2014; 32: 657-662.
30. Mo L, Cheng J, Lee EY, Sun TT et al. Gene deletion in urothelium by specific expression of Cre recombinase. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F562-563.
31. He F, Mo L, Zheng XY, Hu C et al. Deficiency of pRb family proteins and p53 in invasive urothelial tumorigenesis. *Cancer Res* 2009; 69: 9413-9421.
32. Arentsen HC, Hendricksen K, Oosterwijk E, Witjes JA. Experimental rat bladder urothelial cell carcinoma models *World J Urol* 2009; 27: 313-317.
33. Moltedo B, Faunes F, Haussmann D, De Ioannes P, De Ioannes AE, Puente J, Becker MI. Immunotherapeutic effect of Concholepas hemocyanin in the murine bladder cancer model: evidence for conserved antitumor properties among hemocyanins. *J Urol* 2006; 176: 2690-2695.

34. Wilmanns C, Fan D, Obrian C, Radinsky R, Bucana C, Tsan R, Fidler I, Modulation of doxorubicin sensitivity and level of P-glycoprotein expression in human colon carcinoma cells by ectopic and orthotopic environments in nude mice. *Int J Oncol* 1993; 3: 413-422.
35. Tham SM, Esuvaranathan K, Mahendran R. Murine Orthotopic Bladder Tumor Model and Tumor Detection System. *J Vis Exp* 2017; Jan 12;(119). doi: 10.3791/55078.
36. Chan E, Patel A, Heston W, Larchian W. Mouse orthotopic models for bladder cancer research. *BJU Int* 2009; 104: 1286-1291.
37. Günther JH, Jurczok A, Brandau S, Dienert I et al. Optimizing syngeneic orthotopic murine bladder cancer (MB49). *Cancer Res* 1999; 59: 2834-2837.
38. Oliveira PA, Colaço A, De la Cruz LF, Lopes C. Experimental bladder carcinogenesis-rodent models. *Exp Oncol* 2006; 28: 2-11.
39. Koşan M, Mungan A. Deney Hayvanında Mesane Kanseri Modelleri. *Üroonkoloji Bülteni* 2015; 14: 29-32

Böbrek Kanseri

8

Serkan AKAN, Ferhat ATEŞ

Kanser araştırmaları için deney hayvanlarının kullanılması, diğer hastalıklarda olduğu gibi, klinik öncesi çalışmaların geliştirilmesi açısından yararlı olmuştur. Deney hayvan modelleri kitabının bu bölümünde renal hücreli karsinom modelleri hakkında fikir verici bilgiler verilmiş olup, modellerin uygulanması konusunda çok az ayrıntıya yer verilmiştir.

Tüm kanserlerin yaklaşık %3'ünü oluşturan Renal hücreli karsinom (RCC), özellikle görüntüleme yöntemlerindeki gelişmelere paralel olarak insidansı artmış olan üriner sistem malignitesidir (1). Bu artmış RCC insidansı, ayrıca sigara, obezite, yüksek proteinli diyetler ve hipertansiyon gibi bazı risk faktörleri ile de bağlantılıdır (2). Hastalık her yıl yaklaşık 13.500 ölümden sorumludur (3).

Tanı anında hastaların %50,6'sı Evre I, %26,7'si Evre II-III, %22,7'si Evre IV metastatik RCC (mRCC)'dir. Görüntüleme yöntemlerindeki teknolojik gelişmeler insidental küçük böbrek tümörlerinin tanısını kolaylaştırmış olsa da; RCC hastalarının hala yaklaşık %30'u tanı anında metastatiktir (4), %20-30'u da takipte metastatik hale gelecektir (5).

mRCC kemoterapiye dirençli bir kanserdir. mRCC'de interlekin 2 (IL-2) ve interferon tedavileri uzun süre gündemde kalmıştır. Ancak bu

tedavilere cevap oranları %10'un altındadır ve 5 yıllık sağ kalım oranları %5-6 civarında kalmıştır (6). Bununla beraber önemli bir nokta da bu tedavilerle elde edilebilen cevabın kalıcı olmamasıdır. Yakın geçmişte mRCC biyolojisinin daha iyi anlaşılması ile mRCC tedavisinde önemli adımlar atılmıştır. Multikinaz inhibitörleri ile *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) ve *Mammalian target of rapamycin* (mTOR) yollarını hedef alan tedaviler sağ kalım sürelerinde iki kattan fazla avantaj sağlamış ve yaşam kalitesini iyileştirmiştir (7).

Tüm bu tedavi yöntemleri büyük ölçüde palyatiftir ve tam remisyonlar nadirdir (8). mRCC hastaları için mevcut tedavilerdeki bu tür eksiklikler, yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesinin gerekçesini ortaya koymaktadır. mRCC için yeni tedavilerin klinik öncesi testinde anahtar bir bileşen uygun bir hayvan modelidir. RCC'nin moleküler ve genetik altyapısını anlamak için geliştirilen çeşitli klinik öncesi hayvan modelleri ile birlikte; yeni ve alternatif tedavi yöntemlerini geliştirmek, metastazın ilerlemesini yavaşlatmak amaçlı geliştirilen hayvan modelleri de mevcuttur. Tablo 1'de deney hayvanları kanser modelleri özetlenmiştir (9).

Tablo 1. Kanser hayvan modelleri (9)

1. Spontan tümör modelleri	
2. Virüs ile indüklenmiş tümör modelleri	
3. Radyasyon ile indüklenmiş tümör modelleri	
4. Kimyasal madde ile indüklenmiş tümör modelleri	
5. Transplantabl tümör modelleri a) Transplantasyon yöntemleri: b) Kullanılan konakçıya bağlı olarak:	- Heterotopik transplantasyon - Ortotopik transplantasyon - Singeneik modeller - Ksenojenik modeller
6. Genetik Olarak Tasarlanmış Fareler	- Transgenik hayvanlar - Knockout hayvanlar

RCC için ideal bir tümör modelinin özellikleri:

- 1) Model anatomik olarak amaca uygun mu?
- 2) Tümör insan patolojisine benzer şekilde progrese olur mu?
- 3) Metastazlar primer tümörden mi kaynaklanıyor?
- 4) Primer ve metastatik tümör progresyonu zaman içinde izlenebilir mi?

Primer renal tümör, renal tümörün metastazları, terapiye dayalı bağışıklık yanıtları ve tümör kaynaklı immünsupresif faktörlerin oluşumunu araştırmak için sağlam bir bağışıklık sistemi gereken ortak özelliklerdir.

Spontan tümör modelleri

Murin singeneik renal adenokarsinoma: Renca modeli

Renca murin singeneik renal adenokarsinoma modeli Murphy ve Hrushesky tarafından 1970'lerin başında tarif edilmiş spontan tümör modelidir. Renca tümörü Balb / c farelerinin böbrek kapsülü altına enjekte edildiğinde metastatik renal tümörleri indüklediği görüldü. Renca histolojik olarak geniş nükleuslu, granül tip-pleomorfik kötü diferansiye renal kortikal

adenokarsinom olarak tanımlandı (10).

Renca, in vitro kültürle veya singeneik Balb / c farelerde subkutan / intramuskuler / intraperitoneal ya da direkt subkapsüler renal implantasyonla sağlanabilir (11). Subkapsüler implantasyonu takiben Renca tümörünün progresyonu, böbrek üzerinde bir primer tümör kitlesi oluşumu ve bunu takiben spontan metastazların gelişmesi şeklindedir (12). Metastazlar öncelikle bölgesel lenf düğümleri, akciğer, karaciğer ve peritonda gelişir. Renca tümörünün progresyonu insan RCC'sinin progresyonu ile benzerlik göstermektedir.

Renca modeli, tedavinin primer tümör üzerinde etkilerinin gösterilmesi yanı sıra, metastatik oluşumlar üzerinde etkilerinin değerlendirilmesine de izin verir. RCC'li böbreğin nefrektomisi yapılabilir; bu özelliği ile Renca modeli, postnefektomize mRCC hastalarının klinik durumuna benzer şekilde progresyon göstermiş metastatik hastalık için terapötik protokollerin geliştirilmesi amacıyla kullanılabilir. Renca taşıyan farelerin ortalama sağkalım süresi yaklaşık 46 gündür, bu da makul bir zaman çerçevesinde terapötik bir değerlendirmeye olanak sağlar.

Çeşitli çalışmalarda Renca hücre implantasyonu modelinin kinetiği tanımlanmıştır. İn vitro ortamda elde edilen Renca hücre dizisi, Hank's

dengeli tuz çözeltisi içerisinde 10^5 hücre / mL süspansiyonu implante etmek için hazırlanır. Cerrahi asepsi / antisepsi sağlanır ve farenin anestezisi gerçekleştirilir. Çalışılacak böbrek tarafına (sağ / sol) uygun insizyon uygulanır ve 28 gauge iğne kullanılarak 0.1 ml'lik 10^5 Renca hücre ile subkapsüler olarak enjekte edilir (13). İnsizyon doku yapıştırıcısı ile onarılır ve cerrahi sonrası laboratuvar hayvanları kullanımı için tanımlanan kurumsal yönergeler gerçekleştirilir. Renal implantasyonunu takiben, makroskopik primer tümör 7 ile 10. günde tespit edilebilir, 20 ila 21. günlerde 1-2 cm³e ulaşabilir. Fareden fareye farklılıklar gözlenmekle birlikte pulmoner metastazlar renal implantasyondan sonra 15 -20. günlerde kaydedilebilir. Karaciğer metastazı, hemorajik asit oluşumu ve karsinomatozis metastazları 21. günden sonra çoğu hayvanda gözlenebilir. Üçüncü haftadan itibaren fareler ölmeye başlayabilir ve %10'dan az fare 45 gün-den fazla hayatta kalır.

Bu özelliklere dayanarak, Renca ideal bir RCC tümör modelini temsil eder. 1970'den günümüze mRCC için çeşitli terapötik yaklaşımları araştırmak üzere prelinik bir model olarak yaygın kullanım alanı bulmuştur.

Rat renal karsinoma modelleri

a) Wistar-Lewis Rat Renal Adenokarsinomu

Murin Renca gibi Wistar-Lewis sıçan renal adenokarsinomu da bir Wistar-Lewis sıçan böbreğinde renal kortikal tübül kaynaklı olarak spontan ortaya çıktı. RCC'nin spontan ortaya çıkması, adenokarsinomanın histolojik özelliklerini göstermesi, öngörülebilir büyüme oranları ve hormon bağımsız büyüme ve metastaz yeteneği ile White ve Olsson için ideal bir model oluşturduğu düşünüldü (14).

Bu tümör, singeneik sıçanların lomber bölgesine subkütan transplantasyon ile sağlanır. Bu yöntem ile tümörün gelişmesi 3 hafta sürer.

Yaklaşık 9 hafta sonra, tüm hayvanların karın boşluğunda metastatik hastalık gösterilebilir. Ancak ortalama sağ kalım öngörülemezdir (14). Alternatif olarak, sıçan kanseri hücreleri, %80 tümör oluşumu ile sonuçlanan renal kapsül içine enjekte edilebilir. Ancak, yaygın metastazlar için gerekli süre öngörülemezdir. Bu sıçan RCC tümör modelindeki mikroskobik çalışmalar, sıçan RCC hücrelerinin büyük çekirdekleri, bol glukojen granülleri ve sayısız büyük vakuelleri ile insan RCC hücrelerindeki birçok yapısal özelliği paylaştığını ortaya koymuştur (15). Daha az tahmin edilebilir olmasına ve Renca'dan daha uzun bir zaman gözlem çalışması gerektirmesine rağmen, kemoterapötik ajanların test edilmesi için yararlı olmuştur.

b) Eker Sıçan Modeli

1954 ve 1961'de Eker ve Mossige, Wistar sıçanlarında dominant olarak kalıtılan bir kanser sendromunu tanımlamışlardır. Eker sıçan modelinde gelişen kalıtsal tümörler, insan muadilleri ile paraleldir. Aşırı eksprese eden transforme edici büyüme faktörü (TGf α) vardır ve yüksek oranda ras onkojen aktivasyonu göstermezler (16). 4 (q11-qter), 5 (monozomi) ve 6 (q24) sıçan kromozomları üzerindeki dizilerin kaybı bu tümörlerde ve tümörden türetilmiş hücre dizilerinde meydana gelir.

Eker sıçanlarda kimyasal karsinogeneze ve radyasyona duyarlılıkta 70 kat artış ile birlikte daha yüksek bir kanser insidansı görülür. Hem renal-epitelyal hem de mezenkimal hücreleri hedef alan bir kanserojen, duyarlı hayvanlarda epitelyal kaynaklı tümörlerde bir artışa neden olur. Eker mutasyonunu taşıyan hayvanlar dalakta hemanjiyosarkomlar ve daha sonra uterus leiomyosarkomlar geliştirirler. Renal tümör geliştirme eğilimi yaşla birlikte artmaktadır ve neredeyse tüm 1 yaşındaki hayvanlarda bulunur (17). Bu tümörler adenokarsinom ve renal hücreli karsinom olarak sınıflandırılır; bu nedenle,

Eker sıçanları renal karsinom araştırmalarında oldukça yararlıdır (18).

Eker sıçanlarında, tek bir tüberoz skleroz geni (Tsc2) mutasyonu, otozomal dominant kalıtım ile bilateral RCC'ye yatkınlık sağlar. Bu nedenle Eker mutasyonunu taşıyan hayvanlar, kalıtsal RCC için de bir model olarak hizmet etmektedir. Tüberoz skleroz kompleksi (Tsc) olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalar, nöbetler, mental retardasyon ve hamartomlarla karakterize otozomal dominant bir hastalık olduğunu belgelemiştir (19). Bu Tsc hastaları, Eker sıçanlarına benzer şekilde, erken yaşta RCC gelişimi için daha sık bir insidansa sahiptirler (20). Tsc2 geninin rolü, Eker sıçan modeli kullanılarak daha da aydınlatılmıştır.

Sonraki çalışmalarda, sıçan RCC patogene-zinde VHL geninin rolünü araştırmıştır. Sıçan VHL geni tanımlanmış ve insan VHL genine %90 homolog olduğu belirtilmiştir (21). Bununla birlikte, Eker sıçan RCC hücre dizilerinin VHL geninde değişiklikler görülmemiş, bu da sıçandaki RCC gelişiminin insan sporadik RCC'sinin tersine VHL mutasyonundan veya delesyonundan bağımsız olduğunu göstermiştir.

1990'lardan bugüne Eker sıçan modeli, RCC'nin patogenezindeki anahtar genetik bileşenleri tanımlamak ve tübüler epitelyal karsinogenezin altında yatan moleküler mekanizmaları incelemek için kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Eker sıçan modeli, deneysel bir hayvanda, kalıtsal RCC ve sekonder tümörlerin gelişiminde rol oynayan genlerin ve moleküler olayların incelenmesine olanak veren; RCC'ye karşı bir Mendelian dominant predispozisyonunun mükemmel bir örneğidir.

Radyasyon ve Kimyasal madde ile indüklenmiş renal karsinoma modelleri

Radyasyon ve kurşun gibi ağır metaller, sıçanlarda ve farelerde renal tümörleri indükler,

Tablo 2. Hayvan modeli sistemlerinde indükleyen kimyasal ajanlar

aflatoksin	17B-estradiol
daunorubisin	4'-floro-4-aminodifenil
dietilstilbestrol	2,3-dibromopropil fosfat
dietilnitrozamin	kurşun
dimetilnitrozamin	okratoksin-A
formik asit	streptozosine
üretan	

tümör insidansını arttırmaları (11). Steroidler ve östrojenler, altın hamsterlarda güçlü kanserojen ajanlardır. Kronik hormon tedavisi sonrası malign renal neoplazmlar geliştiği gösterilmiştir, bu yönüyle insan renal kanserlerinden farklıdır.

Streptomyces achromogenes adlı bakteriden derive edilen bir antibiyotik ve diabetojenik nitrozamin bileşiği olan Streptozosin kullanılarak Balb / c farelerinde yeni renal tümörler indüklenebilir (22).

Renal adenokarsinomlar, dimetilnitrozamin, formik asit ve aflatoksin gibi kimyasal maddeler tarafından da indüklenebilir. Renal karsinomları indükleyen kimyasallar tablo 2'de gösterilmiştir.

İmmun yetmezlikli farede insan tümör hücre dizisi ksenogreftleri

Atimik tüsüz (nude) farelerin T-hücre fonksiyonları yetersizdir ve ksenogreftleri reddetmezler. Böylece, insan dokularının implantasyonu için kullanılırlar. 20 yıldan fazla süredir insan RCC hücreleri atimik tüsüz farelere başarılı bir şekilde heterotransplante edilmektedir. Büyüyen insan RCC tümörleri, spesifik olarak yönlendirilmiş monoklonal antikorlar ile tedavi için incelenmiştir.

Fidler ve ark. cerrahi örneklerden elde edilen insan RCC hücrelerini atimik tüsüz farelere implant ettiler ve insan RCC hücrelerinin farklı

organlarda büyümesinin mümkün olduğunu gösterdiler (23). Ancak hücreler ortotopik olarak böbreğe implante edilmedikçe metastaz yapmadılar.

İnsan RCC hücrelerinin böbreğe enjeksiyonu, en yüksek tümörojenik insidansını üreterek, böbreğin deri, dalak veya peritondan daha iyi bir ortam olduğunu düşündürmüştür. Bununla birlikte, fare böbreğinde yerleşik insan RCC tümörleri, orijinal primer tümörün histolojik özelliklerini, sitokeratin ve vimentin pozitifliğini de içerirler (24). Bu şekilde, insan tümör hücrelerinin, insan RCC'sine benzer şekilde primer renal tümörün akciğerlere metastaz yaptığı, tüsüz farelerde tekrarlanabilir bir RCC tümör modeli geliştirildi (25). Bu modeller insan RCC progresyonu ve metastazı ile insan RCC tümörlerinin tedaviye yanıtını araştırmak için kullanılabilir.

Atimik tüsüz farelerde heterotransplantların kullanılmasının dezavantajları da bulunmaktadır. Bu fareler immun sistemi NK hücresi ve makrofaj yanıtına izin verir, ancak antitümör etkide önemli bir yeri olan T hücre yanıtına izin vermez. Bu da yetersiz bir immun cevap oluşturur. Bu özelliği ile in vivo olarak insan RCC tümörlerinde yeni kemoterapötik ilaçların ve gen terapisinin doğrudan test edilmesi için daha uygun olabilirler (26). Ayrıca, yetersiz immun cevap nedeniyle, bu fareler enfeksiyonlara karşı oldukça hassastırlar, dolayısı ile bakımları maliyetli olacaktır.

Sonuç

Günümüzde kanser tedavisinde immünoterapi ve hedefe yönelik tedaviler yoğun olarak kullanılmakta ve kullanım alanları yaygınlaşmaktadır. Diğer kanserler ve mRCC için immünolojik ve hedefe yönelik tedavilerin geliştirilmesi, klinik ve fizyolojik olarak uygun bir model kullanımı ile laboratuvar da başlar.

Burada tarif edilen RCC modelleri, çeşitli terapötik modalitelerin etkinliğini test etmek için

bir dizi temel özellik (primer renal tümör, uzak metastazlar, tümör kaynaklı immün baskılama ve tümör progresyonunun izlenmesi) içerir. Ayrıca bu modeller, gelecekte cerrahi ve / veya focal terapi protokolleri gibi RCC'nin harici tedavi alternatiflerindeki gelişimleri değerlendirmek üzere adapte edilebilir.

Kanser araştırmalarında deney hayvanlarının kullanımı için gelişmiş laboratuvarlara ve mali kaynaklara ihtiyaç bulunmaktadır. Bazı modellerde önceden geliştirilmiş kanser hücre klonları implante edilip gelişimleri takip edilmekte, bazılarında ise dışarıdan karsinojen ajan verilerek tümör uyarılmaya çalışılmaktadır. İkinci tipte kanser gelişimi oranı %100 olmadığından, maliyet ve kullanılan hayvan sayısı daha fazla olmak durumundadır. Hayvan modellerinin oluşturulması için gereken laboratuvar şartları oldukça hassas ölçüler içermekte olup, her laboratuvarın kendine ait ölçüleri olabilmektedir. Bu nedenle deney planlarken bu kitabın içeriğinde anlatılmamış olan laboratuvar şartlarının, daha fazla ayrıntı içeren farklı makaleler okunup önceden incelenerek planlama yapılması önerilir.

Kaynaklar

1. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013;49:1374–1403.
2. Daniel CR, Cross AJ, Graubard BI, et al. Large prospective investigation of meat intake, related mutagens, and risk of renal cell carcinoma. *Am J Clin Nutr*. 2012 Jan;95(1):155-62.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J. Clin*. 66, 7-30 (2016).
4. Bex A, Jonasch E, Kirkali Z, et al. Integrating surgery with targeted therapies for renal cell carcinoma: current evidence and ongoing trials. *Eur Urol*. 2010 Dec;58(6):819-28.
5. Hollingsworth, JM, Miller DC, Daignault S, Hollenbeck BK. Rising incidence of small renal masses: a need to reassess treatment effect. *J. Natl. Cancer Inst*. 98, 1331-1334 (2006).
6. Motzer RJ, Hutson TE, Cella D, et al. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2013 Aug 22;369(8):722-31.

7. Rini BI, Escudier B, Tomczak P, et al. Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet*. 2011 Dec 3;378(9807):1931-9.
8. Conti SL, Thomas IC, Hagedorn JC, et al. Utilization of cytoreductive nephrectomy and patient survival in the targeted therapy era. *Int J Cancer*. 2014 May 1;134(9):2245-52.
9. Navale AM. Animal models of cancer: a review. *IJPSR*, 2013; Vol. 4(1): 19-28.
10. Hillman GG, Droz JP, Haas GP. Experimental animal models for the study of therapeutic approaches in renal cell carcinoma. *In Vivo* 1994; 8:77-80.
11. RJA van Moerselaar, JA Schalken, GON Oosterhof, FMJ Debruyne. Use of animal models in diagnosis and treatment of renal cell carcinoma. *World J Urol* (1991) 9:192-197.
12. Norian LA, Kresowik TP, Rosevear HM, et al. Eradication of metastatic renal cell carcinoma after adenovirus-encoded TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) / CpG immunotherapy. *PLoS One*. 2012;7(2):e31085.
13. Murphy KA, James BR, Wilber A, Griffith TS. A Syngeneic Mouse Model of Metastatic Renal Cell Carcinoma for Quantitative and Longitudinal Assessment of Preclinical Therapies. *J Vis Exp*. 2017 Apr 12;(122).
14. Vere White R de, Olsson RA. Renal adenocarcinoma in the rat. A new tumor model. *Invest Urol* 17:405-412.
15. Clayman RV, Bilhartz LE, Buja LM, Spady DK, Dietschy JM. Renal cell carcinoma in the WistarLewis rat: a model for studying the mechanisms of cholesterol acquisition by a tumor in vivo. *Cancer Res* 1986; 46:2958-2963.
16. Everitt N, Goldsworthy TL, Wolf DC, Walker CL. Hereditary renal cell carcinoma in the Eker rat: a unique animal model for the study of cancer susceptibility. *Toxicol Lett* 1995; 82/83:621-625.
17. Kwiatkowski DJ. Animal models of lymphangioliomyomatosis (LAM) and tuberous sclerosis complex (TSC). *Lymphat. Res. Biol.* 8, 51-57 (2010).
18. Kokubo T, Kakinuma S, Kobayashi T, et al.. Age dependence of radiation-induced renal cell carcinomas in an Eker rat model. *Cancer Sci*. 101, 616-623 (2010).
19. Wu JY, Sutherling WW, Koh S, et al.. Magnetic source imaging localizes epileptogenic zone in children with tuberous sclerosis complex. *Neurology* 25, 1270-1272 (2006).
20. Yang P, Cornejo KM, Sadow PM, et al. Renal cell carcinoma in tuberous sclerosis complex. *Am. J. Surg. Pathol.* 38, 895-909 (2014).
21. Walker C, Ahn YT, Everitt J, Yuan X. Renal cell carcinoma development in the rat independent of alteration at the VHL gene locus. *Mol Carcinog* 1996; 15:154-161.
22. Gruys ME, Back TC, Subleski J, et al. Induction of transplantable mouse renal cell cancers by streptozotocin: in vivo growth, metastases, and angiogenic phenotype. *Cancer Res*. 2001 Aug 15;61(16):6255-63.
23. Fidler IJ, Naito S, Pathak S. Orthotopic implantation is essential for the selection, growth and metastasis of human renal cell cancer in nude mice. *Cancer Met Rev* 1991; 9:149-165.
24. Beniers AJMC, Peelen WP, Schaafsma HE, Beck JLM, Ramaekers FCS, Debruyne FMJ et al. Establishment and characterization of five new human renal tumor xenografts. *Amer J Path* 1992; 140:483-495.
25. Hillman GG, Grignon DJ, Mohamed AN, Kocheril SV, Montecillo EJ, Talati B, et al. Establishment of a new renal experiment tumor model. *J Uro/1998*; 159:766.
26. Juang S, Xie K, Xu L, Shi Q, Wang Y, Yoneda J, et al. Suppression of tumorigenicity and metastasis of human renal carcinoma cells by infection with retroviral vectors harboring the murine inducible nitric oxide synthase gene. *Human Gene Ther* 1998; 9:845-854.

Testis Kanseri

9

Orhan KOCA, Faruk YENÇİLEK

Giriş

Testisler, erkek üreme ve cinsel sisteminin bir parçası olarak görev yapmaktadır. Skrotal kese içerisinde yer alır. Boyutları 4-5*3*2.5 cm ve 15-25 ml hacminindedir. Seminifer tübüller, tunika vaginalis, tunica albuginea ve tunika vasküloza ile kaplıdır. Seminifer tübüller germ hücrelerini barındırır. Septalarla kompartmanlara bölünmüş durumdadır. İntertisyel dokuda Leydig ve mast hücreleri, makrofajlar, sinir, kan ve lenf damarları bulunur ve testiküler dokunun %20-30'unu oluşturur. Her biri spermatik kordon (Funiculus spermaticus) ile skrotumun içinde asılı olarak bulunurlar. Spermatogenezis ve hormon salgılaması gibi önemli görevleri vardır. Epididimis ise testislerin arka ve üst kısmında bulunur. Spermiumlar epididimis içinde fizyolojik olgunluğa erişir. Her spermatik kordon, seminal kanal, arter, ven ve lenf damarları ve sinirlerden oluşmuştur.

Embriyonun cinsiyeti döllenme ile belirlenmesine rağmen ilk 7 haftada her iki cinstede genital sistem benzerdir. Gonadal seks, Y kromozomundaki testis belirleyici faktör tarafından belirlenir. Primordial germ hücreleri mezonefrozun genital sınırına yolk salk kese-

sinden dorsal mezenter üzerinden göç etmeye başlar. Göç süresince ve primitif gonadlarda yoğun mitotik aktivite gösterir. Gestasyonun 10. haftasına kadar Leydig hücreleri belirginleşmiş olur ve testosteron salgılar. Üçüncü trimestrin başında testisin kaudal kutbundan gubernakulum da aşağı doğru uzanır ve sonra skrotuma doğru inmeye başlar.

Normal bir cinsel hayat ve fertilité için testisin endokrin ve ekzokrin fonksiyonlarına ihtiyaç duyulur. Özellikle LH ve FSH'nin etkisi ile testosteron ve spermatogenetik metabolizma kontrol edilir. Bu işlevlerin devamı için birçok ara mediatör görev alır. Ayrıca testis aktivin ve inhibin gibi hormonları salgılayarak regülasyonu sağlamaktadır.

Testiküler kanserler görece nadir olmalarına rağmen 20-40 yaş arası erkeklerde görülen en sık kanser türüdür. İnsidansı coğrafik bölgelere göre değişkenlik göstermektedir. Beyaz ırkta ve gelişmiş ülkelerde daha sık gözlemlenir. Testiküler kanserlerin %95'i germ hücresi kaynaklıdır. Germ hücreli tümörler (GHT) de seminom ve seminom dışı germ hücreli tümör (SDGHT) olarak iki gruba ayrılır. İyi tanımlanmış olan 4 risk faktörü mevcuttur. Bunlar kriptoorşidizm, intratübüler germ hücre neoplazisi (ITGCN), ai-

lede testis kanseri ve kişisel testis kanseri hikayedir. Atrofik testislerde ITGCN oranı %40'lara yaklaşmaktadır. Yine infertilite, diyet ve çevresel faktörler ile ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir.

Germ hücreli tümör karsinogenezisi halen net değildir. Prekürsör lezyon olan ITGCN'den geliştiği veya diferansiasyon bozukluğu olan gonositlerden geliştiği öne sürülmüştür. Bu hücrelerin puberteye kadar sessiz kaldığı ve sonrasında artan testosteronun etkisiyle tümöröl dokuya dönüştüğü savunulmuştur. Testiküler disjenezi sendromunda kanser sıklığının artması patogenezi de rol alabileceğini aklı getirmektedir. Kromozomal olarak değerlendirildiğinde ekstragonadal tümörlerde 12. kromozomun kısa kolunda tekrarlayan gen oranı normal popülasyona göre artmış durumdadır.

A) Testis kanseri oluşturulmasında kullanılan metotlar

a. Hücre kültürleri

Donör dokudan hücreler izole edildiğinde, çok farklı yollarla sürdürülebilirler. Hücreler dokudan izole edilip uygun koşullarda çoğaltıldıktan sonra tüm mevcut substratı işgal edene kadarki kültür primer kültürdür. Bu hücreler belirli yaşam süresine sahiptir. Heterojen hücre popülasyonu içerir. Makrofaq ve nöron tipi hücreler invitro bölünmediklerinden birincil kültür olarak kullanılabilirler. İki şekilde elde edilebilirler. Bunlar; dokudan izole edilen küçük parçaların cam ya da plastik kültür kaplarına ekilmesi ile elde edilen explant kültür ve enzimatik yolla elde edilen kültürlerdir.

Primer kültürden gelişen hücre hatları sınırlı bir yaşam süresine sahiptir ve pasaj edildikçe, yüksek büyüme hızı gösteren hücreler üstün gelirler ve popülasyonda genotipik ve fenotipik tekdüzelik ortaya çıkmaya başlar. Hücre hattından bir hücre popülasyonu pozitif olarak seçilip klonlama veya diğer metotlarla kültüre

edildiğinde, bu hücre hattı hücre soyu haline gelmeye başlar. Normal hücreler, proliferasyon yeteneklerini kaybetmeden önce genellikle limitli sayıda çoğalma gösterirler. Bu genetik olarak, senesens olarak tanımlanır. Bu hücreler, sonlu hücreler olarak bilinir. Bununla beraber, transformasyon adı verilen spontan, kimyasal ya da viral olarak gerçekleşen bir işlem ile bazı hücre hatları ölümsüz (immortal) hale getirilebilir. Sonlu bir hücre hattı, transformasyon ile sınırsız bölünme yeteneği kazandığında sürekli hücre hattı haline gelir.

Jorgensen ve arkadaşları testiküler kanser nedeni ile orşiektomi yapılan hastalarda aldıkları doku örnekleri ile normal doku, ITGCN ve tümör kültürleri oluşturmuşlardır (1). Bu amaçla alınan taze dokuları 1 mm³lük parçalar halinde DMEM F12, penicillin (100U/ml), streptomisin (100 mg/ml), insulin, transferrin ve selenyum ve 10% fetal bovin serumu (FBS) veya 0.1% bovin serum albümini içeren medyumunda kullanmışlardır. Yazarlar seminom ve kanser prekürsörü olan ITGCN hücrelerini süspansiyon kültür ortamında yaşatabildiklerini ve yine bu ortamda germ hücrelerinin üremeye devam edebildiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışma sayesinde ITGCN hücrelerinin kanser dönüşümü araştırmaları invitro ortamda yapılabilecektir.

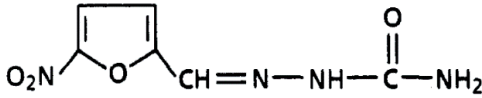
ATTC (Manassas, VA, USA) firmasından elde edilebilecek L2RYC hücre kültürü ile testis kanseri modelleri elde edilebilir. Bu hücreler cerrahi olarak testis içerisine enjekte edilerek testise tutunurlar. Bu şekilde oluşturulmuş olan modellemeler ile özellikle ilaç çalışmaları yapılabilir (2).

Leydig hücre kanserleri üzerine çalışma yapabilmek için H-500 rat Leydig hücre kanseri kültürü kullanılabilir. Ticari olarak temin edilen bu hücre kültürü implante edilerek veya subkütan olarak enjekte edilerek kullanılır. Bu şekilde oluşturulmuş olan Leydig hücre kanserli ratlarda çalışmalar yapılabilir. Tfelt-Hansen ve

arkadaşları bu ratlarda kalsiyum reseptör aktivasyonu ile NO sentezinin arttırılabileceğini göstermişlerdir (3). Yine bu ratlarda yüksek kalsiyum oranı ile EGF reseptör aktivasyonunun sağlanabileceği aynı yazarın farklı çalışmasında gösterilmiştir (4).

b. İlaçlar

b1. Nitrofurazon (5-Nitro-2-furaldehide semicarbazone)



Veterinerlik ve tıpta kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Farklı çalışmalarda rat testis dokusunda neoplastik ve non-neoplastik etkileri gösterilmiştir (5). Özellikle yüksek doz kullanımında seminifer tübül epitelinde orta ve şiddetli oranda dejenerasyon gözlemlenmiştir. F344 ratlar bu amaçla sıklıkla kullanılır.

b2. Akrilamid

Akrilamid bir poliakrilamid monomeridir ve polimer üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kağıt üretimi, petrol düzenleyicisi gibi bir çok alanda kullanılan bir kimyasaldır. İnsan üreme sistemi üzerine birçok etkisi gösterilmiştir. Özellikle testis mezotelyoması üzerine etkileri gözlemlenmiştir (6). Bu etkisini DNA hasarı üzerinden gerçekleştirmektedir.

Bu ilaçlardan farklı olarak başka ilaçlar da bu amaçla araştırılmaktadır. Örneğin Coulson ve arkadaşları F344 ratlarda lansoprazolün Leydig hücre karsinogenezi üzerine etkisini çalışmışlardır (7). Yine Maronpot ve arkadaşları ksenobiyotiklerle indüklenmiş rat tunika vaginalis mezotelyoması üzerine çalışmışlardır (8).

c. Gen Çalışmaları

Son yıllarda gen çalışmaları tıbbın birçok alanında olduğu gibi ürolojik çalışmalarda da oldukça popülerdir. Bu çalışmalar gerek patogenez gerekse de tedavi çalışmalarında kendisine yer bulmuştur. Ayrıca gen regülasyon proteinleri yine bu amaç için kullanılabilir.

Delbes ve arkadaşları testis kanseri tedavisinde kullanılan BEP (bleomisin, etoposid, sisp-latin) protokolünün DNA üzerine olan etkilerini araştırmışlar (9). Bir başka çalışmada da Chan ve arkadaşları benzer modelde DNA metilasyonunu çalışmışlardır (10).

B) Testis kanseri tedavisinde kullanılan deneysel modeller

Sisplatinin testis kanserinde kullanımının başlamasından sonra hastalığın tedavisi oldukça başarılı bir şekilde yapılabilmektedir. Ancak bazı hastalarda özellikle sisplatin dirençli relapslar tedavide güçlükler neden olmaktadır. Bu durumun nedenlerinden biri P53 genindeki mutasyon (TP53 mutasyonu) olabileceği düşünülmektedir. Bu durum önemli bir çalışma konusudur.

Tedavi çalışmaları için hücre kültürleri en sık kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir. Jackson laboratuvarı tarafından üretilen OTT-6050 teratomu kullanılmış olan örneklerden biridir. VandenBerg ve arkadaşları 1975 yılında bu hücre kültürünü kullanarak başarılı bir şekilde model oluşturmuşlardır (11).

Yine kök hücre çalışmaları özellikle tedavi sonrası fertilité çalışmalarında sıklıkla kullanılmıştır (12).

Kaynaklar

1. Jørgensen A, Young J, Nielsen JE, Joensen UN, Toft BG, Rajpert-De Meyts E, Loveland KL. Hanging drop cultures of human testis and testis cancer samples: a model used to investigate activin treatment

- effects in a preserved niche. *Br J Cancer*. 2014; 13;110(10):2604-14.
2. He Y, Bi Y, Ji XJ, Wei G. Increased efficiency of testicular tumor chemotherapy by ultrasound microbubble-mediated targeted transfection of siMDR1. *Oncol Rep*. 2015 Nov;34(5):2311-8.
 3. Tfelt-Hansen J, Ferreira A, Yano S, Kanuparthi D, Romero JR, Brown EM, Chattopadhyay N. Calcium-sensing receptor activation induces nitric oxide production in H-500 Leydig cancer cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2005 Jun;288(6): E1206-13.
 4. Tfelt-Hansen J, Yano S, John Macleod R, Smajilovic S, Chattopadhyay N, Brown EM. High calcium activates the EGF receptor potentially through the calcium-sensing receptor in Leydig cancer cells. *Growth Factors*. 2005 Jun;23(2):117-23.
 5. National Toxicology Program. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Nitrofurazone (CAS No. 59-87-0) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*. 1988 Jun;337:1-183.
 6. Klaunig JE, Kamendulis LM. Mechanisms of acrylamide induced rodent carcinogenesis. *Adv Exp Med Biol*. 2005;561:49-62.
 7. Coulson M, Gibson GG, Plant N, Hammond T, Graham M. Lansoprazole increases testosterone metabolism and clearance in male Sprague-Dawley rats: implications for Leydig cell carcinogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2003 Oct 15;192(2):154-63.
 8. Maronpot RR, Zeiger E, McConnell EE, Kolenda-Roberts H, Wall H, Friedman MA. Induction of tunica vaginalis mesotheliomas in rats by xenobiotics. *Crit Rev Toxicol*. 2009;39(6):512-37.
 9. Delbès G, Chan D, Pakarinen P, Trasler JM, Hales BF, Robaire B. Impact of the chemotherapy cocktail used to treat testicular cancer on the gene expression profile of germ cells from male Brown-Norway rats. *Biol Reprod*. 2009 Feb;80(2):320-7.
 10. Chan D, Delbès G, Landry M, Robaire B, Trasler JM. Epigenetic alterations in sperm DNA associated with testicular cancer treatment. *Toxicol Sci*. 2012 Feb;125(2):532-43.
 11. VandenBerg SR, Herman MM, Ludwin SK, Bignami A. An experimental mouse testicular teratoma as a model for neuroepithelial neoplasia and differentiation. I. Light microscopic and tissue and organ culture observations. *Am J Pathol*. 1975 Apr;79(1):147-68.
 12. Goossens E, Tournaye H. Testicular stem cells. *Semin Reprod Med*. 2006 Nov;24(5):370-8.

KISIM 3

ANDROLOJİDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Selahittin ÇAYAN

Testis Torsiyonu (İskemi-reperfüzyon)

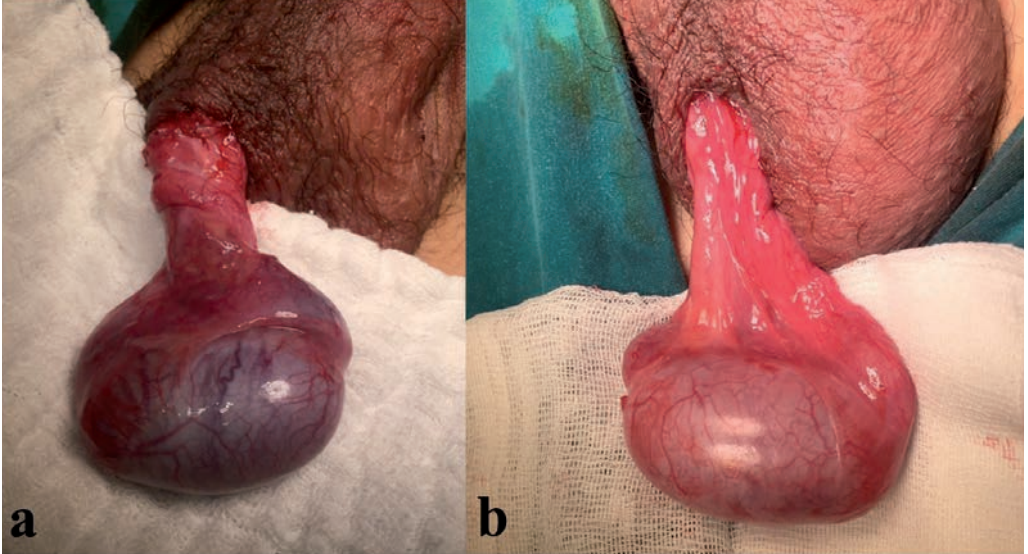
10

Murat BOZLU

Giriş

Testis torsiyonu akut skrotum olarak adlandırılan ve sıklıkla genç erkeklerde görülen ürolojik acil durumlardan biridir (Resim 1). Testis hasarı ve fertilitate kaybına neden olabilen bu durumun tedavisinde ilk basamak testisin en kısa sürede

detorsiyone edilmesidir. Oluşan hasarın şiddeti torsiyonun derecesi ve süresiyle doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle erken tanınması ve erken müdahale edilmesi torsiyone testisin ve dolayısıyla da mevcut spermatogenezisin kaderini belirlemektedir.



Resim 1. Testis torsiyonu (a) ve detorsiyon sonrası (b) testisin görünümü (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).

Epidemioloji ve Etiyoloji

Testis ve tüm eklerinde 25 yaşına kadar torsiyon görülme insidansı 1/160 iken, sadece testis için bu oran 1/4000' dir. Testis torsiyonu her yaş grubunda görülebilir. Özellikle de pubertal dönem ve ilk 1 yaşta pik yapar. Olguların %65'i pubertal dönemde ve 13 yaş grubundadır. Genellikle sol testiste görülürken, olguların %2' sinde iki taraflıdır. İnternal spermatic arter, vücuttaki en uzun end arterdir. Bu nedenle de travmaya maruz kalma riski yüksektir.

Testis torsiyonu için değişik predispozan faktörler tanımlanmıştır. Normalde tunika vaginalis testisin ön yüzünü sarar ve epididimis ya da spermatic kord düzeyinde sonlanır. Tunika vaginalisle ilişkisi açısından iki tip torsiyon tanımlanmaktadır. Tunika vaginalisin spermatic kordun üst düzeylerinde sonlandığı durumlarda, testis tunikal kavitenin içinde serbestçe hareket eder. Postmortem yapılan çalışmalarda %12 oranında saptanan bu varyasyon "çan tokmağı deformitesi" olarak adlandırılır. Çan tokmağı deformitesi, birinci tip olan İntravajinal Torsiyon' a sebep olup, sıklıkla pubertal dönemde görülen torsiyonlardan sorumlu tutulmaktadır. Ayrıca pubertal dönemde testis hacmindeki artış, mezenterik yapıya oranla daha hızlı olup torsiyon olasılığı artmaktadır. Torsiyonların %10' u neonatal dönemde gelişmektedir. Bunların çoğu prenatal dönemde görülmekte, torsiyonun nedeni olarak testisin skrotuma inişinin ve gubernakulumun skrotum duvarına fiksasyonunun tam olmaması sorumlu tutulmaktadır. **Ekstravajinal Torsiyon** olarak tanımlanan bu durumda, testis, epididimis ve tunika vaginalis spermatic kordun üst düzeyinde vertikal aksta torsiyona maruz kalır. Kesin olarak torsiyon teşhisi konulan olguların yaklaşık %25' inde, daha önce en az bir kez oluşmuş ve kendiliğinden geçirilmiş skrotal ağrı hikayesi mevcuttur.

Patofizyoloji

Torsiyon oluştuğunda venöz dönüş bozulur. Buna bağlı olarak ödem, hemoraji ve arteriyel obstrüksiyon gelişir. Kan akımının azalması, tıpkı diğer dokularda gösterildiği gibi testiste de hipoksiye neden olur. Deneysel çalışmalarda testiküler iskemiyeye en duyarlı olan hücrelerin başta spermatogonia ve spermatisitler olmak üzere germ hücreler olduğu gösterilmiştir. İskemik dokularda canlılığı korumak için temel prensip reperfüzyonun sağlanmasıdır. Bu nedenle testis torsiyonlu olgularda zaman geçirmeden müdahale edilmelidir (Tablo 1). Erken müdahale yapılan olgularda testis korunurken, infarkt veya nekroz gelişenlerde orşiektomi yapılması kaçınılmazdır. İnfarkt gelişmeyen ve testisi korunan olgularda anatomik ve fonksiyonel sonuçların uzun dönem takipleri gerekmektedir. Testis torsiyonu saptanan olgularda hasta yaşı orşiektomi için belirleyici faktörlerden biridir. Yaşla birlikte orşiektomi oranları artmaktadır.

Testiste iskemik gelişmesi ve ardından reperfüzyonunun sağlanmasının "reperfüzyon hasarı" na neden olduğunu gösterilmiştir. Reperfüzyon hasarı nötrofil infiltrasyonu ve serbest oksijen radikallerinin (superoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikal) artışıyla yakın ilişkilidir. Oluşan serbest oksijen radikalleri hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonu, protein denatürasyonu ve sonuçta DNA hasarına yol açar.

Tablo 1. Torsiyon süresi ve testisin korunması

Cerrahiye kadar geçen süre	Testisin korunma oranları
< 6 saat	%90-%100
6-12 saat	%70
12-24 saat	%20
2-4 gün	%0-10

Testis Torsiyonunda Hayvan Modelleri

Testis torsiyonu, deneysel çalışmalarda en sık kullanılan hayvan modellerinden biridir. Hayvanlarda yapılan deneysel çalışmaların temel prensipleri göz önüne alındığında, testis torsiyonu için en sık kullanılan model ratlardır. Sık olmamakla beraber, ratların yanı sıra fare, tavşan, domuz ve köpek testislerinde de deneysel torsiyon modelleri oluşturulmuştur. Bu modellerin hemen hepsinde de ana prensipler ratlarda yapılan uygulama gibidir.

Deneysel hayvan modellerinde testiste oluşturulan iskemi iki temel yöntemle sağlanmaktadır:

1. Spermatik kordun döndürülmesi
2. Spermatik kord veya arterin klemplenmesi

Deneysel modellerde genellikle tercih edilen yöntem spermatik kordun döndürülmesidir. Çünkü bu yöntem klinikte saptanan testis torsiyonunu daha iyi yansıtmaktadır. Deneysel testis torsiyonu oluşturulurken torsiyonun derecesi ve süresi ayarlanarak kan akımındaki bozukluğun düzeyi izlenebilmektedir. Doku hasarı hem iskemi hem de reperfüzyon sırasında olduğu için bu takip önem taşımaktadır. İskemik testis dokusunda fonksiyonların bozulmasındaki temel neden, oksijen başta olmak üzere temel besin kaynaklarının yetersiz olması ve atık ürünlerin uzaklaştırılmamasıdır. Hücre içi ATP ve glikojenin azalması ile beraber kalsiyumun artması testis hasarında önemli rol oynamaktadır. Torsiyon süresi uzadığı zaman infarkt gelişmekte ve kan akımı geri dönse dahi fonksiyonel bir testis kalmadığı için orşiektomi gerekmektedir.

Deneysel Testis Torsiyonu Modeli Oluşturulması

Deneysel çalışmalarında en sık kullanılan hayvanlardan biri de ratlardır. Ülkemizde yapılan

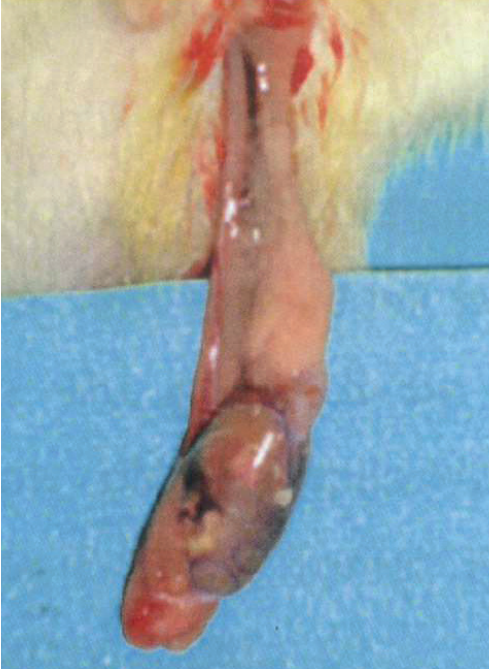


Resim 2. Ratlarda testis torsiyonu modelinde insizyon (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).

testis torsiyonu hayvan modellerinde de en sık prepubertal veya yetişkin ratlar kullanılmaktadır. Hayvan deneyi modellerindeki temel prensiplerin hepsi (hayvan deneyleri etik kurulu onayı, hayvanların elde edilmesi, deney öncesi ve sonrası yaşam ortamları, deney sonrası yaşamlarının sonlandırılması gibi), ratlarla yapılan testis torsiyonu modelinde de geçerlidir.

Ratlarda yapılan testis torsiyonu modelinde cerrahi girişim anestezi altında (intraperitoneal ketamin 50 mg/kg) ve sterilizasyon şartlarına uygun biçimde yapılmaktadır. Testis ve eklerine değişik kesilerle ulaşılmakla beraber, sıklıkla skrotal veya skrotuma uzanan ilioinguinal insizyon tercih edilir (Resim 2).

Bu kesiden spermatik kord ve testise ulaşılır. Keskin ve künt diseksiyonlarla testis gubernakulumdan serbestleştirilir (Resim 3).



Resim 3. Ratlarda testisin serbestleştirilmesi (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).



Resim 4. Ratlarda spermatik kordun 1080° döndürülerek torsiyon oluşturulması (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).

Bu aşamadan sonra sık kullanılan iki farklı yöntemle testis torsiyonu oluşturulabilir. İlk yöntemde Shiraishi ve arkadaşlarının tarif ettiği gibi spermatik kord ile beraber testis ve ekleleri 1080° saat yönünde döndürülerek torsiyon oluşturulur (Resim 4).

İkinci yöntemi Turner ve arkadaşları tanımlamıştır: Testis üst ve alt pollerinde epididimise yapıştığı yerlerden keskin diseksiyonlarla ayrılır. Diseksiyon sırasında testis sadece testiküler hilumla kalacağı için bu bölgede vasküler yapılar zarar vermemeye özen gösterilmelidir. Bu yöntemde testis 720° saat yönünde döndürülerek torsiyon oluşturulur (Resim 5). Bu aşamada testiküler hiluma klemp konularak yapılan deneysel iskemi modelleri de mevcuttur fakat insandaki testiküler torsiyonu tam olarak yansıtmamaktadır.

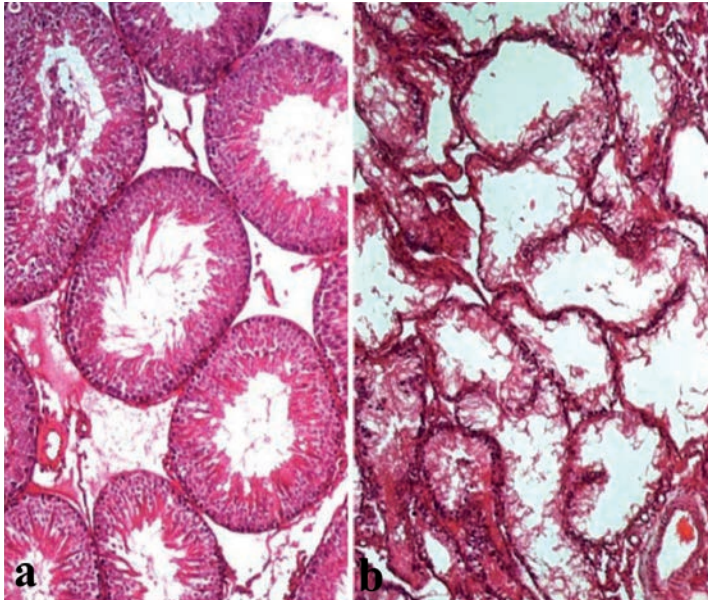


Resim 5. Ratlarda hilum etrafında testisin 720° döndürülerek torsiyon oluşturulması (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).

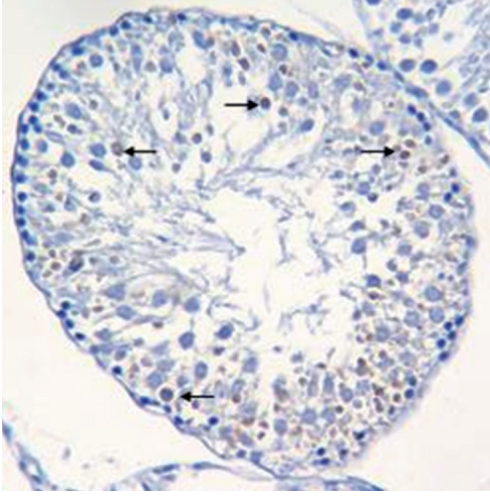
Testis torsiyonu modeli oluşturulan deneysel hayvanlarda, sıklıkla testis hasarı oluşturulabilecek minimal iskemi süresinde çalışılmaktadır. Uzamış testis iskemisinde kan akımı sağlansa dahi testis fonksiyonları geri dönmeyebilir ve testisin çıkarılması gerekebilir. Etik nedenlerle klinikte görülen testis torsiyonlarında torsiyon süresi/spermatogenezis ilişkisi tam olarak çalışılamayabilir. Çünkü torsiyon süresi 6 saati geçen olgularda cerrahi olarak testis korunsa dahi biyolojik olarak korunamamaktadır. Değişik hayvan modellerinde çok farklı sürelerde testis torsiyonu oluşturulmuştur. Genellikle ratlarda kullanılan 1 ya da 2 saatlik 720° torsiyon ve detorsiyon modelidir. Testis kan akımı ciddi olarak bozulduğu bu modellerde, seminifer tübül epitelinde hasar olduğu spermatogenezisin bozulduğu gösterilmiştir. Bu süreçte gelişen iskemi/reperfüzyon hasarındaki ana patoloji nötrofil aktivasyonu, inflamatuvar sitokinler ve endotelial hücre adezyon molekülleri, hücre içi yoğun kalsiyum salınımı ve serbest oksijen radikallerinin artışıdır.

Deneysel Testis Torsiyonu Modelinde Çalışılan Parametreler

Deneysel iskemi/reperfüzyon hasarı oluşturulan diğer organ ve dokularda olduğu gibi testis torsiyonunda da değişik oksidatif stres belirteçleri çalışabilmektedir. Deneysel testis torsiyonu oluşturulan deney hayvanlarında diğer modellerden farklı olarak kısa ve uzun dönemde çalışılacak parametreler önem taşımaktadır. Özellikle uzun dönemde bakılacak parametrelerde, kullanılan deney hayvanı için geçerli olan testiküler siklusun süresine dikkat etmek gereklidir. Kısa dönemde sıklıkla lipid peroksidasyon ürünleri (malondialdehide, thiobarbituric acid reactive substances), nitrik oksit, nötrofil içeriği (myeloperoksidase aktivitesi) ve çeşitli oksidatif stres belirteçleridir. Uzun dönemde ise seminifer tübül çapı, germinal epitel tabaka kalınlığı, testiküler biyopsi skoru (Johnsen skoru) ve germ hücre spesifik apoptozis çalışılabilmektedir (Resim 6 ve Resim 7). Turner ve Lysiak, deneysel hayvanlarda oluşturdukları testis is-



Resim 6. Ratlarda normal (a) ve torsiyone (b) testiste seminifer tübül çapları (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).



Resim 7. Rat testisinde germ hücre spesifik apoptozis (Testis torsiyonu arşivi. Prof. Dr. Murat Bozlu).

kemi/reperfüzyon modelinde, hüresel ve moleküler olayların vasküler endotelde başladığını ve germ hücre spesifik apoptozisin önemli rolü olduğunu göstermişlerdir.

Testis torsiyonunda detorsiyon sonrası saatler hatta günler sonra testiküler mikrovasküler kan akımında değişiklikler olabilir. Lysiak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gösterildiği gibi bu durum vazomosyon olarak adlandırılan; siklik vasküler kontraksiyon ve relaksasyonla seyreden kompleks olayla açıklanmaktadır. Vazomosyonda nitrik oksitin önemi büyüktür. Torsiyonda hüresel adezyon moleküllerinin düzenleyicisi olan testiküler nitrik oksit artmaktadır. Hüresel adezyon molekülleri lökosit migrasyonu dengesinde önem taşıdığı için, testis ve diğer dokuların iskemi/reperfüzyon hasarında anahtar rol oynamaktadır.

Tek taraflı testis torsiyonunda, her iki testiste reperfüzyon hasarı gösterilmiştir. Bunun aksini gösteren deneysel çalışmalar da mevcuttur. Karşı taraf testisin nasıl etkilendiği net olarak açıklanamamakla beraber, sıklıkla immüno-lojik mekanizmalar ve testislerdeki doğumsal

anormallikler sorumlu tutulmaktadır. Tek taraflı testis torsiyonunda, karşı taraf testiste görülebilecek hasarın hastanın yaş grubuyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Prepubertal ve adult ratların karşılaştırıldığı çalışmalarda, prepubertal ratların testislerinin kısa dönem torsiyona daha dayanıklı olduğu ve fonksiyonlarını sürdürdüğü bildirilmiştir.

Deneysel Testis Torsiyonu Modelinde Hasarın Önlenmesi

Yapılan deneysel çalışmalarda, detorsiyon sonrası ortaya çıkabilecek testiküler hasarı önlemek için değişik farmakolojik ajanlar kullanılmıştır. Oksidatif stresin neden olduğu hasarı önlemek için antioksidanlar, nitrik oksit prekürsörleri, lipid peroksidasyonunu azaltıcı ajanlar, anjiogezi uyarıcı ajanlar, antiinflamatuvarlar, vitaminler ve hormonların etkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Fakat bunların çoğu sadece laboratuvar ortamında başarılı olmuş ve klinik etkinlikleri gösterilememiştir. Deneysel hayvanlardaki iskemi/reperfüzyon modellerinde başarısı gösterilen ve klinik pratikte uygulanması en kolay yöntemlerin başında soğuk uygulama gelmektedir.

Klinik ve deneysel çalışmaların tartışmalı sonuçlarına rağmen; testis torsiyonunda bilinen gerçek "acil müdahale" edilmesinin gerekliliğidir. Burada amaç testis fonksiyonlarının ve fertilitenin korunmasıdır. Oluşan hasarda torsiyon süresi, derecesi ve hastanın yaş grubu önemli faktörlerdir. Mutlaka 4-6 saat içinde müdahale yapılmalı ve karşı taraf testise de fiksasyon işlemi uygulanmalıdır. Eğer semptomların süresi 8 saati geçtiyse ciddi atrofi, 12 saati geçmişse de testiküler nekroz gelişme riski yüksektir. Semptomları 24 saati geçen olgularda orşiektomi yapılması, karşı testisin fonksiyonlarını sürdürmesini sağlamaktadır. Tek taraflı torsiyonlarda, diğer testisin nasıl hasar gördüğüne dair kesin bilgiler olmamasına rağmen immüno-lojik me-

kanizmalar ve testislerdeki doğumsal anormallikler sorumlu tutulmaktadır. Prebubertal dönemde gelişen torsiyonlarda fertilitenin etkilenme olasılığı daha az görülmektedir.

Kaynaklar

1. Jacobsen FM, Rudlang TM, Fode M, Østergren PB, Sønksen J, Ohl DA, Jensen CFS; CopMich Collaborative. The Impact of Testicular Torsion on Testicular Function. *World J Mens Health*. 2019 Apr 10. doi: 10.5534/wjmh.190037.
2. Ellati RT, Kavoussi PK, Turner TT, Lysiak JJ. Twist and Shout: A Clinical and Experimental Review of Testicular Torsion. *Korean J Urol*. 50(12):1159-116, 2009.
3. Williamson RCN. Torsion of the testis and allied conditions. *Br J Surg* 63: 465, 1976.
4. Visser AJ, Heyns CF. Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU Int* 92(3):200-3, 2003
5. Caesar R, Kaplan G. Incidence of the bell clapper deformity in an autopsy series. *Urology* 44: 114, 1994
6. Akgür FM, Kılınc K, Aktuğ T. Reperfusion injury after detorsiyon of unilateral testicular torsion. *Urol Res* 21: 395, 1993
7. Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant Therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 53: 135, 2001
8. Sarıca K, Bakır K. Semiquantitative evaluation of testicular histology after testicular torsion: protective effect of external cooling. *Urol Int* 63: 110, 1999
9. Bozlu M, Eskandari G, Çayan S, Canpolat B, Akbay E, Atik U. The effect of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) inhibitors on biochemical changes in testicular ischemia/reperfusion injury. *J Urol*. 169(5):1870-3, 2003.
10. Akgür FM, Kılınc K, Tanyel FC, Büyükpamukçu N, Hiçsönmez A. Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and detorsion. *Urology* 44: 413, 1994
11. Nagler HM, White DR. The effect of testicular torsion on the contralateral testis. *J Urol* 128: 1343, 1982
12. Lysiak JJ, Turner SD, Nguyen QA, Singbartl K, Ley K, Turner TT. Essential role of neutrophils in germ cell-specific apoptosis following ischemia/reperfusion injury of the mouse testis. *Biol Reprod*. 65(3):718-25, 2001.
13. Bozlu M, Coşkun B, Cayan S, Acar D, Aktaş S, Ulusoy E, Akbay E. Inhibition of poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase decreases long-term histologic damage in testicular ischemia-reperfusion injury. *Urology* 63(4):791-5, 2004.
14. Tunçkiran A, Cayan S, Bozlu M, Yılmaz N, Acar D, Akbay E. Protective effect of vascular endothelial growth factor on histologic changes in testicular ischemia-reperfusion injury. *Fertil Steril* 84(2):468-73, 2005.
15. Bozlu M. Allopurinol provides long-term protection for experimentally induced testicular torsion in a rabbit model. *BJU Int* 96(4):686-7, 2005.
16. Bozlu M, Acar D, Cayan S, Aktas S, Tunckiran A. Protective effect of trapidil on long-term histologic damage in a rat model of testicular ischemia-reperfusion injury. *World J Urol*. 27(1):117-22, 2009.
17. Erol B, Bozlu M, Hanci V, Tokgoz H, Bektas S, Mungan G. Coenzyme Q10 treatment reduces lipid peroxidation, inducible and endothelial nitric oxide synthases, and germ cell-specific apoptosis in a rat model of testicular ischemia/reperfusion injury. *Fertil Steril* 93(1):280-2, 2010.
18. Çayan S, Saylam B, Tiftik N, Ünal ND, Apa DD, Efesoy O, Çimen B, Bozlu M, Akbay E, Büyükaşar K. Rho-kinase levels in testicular ischemia-reperfusion injury and effects of its inhibitor, Y-27632, on oxidative stress, spermatogenesis, and apoptosis. *Urology* 83(3):675.e13-8, 2014.
19. Karaguzel E, Kadıhasanoğlu M, Kutlu O. Mechanisms of testicular torsion and potential protective agents. *Nat Rev Urol* 11(7):391-9, 2014.
20. MacDonald C, Kronfli R, Carachi R, O'Toole S. A systematic review and meta-analysis revealing realistic outcomes following paediatric torsion of testes. *J Pediatr Urol*. 14(6):503-509, 2018.

Varikosel

11

Selahittin ÇAYAN, Mesut TEK

Erkek infertilitesinin en önemli düzeltilebilir patolojisi olarak bilinen varikosel, spermatik kordondaki pampiniform pleksusun patolojik dilatasyonu olarak tanımlanır. Varikoselin infertilite üzerine olan olumsuz etkisinin patofizyolojisi tam olarak netlik kazanmamakla birlikte testiküler ısı artışı, artmış ya da azalmış testiküler kan akımı, renal ve adrenal metabolitlerin testise reflüsü ve toksik etkisi, hipoksi, hormonal bozukluk ve apoptozis gibi pek çok faktör bu etkiden sorumlu tutulmaktadır. Günümüzde varikosel patofizyolojisine yönelik pek çok makale yayınlanmış olmasına rağmen, testiküler disfonksiyon ve infertilitenin patofizyoloji-genetik mekanizmasının açıklanmasındaki yaklaşımların yetersiz olması deneysel çalışmaların sık kullanılmasının temelini oluşturmaktadır. Bu fizyopatolojik araştırmaların insan hastalarda araştırılmasının güçlüğü, yaş, çevre, varikosel süresi ve sağlık durumu gibi konularda uygun kontrol grubunun bulunmasındaki zorluklar ve insan araştırmalarındaki etik zorluklar nedeni ile hayvan modelleri popüler hale gelmektedir.

Hayvan modeli insanlara ait bir hastalıkta, insana herhangi bir zarar vermeden veya etik bir soruna neden olmadan, hastalığı daha iyi anlamaya, tedavi yöntemlerini test etmeye ya-

rayan çalışmaların yapıldığı insan haricindeki bir hayvanda gerçekleştirilen deneysel modellerdir. Deneysel varikosel hayvan modellerinin kullanılma nedenleri; insan çalışmalarının invaziv olamaması, deneysel amaçlı cerrahi işlemin yapılamaması, doku elde edilmesinin oldukça sınırlı olması ve uygun kontrol grubunun oluşturulmasında yetersizlik olarak sıralanabilir. Deneysel varikosel oluşumunda kullanılan hayvanlar arasında, sıçanlar, köpek tavşan, hamster ve maymunlar yer almakta olup çalışmaların çoğunluğu sıçanlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. Sıçanlarda insan ile benzer olarak testisin primer drenajının internal spermatik venle, sekonder drenaj yolunun ise internal ilyak ven aracılığıyla olması deneysel varikosel modelinde, daha sıklıkla sıçanların tercih edilmesini açıklamaktadır. Farklı hayvanlarda oluşturulan deneysel varikosel modelleri yararlı çalışmalar olmasının yanında bir takım kısıtlamaları da beraberinde getirmektedir. Bunlar arasında varikoselin ani başlangıçlı olması, iyatrojenik olarak gelişmesi, zaman kısıtlılığına bağlı değişken doğasının olması sayılabilir. Cerrahi ile elde edilen hayvan modellerinin sıklıkla erişkin hayvanlarda yapılıyor olması, insan spermatogenezinde varikoselin adolesan dönemden

itibaren artarak devam eden etkisini tam olarak ortaya koyamaması bir başka kısıtlanma nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle cerrahi modelde elde edilen varikoselin zamana bağlı olarak testisler ve spermatogenez üzerine etkilerinin standardize edilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak deneysel varikosel modeli oluşturulurken amaç;

- Varikosel patofizyolojisi ve meydana gelen testis hasarı hakkında daha fazla bilgi elde etmek,
- Varikoselin cerrahi tedavisi sonrası elde edilen klinik ve histopatolojik bulgularla klinik yorum yapmak,
- Klinik etkisi tam olarak bilinmeyen çeşitli ajanlar kullanılarak varikoselin testis üzerine yaratmış olduğu olumsuz etkiyi gidermeye çalışmaktır.

DeneySEL Varikosel Modelleri Nasıl Oluşturulur:

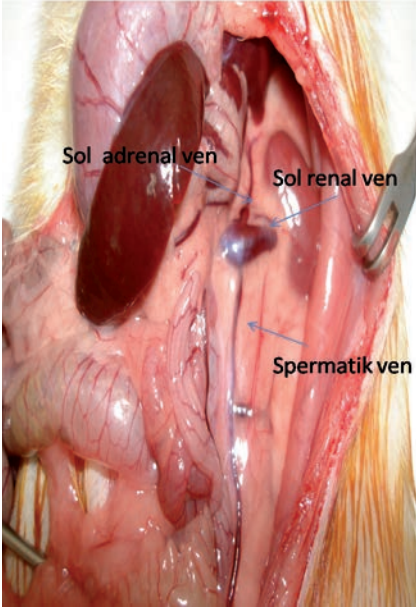
Pek çok ürolojik patolojinin değerlendirilmesinde deneysel hayvan modelleri kullanılmaktadır. Varikosel için de 30 yılı aşkın süredir deneysel hayvan modelleri uygulanmaktadır. Normalde deney hayvanlarında spontan varikosel görülmemektedir. Varikosel oluşturulması için literatürde renal venin çapının yarı yarıya daraltıldığı ya da internal spermatic venin daraltıldığı farklı modeller tariflense de en sık uygulanan yöntem Turner ve arkadaşlarının tanımlandığı yöntemin uygulandığı modeldir. Bu modelde varikoselin önemli nedenlerinden biri olan ve aort ile superior mezenterik arterin arasında renal venin sıkışması ile gelişen "fındıkkıran" fenomeninin taklit edilmesi söz konusudur. Yakın zamanda yayınlanan bir makalede klasik renal venin daraltıldığı prosedürden farklı olarak daraltma işleminde 4/0 sütür yerine 0,7 mm, 0,8 mm ve 0,9 mm genişliğinde klipsler ile daraltma işleminin yapıldığı tariflenmiştir.

Burada literatürde en sık kullanılan Turner ve arkadaşlarının tariflediği model ayrıntılı olarak anlatılacaktır. Bu modelde 4-6 haftalık adölesan ya da 10-12 haftalık erişkin sıçanlarda genel anesteziyi (Xylasin 15mg/kg İM –ketamin 75 mg/7kg İM kombinasyonu ile) takiben batın orta hat kesisi (Resim 1) yapılarak kolon sağa doğru devrilerek sol böbrek, adrenal ven, renal ven ve spermatic venin sol renal vene giriş yeri görünür duruma getirilir (Resim 2).

Keskin ve künt diseksiyonlarla spermatic ven ve adrenal venin sol renal vene girdiği mediyal yüz yağ dokulardan temizlenerek renal ven serbestleştirilir. İnce bir disektör ile renal venin arka yüzü körlemesine dönülerek daraltılacağı bölümde renal venin altından 4/0 ipek sütür geçirilir (Resim 3). Bu körlemesine geçiş



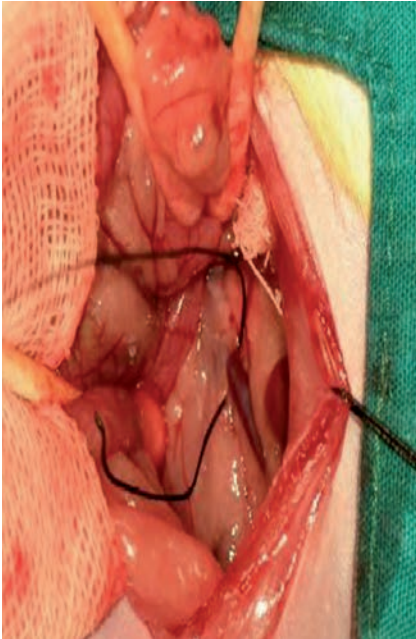
Resim 1. Batın orta hat insizyon



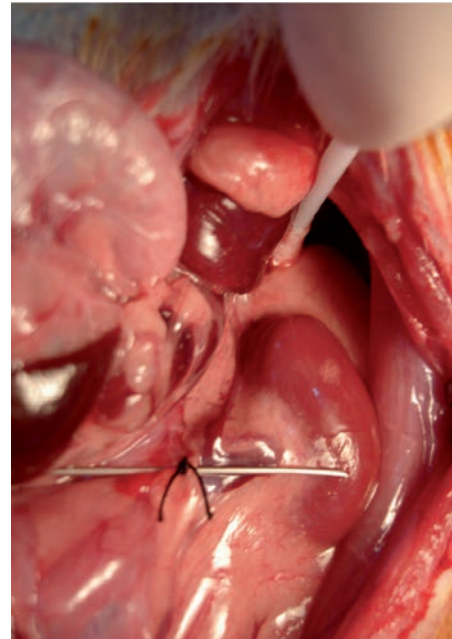
Resim 2. Kolon medialize edilerek sol renal ven, adrenal ven ve spermatic venin görünür hale getirilmesi.

sırasında gelişebilecek kanamalar bir süre yapılacak basınçlı tampon ile kolaylıkla durdurularak görüntü alanının kirlenmesi engellenmiş olur. Daha sonra renal ven üzerine 0,85 mm çaplı metal prob, renal vene paralel olacak şekilde yerleştirilir ve daha önceden renal venin altından geçirilen 4/0 ipek sütür ile bağlanarak yaklaşık 1 mm çaplı bir daraltma işlemi gerçekleştirilir ve ardından prob çekilir (Resim 4). Benzer işlem köpekte yapıldığında hemostat üzerinden bağlama yapılarak yaklaşık 3 mm'lik bir daraltma işlemi gerçekleştirilir.

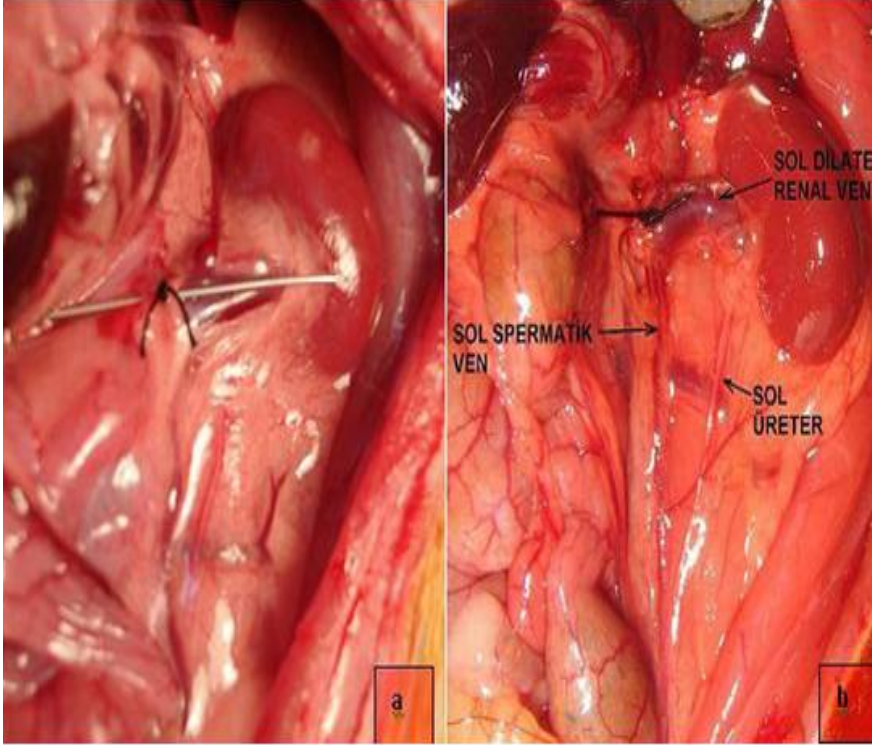
Bu daraltma işlemi sonrası darlığın lateralinde renal venede artmış damar içi basınca neden olarak bu basıncın spermatic vene aktarılmasına, sonuç olarak da varikosel gelişimine neden olur. Normalde sıçanda 0,15-0,20 mm olan internal spermatic ven çapı cerrahiden hemen sonra artmaya başlayarak 30 gün içerisinde



Resim 3. Renal venin altından 4/0 ipek geçirilmesi.



Resim 4. Renal venin üzerine 0,85 mm çaplı prob konularak üzerinden renal venin daraltılması.



Resim 5. Renal venin bağlanması sonrası sol spermatik venede dilatasyon.

de 1-1,5 mm çapa ulaşmaktadır (Resim 5). Olası abdominal kollateraller, bağlama veya koterizasyonla kontrol altına alındığında deneyimli ellerde varikosel elde etme başarısı %90'ların üzerinde bulunmuştur. Bu yöntem ile insanda da varikosel oluşumunun sebepleri arasında gösterilen; sol renal venin aort ve superior mezenterik arter arasında sıkışması sonucu oluşan "fındıkkıran" fenomeni taklit edilmiştir olmaktadır. Asepsi-antisepsi sağlamak amacı ile abdominal boşluk gentamisin sülfat (10 mg/ml) ile yıkanır. Takiben abdominal duvar ve cilt ayrı ayrı 4/0 krome katgüt ile anatomik planda kapatılır.

Varikosel oluşturulmasında en kritik aşama renal venede oluşturulan darlığın çapıdır. Daraltma işlemi gereğinden fazla yapıldığı takdirde

renal venede tam oklüzyon ve böbrek nekrozu meydana gelirken, daha az yapıldığı durumda ise intrarenal ven basıncındaki yükselme yetersiz olacağından varikosel oluşturulması başarısız olabilir. Elde edilen deneyimlere göre yetişkin bir Sprague-Dawley cinsi bir sıçanda (450-550gr ağırlığında) 0,85 mm'lik metal probun bu daraltma işlemi için yeterli olduğu belirlenmektedir.

Varikosel modelinde başarı değerlendirilirken Turner'ın önerdiği gibi spermatik ven çapı, iliolumbar veni çaprazladığı bölgeden loop ile büyütme altında ölçülmelidir. Bu ölçümü papmpiniform pleksus seviyesinde yapabilmek neredeyse imkansız olup sadece dilatasyonun buraya kadar devam ettiğinin gözlemlenmesi yeterlidir. Erişkin bir Sprague-Dawley sıçanda

spermatik ven çapının 30 günün sonunda 1-1,5 mm çapa çıkması baklenmektedir (başlangıçta 0,15-0,20 mm olduğu akılda tutulmalı). Ölçüm sırasında dikkat edilmesi gereken bir diğer konu da spermatik ven ile üreteral venin karıştırılmaması olmalıdır.

Deneyel Varikosel Modelleri ile Yapılan Çalışmalar

Literatürde venöz distansiyonun görsel olarak elde edilebildiği deneyel varikosel modellerinde tek taraflı varikosele bağlı her iki testiküler kan akımının da arttığı ve bunun sonucunda testiküler ısı artışı ve intersitisyel dokuda basınç artışı olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında testiküler kan akımında azalmanın olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Pampiniform pleksusta arteriyel kan akımının artması sonucu karşılıklı ısı değişim mekanizmalarında aksama olmakta, bu da testiküler ısı artışı ile sonuçlanmaktadır. Artmış intratestiküler ısı ise özellikle intraselüler enzimlerde değişikliklere yol açarak spermatogenezde olumsuz yönde etkilemektedir. Rajfer ve arkadaşları intratestiküler testosteron azalması sonucu 17 α -Hidroksilaz aktivitesinde azalma olduğunu göstermişlerdir. Varikosel oluşturulan hayvanlar fertil olmalarına rağmen zamanla seminifer tübüllerin %25-50'sinde hipospermatogenez ile birlikte spermatosit ve spermatidlerde erken dökülmeler olduğu bildirilmiştir. Marmar ve arkadaşları ise varikosel oluşturulan sıçanlarda karşı testiste de histopatolojik değişikliklerin olabileceğini göstermişlerdir. Varikosel olgularında oligospermi gelişimi ve spermatogenezdeki bozulma, sıçan modelinde TUNEL boyama tekniği kullanılarak 14. günde testiste artmış apoptozisin gösterilmesi ile açıklanmaya çalışılmıştır. Artmış apoptozis varlığı ve bu artışın varikoselin süresi ile doğrusal ilişkide olduğu gösterilmiştir. Buna karşın testiste apoptozis ve varikosel arasında bir bağlantı kurulmadı-

ğı, mutant P53 ekspresyonunun varlığını öne süren çalışmalar da bulunmaktadır.

Deneyel varikosel oluşturulduktan 30 gün sonra epididimal transport ve intratestiküler vasküler geçirgenlikte değişiklik gösterilmiştir. Sıçan modelinde varikoselin kan testis bariyerini etkilemediği, ancak kontrol grubuna oranla varikosel grubunda daha fazla antisperm anti-kor seviyesinin saptandığı bildirilmiştir.

Varikosel modellerinde medikal tedavinin etkilerinin araştırıldığı çalışma sınırlıdır. Bunlardan en kapsamlı olanı Sofitikis ve arkadaşlarının sıçan varikosel modelinde HCG, kallikrein, indometazin ve hidralazin tedavi gruplarında medikal tedaviyi kontrollü olarak değerlendirdikleri çalışmadır. Sonuçta cerrahi tedavi tüm medikal tedavi gruplarına göre üstün bulunmuş, sperm sayısı, motilitesi, testis volümü açısından cerrahiye en yakın sonuçlar HCG+Kallikrein grubunda bildirilmiştir. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada ise deneyel varikosel oluşturulmuş sıçanlarda intratestiküler vasküler endotelial growth (VEGF) faktör uygulamasının apoptoziste azalma ve Johnsen skorlarında artış sağlayarak spermatogenezdeki bozulmayı azalttığı gösterilmiştir.

Hayvan modelleri deney sürecinin kontrol altında olması, dış etkenlerin en az seviyeye indirilmesi nedeniyle oldukça yararlı ve sık tercih edilen modellerdir. Hayvanlar üzerinde oluşturulan deneyel modeller, gerçek fizyopatolojiyi taklit etmek suretiyle oluşturuluyor olsalar da bazı kısıtlamaları bünyesinde barındırmaktadır. Örneğin sıçanlardaki varikosel modeli değerlendirilecek olursa sıçanlarda oluşturulan varikosel akut başlangıçlı olup insanda kronik süreçte gelişen spermatogenezdeki değişikliklerin tam olarak karşılanamamasına neden olabilmektedir. Bir diğer kısıtlama ise bu modellerin varikoselin nasıl olduğu konusunda yol gösterici olmayıp daha çok varikosel sonucunda oluşan değişikliklerin araştırılmasında kullanılabiliyor olmasıdır.

Sonuç olarak deneysel varikozel modelleri 30 yılı aşkın süredir kullanılmakta olup varikozelin spermatogenez ve fertiliteye olan olumsuz etkilerinin, mekanizmalarıyla birlikte anlaşılması açısından oldukça yararlı bilgiler sunduğu aşikardır. Bazı kısıtlılıkları bulunmakla birlikte sıçanlarda oluşturulan varikozel modelleri varikozelin etkilerinin araştırılmasında kullanılmaya uygun bir modeldir ve ülkemizden de ciddi araştırmalarla literatüre önemli katkı sağlamaya devam etmektedir. Bunun yanında gelecekte transgenik olarak spontan varikozel oluşturulan modellerde moleküler ve genetik bilginin geliştirilip klinik uygulamaya sokularak varikozel fizyopatolojisi ile ilgili daha birçok bilinmeyenin ortaya konulabileceği araştırmaların yapılabileceği öngörülebilir.

Kaynaklar

- Cockett AT, Takihara H, Cosentino MJ. The varicocele. *Fertil Steril.*, 1984 Jan; 41(1): 5-11.
- Takihara H, Sakatoku J, Cockett AT. The pathophysiology of varicocele in male infertility. *Fertil Steril.* 1991 May; 55(5): 861-8.
- Benoff SH, Millan C, Hurley IR, Napolitano B, Marmar JL. Bilateral increased apoptosis and bilateral accumulation of cadmium in infertile men with left varicocele. *Hum Reprod.* 2004 Mar;19(3): 616-27.
- Turner TT. The study of varicocele through the use of animal models. *Hum Reprod Update.* 2001 Jan-Feb;7(1):78-84
- Marmar JL. The pathophysiology of varicoceles in the light of current molecular and genetic information. *Hum Reprod Update.* 2001 Sep-Oct;7(5):461-72.
- Guo WB, Yang C, Bian J, Xia H, Yang JK, Zhou QZ, Chen MK, Xue KY, Zhang WS, Wang P, Li X, Liu CD. With a new clip technique surgically inducing varicocele in Sprague-Dawley rats. *BMC Urol.* 2018 Jun 7;18(1):58.
- Choi H, Kim KS, Kim KM. The effect of experimental varicocele on the testis of adolescent rats. *J Urol.* 1990 Aug;144(2 Pt 2):499-501.
- Oksay T, Ergün O. Deneysel varikozel modeli. *JCAM,* 2004; 2: 223-226.
- Hsu HS, Chang LS, Chen MT, Wei YH. Decreased blood flow and defective energy metabolism in the varicocele-bearing testicles of rats. *Eur Urol.* 1994;25(1):71-5.
- Koçak İ. Varikozelde hayvan modelleri. *Androloji Bülteni,*2006;1: 143-146.
- Rajfer J, Turner TT, Rivera F, Howards SS, Sikka SC. Inhibition of testicular testosterone biosynthesis following experimental varicocele in rats. *Biol Reprod.* 1987 May;36(4):933-7.
- Tek M, Cayan S, Yılmaz N, Oğuz I, Erdem E, Akbay E. The effect of vascular endothelial growth factor on spermatogenesis and apoptosis in experimentally varicocele-induced adolescent rats. *Fertil Steril.* 2009 May; 91(5 Suppl): 2247-52.
- Kilinc F, Guvel S, Kayaselcuk F, Aygun C, Egilmez T, Ozkardes H. p53 expression and apoptosis in varicocele in the rat testis. *J Urol.* 2004 Dec;172 (6): 2475-8.
- Kilinc F, Kayaselcuk F, Aygun C, Guvel S, Egilmez T, Ozkardes H. Experimental varicocele induces hypoxia inducible factor-1alpha, vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis in the rat testis. *J Urol.* 2004 Sep;172(3): 1188-91.
- Turner TT, Caplis LA, Rhoades CP. Testicular vascular permeability: effects of experimental lesions associated with impaired testis function. *J Urol.* 1996 Mar;155(3): 1078-82.
- Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. *Hum Reprod Update.* 2001 Sep-Oct;7(5):473-81.
- Sofikitis N, Takahashi C, Kadowaki H, Okazaki T, Nakamura I, Shimamoto T, Saeki H, Miyagawa I. Surgical repair versus medical treatment of varicocele in the rat: pharmacological manipulation of the varicocele-bearing testis. *Eur Urol.* 1992;22(1):44-52.

Vazal-Epididimal Obstrüksiyon

12

Fuat KIZILAY, Barış ALTAY

Erkek ratlarda vazektomi, hormonal fonksiyonları ve spermatogenezi etkilemeden steriliteye neden olabilir. Vazektomi, iyatrojenik sterilite oluşturmak, testiste iskemi oluşturmak ve/veya etkisinin araştırılması istenen bir ajanın uygulanmasından önce veya sonra testis histopatolojisinin incelenmesi için androloji alanındaki deneysel çalışmalarda sıklıkla başvurulan bir prosedürdür.

Vazektomi Teknikleri

Duktus Deferensin Ligatüre Edilmesi

Ratlarda sterilite oluşturmak için duktus deferenslere ligatür konulması, en yaygın kabul gören yöntemdir. İpek sütürler kullanılarak uygulanan bu teknikte önemli bir postoperatif komplikasyon da görülmemiştir (1-5). İşlem öncesinde hayvanlara sıklıkla Xylazin hidroklorid (Rompun, Bayer) ile veya ketamin hidroklorid (Ketalar, Parke-Davis) ile intraperitoneal anestezi uygulanmaktadır.

Hayvanlar operasyon masasına yapıştırıcı bantlarla sıkıca sabitlenir. Penil dokunun yaklaşık 1.5-2 cm üzerinde abdomen üzerinden

yaklaşık 1.5-2 cm genişliğinde dik bir insizyon yapılır ve peritoneal boşluğa girilir ve testis ve epididimler dışarı alınır. Kauda epididimisin sonlandığı bölgeden duktus deferens 2 cm aralıklarla 5/0 veya 6/0 ipek sütürler ile bağlanır. Ligatüre edilen sütürler arasındaki yaklaşık 1 cm'lik duktus deferens dokusu eksize edilir ve testis dokusu yerine konulur. Aynı işlem kontralateral tarafa da uygulanır ve işlem sonlandırılır.

Duktus Deferensin Uçlarının Kendi Üzerinde Dügümlendiği Teknik

Timurkan ve ark.'nın tarif ettiği bu teknikte, hayvanlara anestezi uyguladıktan sonra duktus deferens orta noktasından transekte edilir ve uçları kendi üzerinde bağlanır (Şekil 1). Testisler, diğer yöntemlerde olduğu gibi yerlerine konulur ve katlar kapatılarak işlem sonlandırılır (6). Araştırmacılar bu yöntemin uygulanmasından sonra ratların çiftleşmesi sonrasında dişi ratların vajinal sürüntüsünde hiç spermatazoit hücrelerine rastlamamışlardır. Bu yöntemle, duktus deferense hiç sütür konulmadan sperm geçişi başarıyla engellenebilir.

Abdominal ve Skrotal Vazektomi Yaklaşımları

Ratların ve farelerin abdominal insizyonda daha fazla ağrı duyacağı öngürülerek skrotal yaklaşımlı vazektominin hayvanlarda daha az ağrıya neden olabileceği varsayılarak iki yöntem, hayvanların aneljezik ihtiyacı bakımından karşılaştırılmıştır (7). Abdominal cerrahi, abdominal duvarda 1 cm'lik transvers bir kesi yapılarak uygulanmıştır. Testisler dışarı alınmış, vas deferens bulunmuş ve vasın küçük bir kısmı elektrokoter kullanılarak ablate edilmiştir. Abdominal duvar, 5/0 Vicryl sütün ile kapatılmıştır. Cilt ise doku yapıştırıcısı ve 5/0 Vicryl sütürler ile kapatılmıştır. Skrotal cerrahi ise skrotal kesede 0.5 cm'lik bir kesi ile yapılmış ve benzer şekilde küçük bir segment çıkarıldıktan sonra testisler yerlerine yerleştirilmiş ve cilt insizyonu yalnızca doku yapıştırıcısı ile kapatılmıştır. Her iki yöntemde de hiçbir önemli intraoperatif komplikasyon bildirilmemiştir. İşlemlerden sonra farelerin davranışları kamerayla görüntülenmiş ve hayvanların tepkileri neticesinde ağrı derecelendirilmesi için objektif bir skalayla değerlendirme yapılmıştır. Skrotal tekniğin uygulandığı farelerde gözlenen ağrı ile ilişkili tepkilerin abdominal yöntemle göre daha az olduğu saptanmıştır.

Farklı fulgurasyon yöntemlerinin rat testis yapısı üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada Shapiro ve Silber ile Schmidt koterizasyon teknikleri karşılaştırılmıştır (8). Her iki koterizasyon tekniği de rat testis yapısında sekel oluşturmamış ve testis morfolojisi normal kalmıştır. Her iki teknik, postvazektomi 1. ayda seminifer epiteli alanında anlamlı bir azalmaya neden olmuştur ancak, 3 ay sonrasında değerler normal seviyeye dönmüştür. Farklı fulgurasyon yöntemleriyle uygulanan vazektominin rat testis yapısında değişikliğe yol açmayacağı sonucuna varılmıştır. Deniston ve ark., vazektomide ligatür ve koterizasyon tekniklerini karşıla-

tırmış ve başarısızlık oranlarının sırasıyla, %1-6 ve %0.24 olduğunu bulmuşlardır (9). Huber'in non-cerrahi tekniği olarak bilinen küçük bir skrotal delikten uygulanan vazektomisi daha az kanamaya ve daha hızlı iyileşmeye neden olması nedeniyle insanlarda yaygın kabul görmüştür (10). Birçok araştırmacı, duktus deferensin mekanik ve kimyasal destrüksiyonuna dayanan vazektomi tekniklerinin konvansiyonel yöntemle göre daha başarılı olduğunu bildirmiştir (11-14).

Non-invaziv Lazer Vazektomi Tekniği

İnsizyonun morbiditesi, kanama, enfeksiyon ve skrotal ağrı gibi vazektominin beraberinde getirdiği komplikasyonlar nedeniyle noninvazif bir vazektomi tekniği arayışına gidilmiştir. Erkek sterilizasyonu, kadın sterilizasyonuna (tubal ligasyon) göre daha başarılı, güvenli, ucuz ve uygulaması daha kolaydır. Ancak yine de kadın sterilizasyonu, vazektominin potansiyel komplikasyonları (insizyon, kanama, enfeksiyon ve skrotal ağrı) nedeniyle daha popülerdir. Bu nedenle tamamen noninvazif bir vazektomi tekniği geliştirilerek bu endişelerin giderilmesi gündeme gelmiştir. Köpek skrotal cilt yüzeyine 60 saniye boyunca 1.075 nm dalgaboyunda, ortalama 11.7 W gücünde, 1-saniye atım süresi, 0.5 Hz atım hızı ve 3-mm çapta alanı kapsayan iterbiyum fiber lazer radyasyonu kriyojen soğutma uygulanmıştır. Vaz termal lezyon boyutları 3.0 ± 0.9 mm uzunluğunda ve 2.0 ± 0.3 mm çapında ölçülmüştür. Cilt hasarı olmamıştır. Koagüle edilen vazın patlama basıncı klasik vaz ejakülasyon basıncı olan 136 ± 29 mm Hg'den anlamlı olarak daha yüksek olarak 295 ± 72 mm Hg olarak ölçülmüştür (15). Ex vivo olarak bir köpek doku modelinde gerçekleştirilen noninvazif termal koagülasyon ve vaz oklüzyonu, bu yöntemin önemli bir komplikasyona yol açmadan etkin bir şekilde uygulanabileceğini ortaya



Şekil 1. Duktus deferensler kendi üzerinde bağlanır

koymuştur. Ancak bu yöntemin klinik uygulamada rutin kullanıma girebilmesi için kronik in vivo hayvan çalışmaları ile lazer-soğutma tedavilerinin optimizasyonu ve ejakülatta spermin yokluğu ile uzun-dönem oklüzyonunun konfirmasyonu gereklidir.

Epididimal Ligasyon Teknikleri

Epididimal ligasyon teknikleri epididimde depolanan ve olgunlaşan olgun spermatozoanın duktus deferense transportunu engellemek amacıyla deneysel olarak gerçekleştirilebilmektedir. Bu teknik, kauda epididimisin distalinde duktus deferensin proksimal bölümüne uygulanan ligatürler ile gerçekleştirilebilir. İşlem, tek taraflı veya çift taraflı uygulanabilir. Epididimlerin korpuslarının orta kısmından da obstrüksiyon oluşturulabilir. Bu teknikte lokal antiseptik uygulama ile intraperitoneal 50 mg/kg ketamin enjeksiyonu sonrası testisler ve epididimler bilateral ekspoze edilir ve her bir epididim, korpusun orta kısmından 6-0 ipek sütürlerle ligate edilir. Prepubertal epididimal obstrüksiyon oluşturulan ratlarda seminifer tübüllerde progresif dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir (16).

Deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan ratlarda epididimal obstrüksiyon oluşturulurken

hayvanın abdominal boşluğu açılır. Vas deferens ve epididim identifiye edilir ve vazo-epididimal bileşkeyi ortaya koymak üzere diseke edilir. Bu bölgeye cerrahi klip konularak obstrüksiyon oluşturulur (Şekil 2). Prosedürün tamamlanmasından sonra testisler skrotuma geri yerleştirilir ve abdomen kapatılır. Testislerin kibarca manüplasyonu ve skrotuma doğru bir şekilde yerleştirilmeleri testiküler hasarın önlenmesi ve adezyon oluşumunun engellenmesi açısından oldukça önemlidir. Böylece, geriye döndürme gerekirse testislere kolay ulaşım sağlanır ve işlemin başarısı artar (17). Epididimin kauda ve korpusu arasından 5-0 atravmatik ipek sütür kullanılarak epididimal ligasyon tek taraflı veya çift taraflı uygulanabilir (18).

Korpus epididimisin orta bölümünden ligasyon sütürleriyle uygulanan diğer bir epididimal ligasyon tekniği de mevcuttur. Bu şekilde spermatozoayı kauda epididimiste izole etmek mümkün olmaktadır. Bu tekniğin bir modifikasyonu olan diğer bir teknikte ise fazladan duktus deferens etrafına ligasyon sütürü konulmaktadır. Bu teknikte spermatozoa, hem kaput hem de kauda epididimiste izole edilebilmektedir (19).

Skrotuma ve tunika vajinalise epididimis etrafına küçük sütürlerin konulabilmesine ola-

nak sağlayacak büyüklükte bir insizyon yapılır. Epididimisin yüzeyinden geçen görünen kan damarlarının ligate edilmesine çok dikkat edilmelidir. Skrotum içerisinde testisin kibarca manüplasyonu, farklı bölgelerin ligate edilmesine olanak sağlar.

Koçlarda minimal invazif bir epididim ligasyon tekniği, Tamadon ve ark. tarafından uygulanmıştır (20). Bu minimal invazif teknikte, arama koçlarının hazırlanması için epididim kuyruğu boyunca iğne-yardımlı ligasyon uygulanmıştır. Koçlar sırt üstü lateral pozisyonda üst-arka ayakları kraniyale doğru gerilir. Skrotum aseptik yöntemlerle hazırlandıktan sonra skrotumun en distal kısımlarının 2 cm üzerine %2 lidokain (2.5 mL) subkutan infiltrate edilir ve enjeksiyon bölgesine kibarca masaj uygulanır. Testisler skrotal cilde doğru ventral yönde ittirilir, böylece epididim kuyruğu cilt boyunca daha net ortaya konabilir. Epididim kuyruğu ve testis arasındaki boşluk (testiküler bursa) seviyesinde epididim kuyruğu kaudomedial kısımdan baş parmak ve skrotal cildin kraniyolateral kısmından işaret parmağı ile tutturularak ciltten dışarı doğru çekilir. Steril bir 4 cm'lik subkutan iğne (16 G veya katater stilli 18 G) epididim kuyruğu ve testis arasındaki boşluğun orta kısmından kaudomedialden kraniyolateral bir yönde ilerletilir ve karşı taraf ciltten çıkartılır. Absorbabil monofilaman sütün materyali (1 polidioksan) iğneden geçirilir ve sonrasında iğne çıkartılır. Testis dorsale doğru çekilir. Skrotal ciltte subkutan iğne aynı deliklerden girip çıkartılarak epididim etrafında tam bir lup oluşturulur. Sütün sonları kare şeklinde dikişlerle bağlanarak epididim ligate edilir. Diğer epididim de aynı teknikle ligate edilir. Bu teknikle epididim ligasyonu postoperatif hiçbir komplikasyon izlenmeden gerçekleştirilebilmektedir. Ligasyondan 3 hafta sonra koçların ejakülatlarında hiç motil ve canlı spermatozoa gözlenmemiştir.



Şekil 2. Epididimal obstrüksiyon için epididimal klibin yerleştirilmesi

Kaynaklar

1. Davis LE, Stockton MD. Office procedures. No-scalpel vasectomy. Prim Care. 1997;24(2):433-61.
2. Denniston GC, Kuehl L. Open-ended vasectomy: approaching the ideal technique. J Am Board Fam Pract. 1994;7(4):285-7.
3. Reynolds RD. Vas deferens occlusion during no-scalpel vasectomy. J Fam Pract. 1994;39(6):577-82.
4. Barratt CL, Cohen J. Quantitative effects of short- and long-term vasectomy on mouse spermatogenesis and sperm transport. Contraception. 1988;37(4):415-24.
5. Kuwahara M. The effects of ligation of vas deferens, corpus epididymidis and vasa efferentia on the testicular function in rats. Tohoku J Exp Med. 1976;120(3):251-7.
6. Timurkan H, Paksoy Z. A Different Vasectomy Technique in Rats.
7. Miller AL, Wright-Williams SL, Flecknell PA, Roughan JV. A comparison of abdominal and scrotal appro-

- ach methods of vasectomy and the influence of analgesic treatment in laboratory mice. *Lab Anim.* 2012;46(4):304-10.
8. Whyte J, Sarrat R, Ortiz PP, Mazo R, Whyte A, Torres A, et al. [A morphological and morphometric study of the testicle in the rat vasectomized by electrocautery technics]. *Arch Esp Urol.* 1998;51(9):849-55.
 9. Denniston GC. Vasectomy by electrocautery: outcomes in a series of 2,500 patients. *J Fam Pract.* 1985;21(1):35-40.
 10. Huber D. No-scalpel vasectomy: the transfer of a refined surgical technique from China to other countries. *Adv Contracept.* 1989;5(4):217-8.
 11. Antarsh L. Men and their worries about vasectomy: will a new surgical technique help? *AVSC news (Association for Voluntary Surgical Contraception (US)).* 1988;26(2):5.
 12. Errey BB, Edwards IS. Open-ended vasectomy: an assessment. *Fertil Steril.* 1986;45(6):843-6.
 13. Grubb GS. Experimental methods of contraception. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1991;3(4):491-5.
 14. Schmidt SS, Minckler TM. The vas after vasectomy: comparison of cauterization methods. *Urology.* 1992;40(5):468-70.
 15. Cilip CM, Jarow JP, Fried NM. Noninvasive laser vasectomy: preliminary ex vivo tissue studies. *Lasers Surg Med.* 2009;41(3):203-7.
 16. Gur FM, Timurkaan S. The effects of prepubertal epididymal ligation upon the rat testis. *Iran J Reprod Med.* 2014;12(10):673.
 17. Chan PT, Li PS, Goldstein M. Microsurgical vasoe-pididymostomy: a prospective randomized study of 3 intussusception techniques in rats. *J Urol.* 2003;169(5):1924-9.
 18. Altay B, Turna B, Oktem G, Aktug H, Semerci B, Bilir A. Immunohistochemical expression of connexin 43 and occludin in the rat testis after epididymal and vasal ligation. *Fertil Steril.* 2008;90(1):141-7.
 19. Paufler SK, Foote RH. Morphology, motility and fertility of spermatozoa recovered from different areas of ligated rabbit epididymides. *J Reprod Fertil.* 1968;17(1):125-37.
 20. Tamadon A, Nikahval B, Sepehrimanesh M, Mansourian M, Naeini AT, Nazifi S. Epididymis ligation: a minimally invasive technique for preparation of teaser rams. *Vet Surg.* 2010;39(1):121-7.

Spinal Kord Yaralanması

13

Serdar TOKSÖZ

Spinal kord yaralanmaları herhangi bir nedene bağlı olarak oluşan motor ve duyuşal fonksiyonları tamamen ya da kısmen ortadan kaldıran hasar olarak tanımlanmaktadır.

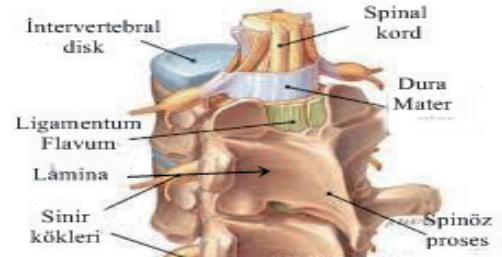
Spinal kord hasarı (SKH) nedenlerinin yarıya yakını trafik kazaları, üçte biri düşme, kesici delici alet yaralanmaları ve ateşli silah yaralanmaları ise diğer sebepler olarak karşımıza çıkmaktadır. İleri yaşlarda, osteoporoz gibi altta yatan nedenlere bağlı olarak düşme sonucu meydana gelen SKH etyolojide ilk sırada yer almakta ve kadınlarda daha sık olarak görülmektedir. Spinal kord yaralanmalarında en sık hasar servikal bölgede olmakta, bunu torakolomber ve lumbosakral bölgeler izlemektedir. Spinal kord yaralanmaları kalıcı sekel bırakmaları, hastayı uzun süre yatağa bağımlı hale getirmeleri, yaşam boyu süren tedavi gereksinimi sebebi ile ciddi işgücü kaybı ve yüksek tedavi maliyetlerine neden olmaktadır. Bu durumun kişisel ve toplumsal bedeli yanında hastanın kendisi ve yakınlarına olumsuz psikososyal etkileri de olmaktadır. SKH, yaralanan bölgenin altında nöral kayba ve bunun sonucunda motor ve duyuşal bozukluklara neden olur.

SKH neticeleri doku hasarına yol açan üç ana nedenden kaynaklanabilir;

1. Omurga diskleri veya kordona karşı baskı yapan kemik materyalinin neden olduğu sıkıştırma
2. Direkt travmaya bağılı tahribat
3. Başlangıçtaki hasara bağılı olarak kan akışında azalma (iskemi).

Bütün araştırma ve çalışmalara rağmen henüz insanlarda travmatik SKH için etkili bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Klinisyenler ve araştırmacılar SKH'nın patofizyolojisini ve tedavi yöntemlerinin etkinliğini tespit etmek için insan SKH'nı taklit eden çeşitli hayvan modelleri geliştirmiştir.

Merkezi sinir sisteminin bir parçası olan spinal kord (şekil 1), periferik sinir sistemi ile



Şekil 1. Vertebra ve Spinal kord yapısı (Gray's anatomy)

beyin arasındaki bağlantıyı sağlayan bir iletim hattıdır. Yetişkin bir kişi için yaklaşık 40-45 cm uzunluğunda olan spinal kord L2 seviyesine kadar uzanır. Spinal korddan 31 çift spinal sinir çıkar. (8 servikal, 12 torasik, 5 lumbal, 5 sakral ve 1 koksigeal). Torasik seviyenin altında spinal sinir kökleri vertebraların alt kısmından çıkış yaparken servikal bölgede ise vertebraların üst kısmındaki inter vertebral foramenlerden çıkış yapar.

OMURİLİK TRAVMASININ TARİHÇESİ

Hayvan deneyleri ilk kez Galen (M.S.130–201) tarafından yapılmıştır. Kesilen medulla spinalis seviyesinin altında duyu ve hareket kaybı olduğunu göstermiştir. Medulla spinalise boylamasına yapılan kesinin hasar oluşturmadığını ancak enine yapılan kesinin motor ve duysal bozukluğuna neden olduğunu bildirmiştir. Böylece Hipokrat'ın spinal kord yaralanmalarında lezyon seviyesinin altında motor ve duyu kaybı olduğu konusundaki hipotezini desteklemiştir. İlk fizyopatolojik çalışma 1890 yılında Schamus tarafından tahtalardan oluşan düzeneği kullanarak tavşanların sırtına travma uygulamış, travmadan sonra medulla spinaliste doku hasarı ve kaybı oluştuğunu gözlemlemiştir.

19. yüzyılda spinal kord yaralanmasının mekanizmaları hakkında modern temeller atılmaya başlanmış ve takiben tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu dönemde, insan SKH nı taklit eden deneysel SKH modelleri geliştirilmiştir. Alfred Reginald Allen ve ark. (1911) tarafından gerçekleştirilen ve ağırlık düşürme modeli olarak tanımlanan model, duramateri açılmamış spinal kord üzerine değişik ağırlıkların düşürülmesi ve takiben, ağırlıkların hemen uzaklaştırılmasını temel alan çarpma modeline dayanır. Bugüne kadar birçok araştırmacı tarafından kullanılan bu modelin en büyük dezavantajı, posterior kord

kompresyonu oluşturmasıdır. Oysa insanlarda anterior kord kompresyonu yaygındır. Buna karşın bu model, insanlardaki spinal kord hasarının biyomekaniğini çok iyi taklit eden bir modeldir.

Tarlov 1953'de epidural aralıkta balon şişirek bir SKH modeli geliştirmiştir. Tator ve Rivlin 1970 lerde geliştirdikleri klip kompresyon modelinde spinal kordu, çeşitli zaman aralıklarında değişik kapanma gücüne sahip anevrizma klipleri ile istedikleri derecelerde (klip kapanma gücü ve kompresyon süresi değiştirilerek) SKH oluşturulabilmişlerdir.

Watson 1986'da lazer ile omurilik kesisi yapmıştır. Stokes 1990'da travmanın şiddetini ve hızını önceden belirleyip beklenen SKH nın elde edilme durumun değerlendiren bir elektromekanik cihaz geliştirmiştir.

SKH modellerinin ve tekniklerinin artması bir standart oluşturma ihtiyacı doğurmuştur. Bu nedenle Chung, en uygun SKH hayvan modelinin oluşturulması adına bazı kriterler önermiş Collins de buna katkıda bulunarak SKH yöntemlerini yeniden gözden geçirmiştir.

Standardize edilen kriterler;

1. Oluşturulacak travma, doku hasarı ya da nöronal kayıp, hayvandan hayvana değişmez şekilde yaratılabilir, travma sonrası değerlendirecek parametrelerdeki değişkenler kabul edilebilir sınırlarda olmalı, prelinik çalışma başlamadan önce bu sınırlar belirlenmelidir.
2. Hayvan modelindeki kaçınılmaz yan etkiler (cerrahi yaralanma, anestezi ajanlarının etkisi, metabolik ve hemodinamik değişiklikler) en aza indirgenmeli, çalışma başlamadan olası etkiler tanımlanmalıdır.
3. Çalışmanın sonuçları tekrarlanabilir ve sayısal hale getirilebilir olmalıdır.

GİRİŞ

İnsan spinal kord yaralanmalarının çoğu servikal spinal kordta meydana gelirken, deneysel araştırmaların büyük kısmı torasik yaralanma hayvan modellerini kullanmaktadır. Çoğu insan kord yaralanması, spinal kordun yer değiştirmiş kemik veya yumuşak dokularla şiddetli bir şekilde çarptığı künt, penetran olmayan travma (örneğin motorlu taşıt kazası, spor yaralanmaları) sonucunda ortaya çıktığı için, SKH araştırmacıları, klinik olarak anlamlı yaralanma modellerinin servikal SKH modelleri olduğunu düşünmektedir.

M Sharif-Alhoseini ve arkadaşlarının spinal kord hasarında hayvan modelleri isimli derlemelerinde 2209 adet çalışma incelenmiştir. Çalışmada, ilaç ya da büyüme faktörlerinin etkilerinin test edilmesi en sık görülen amaç olduğu saptanmıştır (%36) ve bunu takiben patofizyolojik değişikliklerle ilgili çalışmalarda sık yapılmıştır (%30). En sık deneysel SKH oluşturulan omurga bölgesi torasik (1790, %81), servikal (265, %12) ve lomber bölge SKH modeli (113, %5) olmuştur.

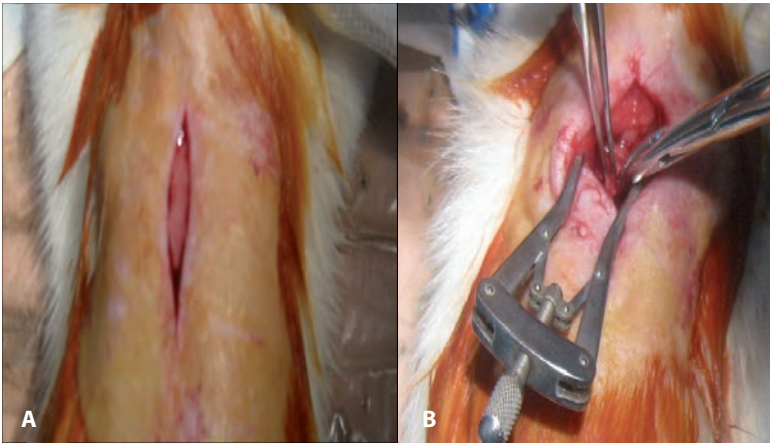
Çalışmalarda kontüzyon en sık uygulanan SKH modeli (906, %41) idi, bunu transeksiyon (717, %32) ve kompresyon (428 %19) izlemiştir.

SKH hayvan modellerinde en yaygın türler sıçanlar (%72) idi. Köpek, kedi, domuz ve tavşan SKH modellerinde diğer kullanılan hayvanlardı. Çalışmaların çoğunda iki veya daha fazla sonuç değerlendirmesi kullanılmıştır ve en yaygın değerlendirme yöntemi biyolojik ile davranışsal olmuştur (%50).

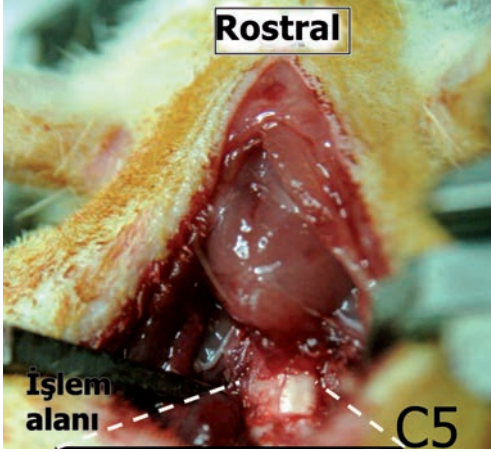
Deneysel Spinal Kord Hasarı Sıçan Modeli Oluşturulması:

Spinal Laminaların ortaya çıkarılması ve laminektomi

Rahat bir cerrahi girişim sağlamak amaçlı özel deney tespit tahtalarında uygun pozisyon verilerek tüm cerrahi işlemler mikroskop altında yapılmalıdır. SKH oluşturulacak deney hayvanları uygun dezenfeksiyon ve sterilizasyon ortamı sağlanarak, ketamin (60 mg/kg, ip) ve ksilazin (7 mg/kg, ip) anestezisi altında sırt traşını takiben prone pozisyonunda yerleştirilip sıçanın vertebra bölgesinde en çıkıntılı olarak göze çarpan Torakal 2'nin (T2) spinöz çıkıntısı parmakla palpe edilerek cerrahi alan tespit edilmelidir. Servikal SKH için C4-T1, torakal için T7-T10 arası tespit edilir. Torakal spinal kord hasarı oluşturmak için T7-T10 dorsal orta hat cilt insizyonun (Şekil 2A) ardından fasya ve subkutanöz kas-



Şekil 2. Torakal cerrahi insizyon (A) ve laminektomi görüntüsü (B) (Toksöz S. Uzmanlık tezinden alınmıştır)



Şekil 3. Tek taraflı laminektomi ile servikal omurluğun istenen yarısını yaralanma için ortaya çıkarma sürecini gösterir. (Walker MJ ve ark. alınmıştır)

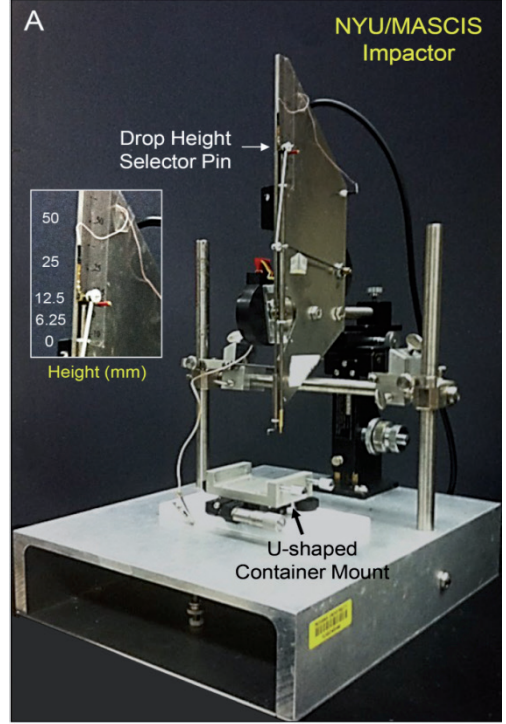
ların orta hattı tanımlanıp hat boyunca paravertebral kaslar spinöz proseslerden ve T7-T10 laminalarından lateralize edilir, bununla birlikte, spinal kolonun her iki tarafındaki fasetlere kadar T7-T10'dan laminaların üzerindeki kasları kesilir. Klemp ve forseps yardımıyla laminektomi yapılır (Şekil 2B).

Servikal spinal kord hasarı oluşturmak için aynı işlemler C4-T1 seviyesinde yapılır (Şekil 3).

Kontüzyon Modelleri

New York Üniversitesi (NYU) / Çok Merkezli Hayvan Spinal Yaralanma Çalışması (MASCIS) çarpma tertibatı

NYU çarpma tertibatı ilk olarak 1992 yılında Gruner tarafından geliştirildi. Yaralanma prosedürü, hedeflenen düzeyde laminektomi yapılması ve omurluğun kelepçeler ile stabilize edilmesini içerir. Belirli bir ağırlık çubuğu, genellikle 10 g, tanımlanan SKH' nı oluşturmak için kordun üstündeki net bir yükseklikten bırakılır. Yükseklik, zaman, çarpma hızı ve kord sıkışması gibi anahtar parametreler dijital olarak

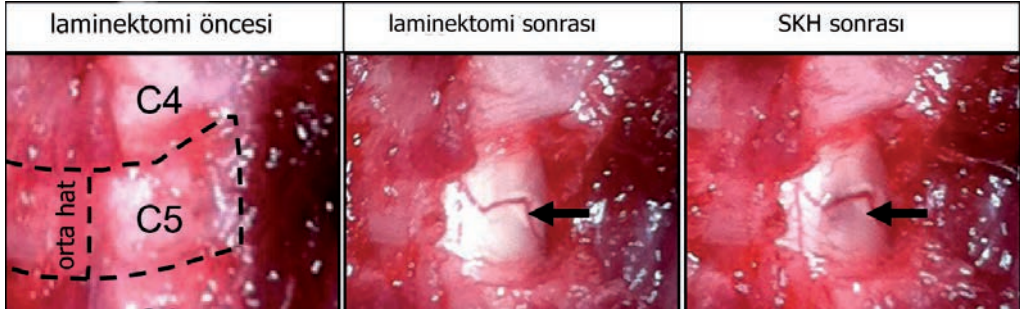


Şekil 4. NYU/ MASCIS çarpma tertibatı (Walker MJ ve ark. alınmıştır.)

kaydedilir, bu da deneylerin analiz edilmesini ve tekrarlanmasını kolaylaştırır.

NYU çarpma tertibatı MASCIS' te kullanılmak üzere kabul edildi ve MASCIS çarpma tertibatı olarak yeniden adlandırıldı. MASCIS çarpma tertibatı yaygın olarak kullanılmaktadır ve MASCIS çarpma tertibatı başlangıçta sıçanlar kullanılarak tanımlanmıştır, ancak farelerde kullanılmak üzere değiştirilmiştir. Literatürün çoğu torasik düzey yaralanmaları içermesine rağmen, MASCIS impaktörü sıçan modelinde servikal omurgada yaralanmalarında kullanılmıştır. Torakal SKH içinde modifiye modeller geliştirilmiştir.

Spinal laminalar açığa çıkarıldıktan sonra, hayvanı ventral yüzeyinde stabilizatörün U-şekilli kanalına yerleştirilir. C5 vertebra tanımlanıp omurga prosesleri ve lamina ara-



Şekil 5. Spinal kord kontüzyon hasarından hemen önce ve sonra spinal kordun görüntüsü (Walker MJ ve ark. alınmıştır.)

sındaki bağlar kesilir. Bir mikro-rongeur kullanılarak, laminanın yarısını C5’de sağ SKH için öngörüldüğü gibi çıkarılır (Şekil 5). Laminektomi sonrası, hayvan stabilizatör ile yaralanma cihazının altına nakledilir. 2.5 mm çapında bir ucu ile bir NYU / MASCIS çarpma tertibatı kullanılarak, bir 10 g çubuk x 12.5 mm yükseklik düşüşü ile bir C5 hemi-kontüzyon üretilebilir Yaralanmayı omurilikte tahribat görülerek doğrulanır. NYU yazılımı tarafından sağlanan yaralanma parametreleri kontrol edilebilir. NYU / MASCIS çarpma tertibatını kullananlar ister servikal hemi-kontüzyonda isterlerse omurga stabilizasyonu tekniği yardımıyla omurlüğün diğer bölgelerinde uygulayabilirler. NYU’da Omurilik maruziyetinin ve omurilik stabilizasyonu yoluyla fiksasyonun iyileştirilmesi, omurilikte tutarlı ve güvenilir yaralanmalar oluşturmak için değerli olabilir.

Infinite Horizon (IH) Çarpma Tertibatı

IH cihazı, yüksekte ağırlık düşürme veya hasar vermek için doku çıkarma yerine kuvvet kontrollü bir darbe kullanır. Motor kontrollü bir darbe uygulamak için harici bir bilgisayar ile arayüz oluşturur.

Laminektomiye takiben kelepçe hayvana monte edildikten sonra, hayvan IH çarpma

tertibatına taşınır. Uygun ayarlama yapıldıktan sonra işleme mikroskop altında devam edilir. İstenilen alanda hasar oluşturmak için çarpma aparatının ayarları yapılır. Sıçanlarda T10 seviyesinde yaralanmaya neden olan üç farklı yaralanma şiddeti (100, 150 ve 200 kdyn) kullanılır



Şekil 6. Infinite Horizon çarpma tertibatı (Lee H.T ve ark. alınmıştır)

maktadır. Önceden belirlenmiş kuvvet eşliğine ulaşıldığında, uç otomatik olarak çarpar ardından hemen çekilir ve iletilen kuvvet görüntülenir. Metal uç yaralanmaya yol açar ve ona bağlı bir sensör, impaktör ve omurilik dokusu arasındaki kuvveti doğrudan ölçer. Bu, spesmen hareketi tarafından getirilen hatayı en aza indirir.

IH çarpma tertibatı, servikal omurgada SKH oluşturmak için de kullanılmıştır ve cihazın çarpma ucunu daha küçük olanla değiştirerek fareler gibi küçük kemirgenlerde kullanım için modifiye edilebilir.

Gözlemlenen bir dezavantajı, IH cihazının kelepçeleri kullanarak omurga kolonunu sıkıca tutmadaki değişkenliktir. Bazı araştırmacılar bunun üstesinden gelmek için özel olarak yapılmış sıkıştırma sistemleri geliştirmeye çalışmaktadır.

Ohio State Üniversitesi (OSU) Çarpma Tertibatı

Prosedür, hedef seviyesinde laminektomi ve kenetleme kullanılarak omurga stabilizasyonunu içerir. IH çarpma tertibatına benzer şekilde, OSU cihazı bilgisayar geri beslemeli bir elektromanyetik çarpma tertibatı kullanır. Testlendiğinde, spinal korda bir prob temas eder ardından, cihaz, belirli bir süre için, 4 ila 5 ms arasında, genellikle 0,8 ve 1,1 mm mesafeden kordu sıkıştırır. OSU cihazı aktif olarak geri çekil-

diği için çoklu vuruşlardan kaçınılır. OSU çarpma tertibatı, omurilik ve kord deplasmanına iletilen kuvveti ölçer.

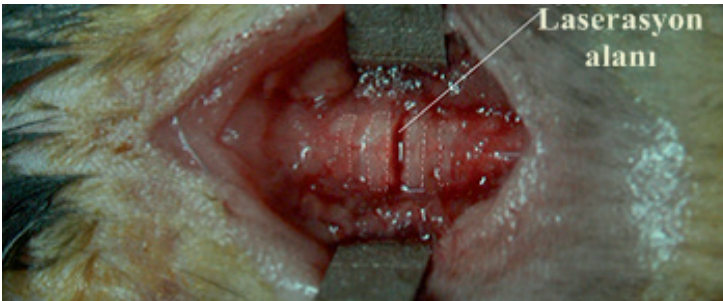
MASCIS ve IH cihazlarında olduğu gibi, OSU çarpma tertibatı son zamanlarda servikal SKH modellerinde kullanılmaktadır.

Louisville Yaralama Sistemi Aparatı (LISA)

Spinal kord hasarında lezyonunun doğasının ve derecesinin kesin olarak tanımlanması önemlidir. Bunu sağlamak için vertebral stabilizasyonu ön planda tutan bir SKH modeli oluşturmak için Louisville Yaralanma Sistemi Aparatına (LISA) bağlı kullanılan bıçaklar içeren yeni bir teknik geliştirilmiştir.

Bu yaralanma, laserasyon işlemi sırasında doku deformasyonunu önleyen keskin salınlı bir bıçak kullanılarak oluşturulmuştur. Laserasyon derinliği, laserasyon derinliğini kontrol eden mikro sürücüler kullanılarak 0,01 mm'lik bir hassasiyetle oluşturulmuştur.

Bu modelde servikal veya torakal hedeflenen bölge ortaya konduktan sonra bilateral faset sabitleme cihazı kullanılarak vertebral stabilizasyon sağlanır. Titreşimli bir bıçak kullanılarak laserasyon oluşturulur (Şekil 7). Bıçak, üç hareket aralığına sahip mikro sürücüler tarafından kontrol edilen konumu ile LISA'ya bağlanır.



Şekil 7. Sağlam laminar kavislerin altında kesilen 0.75 mm'lik dorsal hemiseksiyon laserasyon lezyonu (Zhang YP. ve ark alınmıştır.)

Spinal Kord Transeksiyon Modeli

Tam ve parsiyel transeksiyon modelleri, özellikle doku mühendisliğinde, yaralanmadan sonra nöronal rejenerasyonu araştırmak için yaygın olarak kullanılmıştır. Aksonal rejenerasyon ve daha sonra fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesi için faydalıdır. Ancak, bu modeller SKH' da yer alan kompleks patofizyolojiyi araştırmak için daha az idealdir çünkü klinik ortamlarda omurilik transeksiyonları yaygın değildir.

Komplet Transeksiyon

İstenen seviyede laminektominin ardından dura mater ince forseps ile kaldırılır, dura mater enine yönde ince göz makası ile kesilir. Dura materin kenar ucu ince forseps ile tutulup duramater ile araknoid arasındaki subaraknoidik boşluğa bir spinal kanca yerleştirilir. Omurilik kancasını pia veya duramater içine sokmamak suretiyle meninklerin hasar görmesinden kaçınılır. Omurilik dokusu ile dura arasındaki ventral tarafta bir boşluk görülünceye kadar, omurilik yaklaşık 1 - 2 mm yukarı kaldırılır. Spinal kanca yerine oturunca omuriliğe tam veya kısmi kesi uygulanır. Ardından omuriliğin iki tarafını iki forseps ile kaldırıp ve görsel olarak kesi kontrol edilir. Araya surgecell koyup duramater monofilament adsorbe edilemeyen 9.0 ipliklerle tek tek sütürlerle kapatılır. Transeksiyon modelleri, ilaçların yaralanma sonrası akson rejenerasyonu üzerindeki etkilerini modellemek ve ağır mekanizmaları için giderek daha fazla kullanılmaktadır.

Parsiyel Transeksiyon

Parsiyel transeksiyon, tek taraflı transeksiyon ve omuriliğin hemiseksiyonu, omuriliğin selektif olarak lezyonlanması sürecini gösterir. Bu modeller, tam transeksiyondan klinik olarak görülme olasılığı daha fazladır ve aynı hayvandaki yaralı ve sağlıklı lifler arasında karşılaştır-

ma olanağı sağlar. Hemiseksiyon, farklı spinal yollardaki lokomotor fonksiyon ve iyileşmeyi incelemek veya kontra- ve ipsilateral lezyonları karşılaştırırken fonksiyondaki bozuklukları karşılaştırmak için kullanılabilir. Bu teknik, yakın zamanda, SKH için potansiyel olarak ümit verici bir cerrahi tedavi olan sinir greftini araştırmak için de kullanılmıştır. Ayrıca, hemiseksiyonun, tam transeksiyondan daha az ciddi bir yaralanmaya yol açtığı göz önüne alındığında, postoperatif hayvan bakımı daha kolaydır. Bununla birlikte,

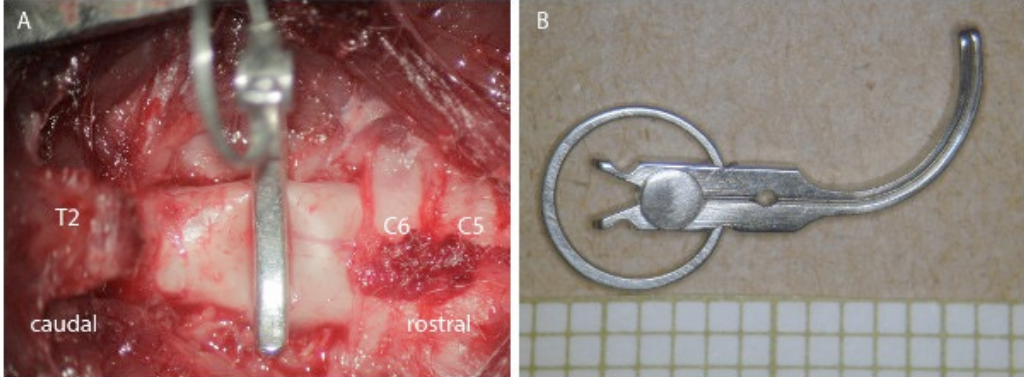
Kısmi bir transeksiyon modeliyle tutarlı bir yaralanma meydana getirmek daha zordur ve hedeflenen yolun tamamen kesilmiş olup olmadığının belirlemek zor olabilir.

Kompresyon Modelleri

Sıkıştırma modelleri, uzamış kord kompresyonu içerdikleri için kontüzyon modellerinden farklıdır. Bu modellerin bazıları, aslında, akut bir darbeyi içeren kontüzyon-sıkıştırma modelleri ve ardından kordun sürekli sıkıştırılmasıdır. Bu mekanizma kırık dislokasyonları ve patlama kırıkları nedeniyle oluşan SKH'ında görülmektedir.

Klip Kompresyon Modeli

Bu model Rivlin ve Tator tarafından geliştirilmiştir (Şekil 8B). Tüm deneysel modellere göre klinik olarak daha değerlidir, çünkü kordun tam kesisi veya hasarı nadirdir. Ayrıca, özellikle dorsum sütunlarına zarar veren ağırlık düşüşü modeline kıyasla, omuriliğin çevresel sıkıştırması avantajlı görünmektedir. Farklı kapanma şiddetini sağlamak için klip kapanma kuvveti ve süresi ayarlanabilir. Halka yayı, kuvvet hassasiyetini ve klips kuvvetinin sabitliğini kolaylaştırır. Prosedür, omurganın istenen seviyesinde bir laminektomi yapılmasını içerir. Klips, omurilik etrafındaki belirli bir kuvvetle kapatılır, akut bir yaralanma meydana gelir ve genellikle en az



Şekil 8. Klip sıkıştırma tekniği (Zweckberger K ve ark. alınmıştır)

1 dakika boyunca belirli bir süre için kordonu sıkıştırmak üzere bırakılır Şekil 8A).

Geniş bir kapama kuvveti yelpazesine sahip klipsler mevcuttur, bu da dolayısıyla hayvanda değişen kapama kuvvetleri ve yaralanma şiddetleri üretir, 50 veya 35 g'lık bir güç kullanılır. Sırasıyla şiddetli ve orta dereceli bir yaralanmaya neden olur. Klips uygulamasının süresi, değişen şiddet derecelerinde yaralanmaları üretmek için de değiştirilebilir.

Klips sıkıştırmanın avantajları, nispeten ucuz olan, değişken derecede SKH üreten ve omurganın tüm bölgelerinde kullanım için uyarlanabilen bir sıkıştırma-kontüzyon modeli sağlamasıdır. Basitlik, uyarlanabilirliğe izin verse de, elde edilen tek yaralanma parametreleri, klipin kalibre edilmiş kapanma kuvveti ve sıkıştırma süresidir. Bu nedenle, kordonun temas etmesi üzerine kordonun hızı, iletilen fiili güç ve kord sıkıştırmasının kapsamı dikkate alınmaz.

Spinal Kord Forseple Sıkıştırma Modeli

Spinal kordun sıkıştırılması için kalibre edilmiş forseps kullanımı (Plemel yöntemi), yaralanma derecesi ve nörolojik kayıp arasında yüksek derecede korelasyon ile tekrarlanabilir bir SKH üretir.

İstenen kord seviyesinde laminektomi uygulandıktan sonra roungeurs veya laminektomi forsepsini kullanarak, omuriliğin yan kenarlarının omurilik kemiği içermediğinden emin olunur, böylece kompresyon hasarı için kalibre edilmiş forseps, omuriliğin her iki tarafında da yerleşebilir. Forsepsin kolları omuriliğin bitişik taraflarında epidural boşluk içine yerleştirilebilir ve forsepslerin uçları vertebral kanalın tabanına ulaşabilmelidir. Ara çubuklar bağlanana kadar omurilik 15 saniye boyunca dikkatlice sıkıştırılır.

Ardından sıkıştırma kuvveti yavaşça bırakılır ve kalibre edilmiş forseps spinal korddan çıkarılır.

Forseps tekniği basit ve ucuz bir SKH modeli olmasına rağmen, klip sıkıştırma ve kontüzyon tekniklerinin sahip olduğu ani çarpma bileşeninden yoksundur. Forseps sıkıştırma, en yaygın insan SKH mekanizmalarını simüle etmez ve bu diğer yaralanma modellerinden daha az yaygın hale getirmiştir.

Balon Kompresyon

Bu yöntem Tarlov tarafından ilk olarak 1953'te köpeklerde tanımlanmıştır. Balon sıkıştırması, epidural veya subdural boşluğa küçük, şişirilebilir bir balonlu kateterin yerleştirilmesi yar-

dımıyla yapılır. Balon salin veya omuriliği sıkıştırarak sabit bir hacimde hava ile doldurulur. Balon belirli bir süre sonra söndürülür. Hava veya salin miktarı değiştirilerek SKH şiddeti ayarlanabilir.

Sıçan modelleri yaygın olarak kullanılmış olmasına rağmen, prosedür köpekler, tavşanlar ve primatlarda tarif edilmiştir. Avantajları model nispeten ucuzdur ve minimal cerrahi hazırlık gerektirir. Bununla birlikte, forseps sıkıştırma modeli gibi, balon sıkıştırma tipik olarak SKH'nın akut bileşeninden yoksundur. Balonun hızlı şişmesi bu tip bir travma düzeyini artırabilir; Bununla birlikte, verilen hız ya da kuvvetin izlemi olmadan, ilk etkiyi standartlaştırmak zor olacaktır. Balon sıkıştırma modeli, kontüzyon veya klip sıkıştırma modellerinden daha az kullanılmaktadır.

Spinal Kord Bandı

Spinalkord bandı, geliştiricilerin *Strapper* olarak adlandırdığı mekanik bir cihaz kullanan yeni bir SKH tekniğidir. Prosedürde sütür, epidural boşlukta belirli bir omurilik seviyesinin etrafına sarılır ve sıçanın diğer tarafındaki deriden geri alınır. Dikişin bir ucu deney cihazının duvarına yapıştırılmıştır ve diğeri, basit bir kasnak vasıtasıyla asılı bir kütleyle bağlanır. Kütlelerin düşmesine izin verildiğinde, sıkıştırma başlatılır ve 1 dakika boyunca devam ettirilmesine izin verilir. Araştırmacılar, sıçanlarda hafif, orta ve şiddetli yaralanmalara neden olmak için üç farklı kitle kullanırlar. Sonuçlar yaralanmaların hem fonksiyonel hem de histolojik sonuçlar açısından derecelendirilebildiğini göstermiştir.

Bu teknik, laminektomi gerektirmeyen veya kanamaya neden olan nispeten invaziv olmayan bir yöntem olması ve %100 sağ kalım oranı bildirmesi açısından avantajlıdır. Sadece dorsoventral veya lateral yönde değil, kordun tüm taraflarında kompresyon sağlar ve dereceli hasar paterni üretebilir. Bununla birlikte,

kesim alandaki hasarın tutarlı tekrarlanabilirliği ve genişletilmesi hala tekniğin bir eksikliğidir. Sıkıştırma kuvveti kütlelerin ağırlığına dayalı olarak tahmin edilebilmesine rağmen, yaralanma ile ilgili diğer parametreler ne ölçülebilir ne de kontrol edilebilmektedir.

Hava Tabancası Çarpma Tertibatı

Hava tabancası çarpma tertibatı, 2012 yılında bir sıçan modeli olarak geliştirilen yeni bir kontüzyon cihazıdır. Hassas bir şekilde yönlendirilmiş yüksek basınçlı hava akımı kullanarak SKH üretir. T10 vertebra, kenetlerin bitişik omurlara tutturulmasıyla stabilize edilir. Daha sonra bir dış matkabı, hedef vertebrada 2 mm çaplı bir delik açmak için kullanılır, bu sayede enjektör yerleştirilir daha sonra Hava 'vuruşu' gönderilir. SKH sonuçları manyetik rezonans görüntüleme, histoloji ve çoklu davranışsal değerlendirmeler kullanılarak analiz edilmektedir.

Distraksiyon Modeli

Distraksiyon modelleri, SKH da kordun yaşadığı gerilim kuvvetlerini simüle etmeyi amaçlayan kordun kontrollü gerilmesini içerir. Bu tip yaralanmalar kediler, köpekler, maymunlar ve domuzlarda araştırılmıştır. Bununla birlikte, bu sürecin karmaşık ve tekrarlanabilir modellemesi son zamanlarda aktif bir araştırma alanıdır.

Harrington Distraktörü

2004 yılında, Dabney ve ark, sıçanlarda torasik SKH uygulamak için bu cihazın kullanımını ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. Prosedür, istenen yaralanma yerinde laminektomi içerir, ardından modifiye edilmiş Harrington kancalarının, omurganın bir alt kaudal tabakasının altına ve bir seviyedeki hedefe rostral yerleştirilmesi yerleştirilir. Bu kancalar, uzunluğu, hızı ve distraksiyon süresini kontrol etmek için kullanılan bilgisayar ara yüzüne bağlanır.

Tablo 1. Deneysel SKH modelleri

Model	Mekanizma	Avantajları	Dezavantajları	Hayvan modeli
NYU/ MASCIS	Ağırlık düşürme/ kontüzyon	Yaygın olarak kullanıma, doğrulanmış (validasyonlu), tekrarlanabilirlik	Prosedür öğrenme eğrisi, Ağırlık sıçrama ihtimali, kesin olmayan etki süresi	Kemirgenler
Infinite horizon	Kuvvet kontrollü kontüzyon	Yaygın olarak kullanılan, doğrulanmış, tekrarlanabilirlik	Prosedür öğrenme eğrisi, klempleme tekniği	Kemirgenler
OSU	Deplase kontüzyon	Doğrulanmış, tekrarlanabilirlik	Prosedür öğrenme eğrisi	Kemirgenler
Hava tabancası çarpma tertibatı	Hava basıncı kontüzyonu	Daha az invaziv	Doğrulanmamış, tutarsız şiddet tabanlı lokomotor değerlendirme	Sıçanlar
Klip kompresyon	Kompresyon-kontüzyon	Yaygın olarak kullanılan, basit ve kolay prosedür, sınırlı kaynak ihtiyacı, ucuz	Kuvvet hızı, iletilen kuvvet ve sıkıştırma süresi kaydedilememektedir.	Fare, sıçanlar
Forceps Kompresyon	Kompresyon	Basit, ucuz, sınırlı kaynaklar gerektirmesi	Akut yaralanma yönü eksikliği, yaralanma parametrelerini kaydetmemesi	Domuz, fare
Balon Kompresyon	Kompresyon-kontüzyon	Ucuz	Daha az yaygın, yaralanma parametrelerinin kaydedilmemesi, tutarsız yaralanma	Köpekler, sıçan, tavşan, primatlar
Omurlilik Bandı	Kompresyon-kontüzyon	Daha az invaziv, çevresel yaralanma	Doğrulanmamış, tutarsız, kaydedilmemiş yaralanma parametreleri	Sıçanlar
Harrington Distraktör	Distraksiyon	Klinik yaklaşım	Doğrulanmamış, tutarsız ve değişken yaralanma, karmaşık prosedür	Sıçanlar
Komplet Transeksiyon	Transeksiyon	Performansı kolay, tutarlı, güvenilir, büyük hayvan modelleri	Yaygın olmayan klinik SKH tipi	Kemirgenler, kediler, köpekler, primatlar
Parsiyel Transeksiyon	transeksiyon	Büyük hayvan modelleri, kontralateral karşılaştırma	Tutarsız, tekrarlanabilirlik	Kemirgenler, kediler, köpekler, primatlar
Kimyasal Modeller	Reaktifler	Ucuz, basit prosedür	Tutarsız, tekrarlanabilirlik	Kemirgenler

(Cheriyen T ve ark. uyarlanmıştır)

Dislokasyon Modelleri; Fiford ve ark, travmatik insan SKH'ında sıkça görülen kolon dislokasyonunu simüle etmek için sıçanlarda bir vertebral deplasman mekanizması oluşturan SKH cihazı geliştirdi. Cihaz, ayarlanabilir sürgülü kelepçeler vasıtasıyla bitişik omurların gövdelerinin yan yüzeylerine takılabilen iki yatay kirişten oluşuyordu. Bir kiriş sert bir şekilde sabitlenirken, diğer kiriş alt bağlı vertebralara 1 saniyelik bir süre boyunca belirli bir mesafede (1–20 mm) ve hızda (50-150 mms) dislokasyon için uygular.

İskemik modeller; Ön sternotomi ile birlikte anevrizma klipleri tarafından oluşturulan geçici aortik tıkanıklık oluşturarak uygulanır. Spinal kord iskemisi, çoğunlukla aortik problemlerden sonra ortaya çıkan çok bilgi sahibi olunmayan bir durumdur. İskemik SKH sonrası ilaç ve büyüme faktörünün etkilerini test etmek için kullanılır.

Eksitotoksik modeller; Eksitotoksik model, intraspinal / intratekal eksitotoksin enjeksiyonu (quiscolic asit vb) yoluyla oluşturulur. Eksitotoksinlerin kullanımı uzun süreli spontan ağrı, termal hiperaljezi oluşturur, aynı zamanda kavite oluşumu, nöronal kayıp ve astrosit yaralanması meydana getirir. SKH sonrası gözlenen fizyopatoloji ile ilişkilidir. Bu modelin avantajı, davranışsal değişikliklerle belirli doku hasar alanlarını ilişkilendirebilme özelliğine sahip olmasıdır.

Fotokimyasal modeller; Travmatik SKH' nı takip eden ikincil yaralanma kaskadının belirli bir yönünü taklit etmek için kimyasallar kullanan çok sayıda model geliştirilmiştir. Bu modeller, SKH' da yer alan moleküler mekanizmaları ve çeşitli tedavilerin spesifik yollar üzerindeki etkisini araştırmak için yararlıdır. Bununla birlikte, kimyasal modeller, SKH' na genel yaklaşım açısından diğer modellerden daha az faydalıdır. Fotokimyasal olarak indüklenen iskemi model-

Tablo 2. Modifiye Tarlov testi

0	Flask paralizi
1	Sadece hareket var. Ancak bu hareket refleks olmamalı ve bilekte görülmemeli
2	Bir ekstremitenin 3 eklemi arasında koordinasyon var.
3	İnkoordine duruş ve gövdeye aktif destek var.
4	Arka ve ön ekstremiteler arasında bilek ve ayak kontrolü olmadan koordinasyon olabilir, gövde desteğinde değişiklikler var.
5	Normal duruş ve hızlı dönüşlerde denge kaybı olmadan gövdeyi destekleyebilme

leri, *rose bengal* ve *eythrosin* gibi toksik olmayan ışığa duyarlı bir boyanın enjeksiyonunu veya doğrudan uygulanmasını içerir, ardından belirli bir süre boyunca hasarlanacak alanın ışınlanması gerçekleştirilir.

SKH sonuçlarının değerlendirilmesi

SKH sonrası hayvanlarda oluşan nörolojik kayıpların derecesi ve terapötik tedavinin etkisini ölçmek için standardizasyon ihtiyacı doğmuştur. Bunun için Tarlov (tablo 2) bir test geliştirmiştir.

Tarlov testi: Tarlov ratların motor fonksiyonlarını ölçen bir test geliştirmiştir. Daha sonra Stokes ve Reier tarafından modifiye edilmiştir.

Günümüzde BBB (Basso, Beattie ve Bresnahan) testi de yaygın olarak kullanılmaktadır. Yaralanma sonrası motor hareketler, lokomotor skala metodu ile değerlendirilir. BBB skoru, SKH çalışmalarında fonksiyonların geri dönüşü ve lokomotor testler için kullanılır. Ölçek ardışık iyileşme aşamalarını temsil eder ve sıçan eklemi hareketi, arka ayak hareketleri, adım atma, ön ayak ve arka bacak koordinasyonu, gövde pozisyonu ve stabilitesi, pençe yerleşimi ve kuyruk pozisyonu kombinasyonlarını sınıflandırır.

Sonuç

Tüm yaralanma modelleri yararlıdır ancak SKH'ni indüklemek için kullanılan basitlik ve mekanizma bakımından farklılık gösterir. Bir hayvan modeli seçilmeden önce, planlanan çalışmanın amaçları ve hedefleri kesin olarak tanımlanmalıdır. İstenen bilgiye bağlı olarak çeşitli yaralanma mekanizmaları ve çalışma tasarımları yararlı olabilir. Kontüzyon ve kompresyon modelleri, insan yaralanmasının biyomekaniğini ve nöropatolojisini daha iyi simüle eder. Transeksiyon modelleri anatomik yenilenmeyi çalışmak için değerlidir. Daha yeni SKH modelleri daha fazla iyileştirme ve doğrulama gerektirmektedir. Kemirgenler, SKH çalışmaları için en yaygın kullanılan ve muhtemelen en uygun türlerdir. SKH hayvan modelleri patofizyolojiyi, iyileşme potansiyellerini ve yeni tedavi stratejilerinin uygulanmasını anlamak için son derece yardımcı olmuştur ve bu tür yaralanmaların araştırılmasında önemli bir rol oynamaya devam edecektir. Araştırmacılar bu modellerin yardımıyla hücre ölüm, demiyelinizasyonun ölçümü, kollateral filizlenmesi, rejenerasyon, nöron koruma ve lokomotor veya diğer fonksiyonların geri kazanımını değerlendirme olanağına erişirler. Cerrahi alandaki yaralanma mekanizmasının kontrol edilmesi ve izlenmesi, teknolojik gelişmelerle güçlendirilmelidir. Teknoloji ilerledikçe sonuçları değerlendirmek için yaralanma mekanizmaları, tekniklerini kontrol etmek ve izlemek için sürekli olarak geliştirilmelidir.

Kaynaklar

- Collins WF. A review and update of experiment and clinical studies of spinal cord injury. *Paraplegia*. 1983 Aug;21(4):204-19.
- Karacan I, Koyuncu H, Pekel O et al: Traumatic spinal cord injuries in Turkey: a nation-wide epidemiological study. *Spinal Cord* 38: 697-701, 2000.
- Blight AR, Tuszynski MH. Clinical trials in spinal cord injury. *J Neurotrauma*. 2006 Mar-Apr;23(3-4):586-93. Review.
- Kundi S, Bicknell R, Ahmed Z. The role of angiogenic and wound-healing factors after spinal cord injury in mammals. *Neurosci Res*. 2013 May-Jun;76(1-2):1-9.
- Mundy AR HJC. Section 5, part 43; Spinal cord and spinal nerves: gross anatomy, *Gray's Anatomy* (Standing, S. ed.) 39th ed. Philadelphia, 1365-1371, 2005
- Naderi S, Ture U, Pait TG: History of the spinal cord localization. *Neurosurg Focus*. 004, Jan;15; 16(1): E15
- Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column a preliminary report. *J Am Med Assoc* 1911; 57: 878-880.
- Rivlin A, Tator C. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in the rat. *Surg Neurol* 1978; 10: 38.
- Stokes BT. Experimental spinal cord injury: a dynamic and verifiable injury device. *J Neurotrauma* 1992; 9: 129-134.
- Tarlov IM. Spinal cord compression studies. III. Time limits for recovery after gradual compression in dogs. *Arch Neurol Psychiatry*. 1954 May;71(5):588-97.
- Kwon BK, Oxland TR, Tetzlaff W. Animal models used in spinal cord regeneration research. *Spine* 2002; 27: 1504-1510.
- Zileli M, Gülmen V. *Deneyisel omurilik yaralanması. Omurilik ve omurga cerrahisi* 2nd ed. 2002; 951-956.
- Akhtar AZ, Pippin JJ, Sandusky CB. Animal models in spinal cord injury: a review. *Rev Neurosci*. 2008;19(1):47-60. Review.
- M Sharif-Alhoseini M, Khormali, M Rezaei. Animal models of spinal cord injury: a systematic review. *Spinal Cord* volume 55, pages 714-721 (2017)
- Wu X, Zhang YP, Qu W, Shields LBE, Shields CB, Xu XM. A Tissue Displacement -based Contusive Spinal Cord Injury Model in Mice. *J Vis Exp*. 2017 Jun 18;(124).
- Walker MJ, Walker CL, Zhang YP, Shields LB, Shields CB, Xu XM. A novel vertebral stabilization method for producing contusive spinal cord injury. *J Vis Exp*. 2015 Jan 5;(95):e50149.
- Toksöz S. Deneyisel spinal kord hasarı gerçekleştirilen sıçanlarda uzun dönem tadalafil tedavisinin korpus kavernozum fonksiyonu üzerine etkileri" *Üroloji Uzmanlık Tezi*, Ankara 2012
- Krishna V, Andrews H, Jin X, Yu J, Varma A, Wen X, Kindy M. A contusion model of severe spinal cord injury in rats. *J Vis Exp*. 2013 Aug 17;(78). doi: 10.3791/50111.
- Walker MJ, Walker CL, Zhang YP, Shields LB, Shields CB, Xu XM. A novel vertebral stabilization method

- for producing contusive spinal cord injury. *J Vis Exp*. 2015 Jan 5;(95):e50149. doi: 10.3791/50149.
20. Cheriyan T, Ryan DJ, Weinreb JH, Cheriyan J, Paul JC, Lafage V, Kirsch T, Errico TJ. Spinal cord injury models: a review. *Spinal Cord*. 2014 Aug;52(8):588-95. doi: 10.1038/sc.2014.91. Epub 2014 Jun 10.
 21. Lee JH, Streijger F, Tigchelaar S, Maloon M, Liu J, Tetzlaff W, et al. A contusive model of unilateral cervical spinal cord injury using the infinite horizon impactor. *J Vis Exp*. 2012 Jul 24;(65). pii: 3313. doi: 10.3791/3313.
 22. Vijayaprakash KM, Sridharan N. An experimental spinal cord injury rat model using customized impact device: A cost-effective approach. *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 Jul;4(3):211-3. doi: 10.4103/0976-500X.114607.
 23. Zhang YP, Walker MJ, Shields LB, Wang X, Walker CL, Xu XM, et al. Controlled cervical laceration injury in mice. *J Vis Exp*. 2013 May 9;(75):e50030. doi: 10.3791/50030.
 24. Lukovic D, Moreno-Manzano V, Lopez-Mocholi E, Rodriguez-Jiménez FJ, Jendelova P, Sykova E, et al. Complete rat spinal cord transection as a faithful model of spinal cord injury for translational cell transplantation. *Sci Rep*. 2015 Apr 10;5:9640. doi: 10.1038/srep09640.
 25. Brazda N, Estrada V, Voss C, Seide K, Trieu HK, Müller HW. Experimental Strategies to Bridge Large Tissue Gaps in the Injured Spinal Cord after Acute and Chronic Lesion. *J Vis Exp*. 2016 Apr 5;(110):e53331. doi: 10.3791/53331.
 26. Paterniti I, Esposito E, Cuzzocrea S. An In Vivo Compression Model of Spinal Cord Injury. *Methods Mol Biol*. 2018;1727:379-384. doi: 10.1007/978-1-4939-7571-6_29.
 27. Khan M, Griebel R. Acute spinal cord injury in the rat: comparison of three experimental techniques. *Can J Neurol Sci*. 1983 Aug;10(3):161-5.
 28. Plemel JR, Duncan G, Chen KW, Shannon C, Park S, Sparling JS, et al. A graded forceps crush spinal cord injury model in mice. *J Neurotrauma*. 2008 Apr;25(4):350-70. doi: 10.1089/neu.2007.0426.
 29. McDonough A, Monterrubio A, Ariza J, Martínez-Cerdeño V. Calibrated forceps model of spinal cord compression injury. *J Vis Exp*. 2015 Apr 24;(98). doi: 10.3791/52318.
 30. Lim JH, Jung CS, Byeon YE, Kim WH, Yoon JH, Kang KS. Establishment of a canine spinal cord injury model induced by epidural balloon compression. *J Vet Sci*. 2007 Mar;8(1):89-94.
 31. Abdullahi D, Annuar AA, Mohamad M, Aziz I. Experimental spinal cord trauma: a review of mechanically induced spinal cord injury in rat models. *Rev Neurosci*. 2017 Jan 1;28(1):15-20. doi: 10.1515/revneuro-2016-0050.
 32. Lang-Lazdunski L, Matsushita K, Hirt L, Waeber C, Vonsattel JP, Moskowitz MA, et al. Spinal cord ischemia. Development of a model in the mouse. *Stroke*. 2000 Jan;31(1):208-13.
 33. Hwang JY, Sohn HM, Kim JH, Park S, Park JW, Lim MS, et al. Reproducible Motor Deficit Following Aortic Occlusion in a Rat Model Of Spinal Cord Ischemia. *J Vis Exp*. 2017 Jul 22;(125). doi: 10.3791/55814.
 34. Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. *Exp Neurol*. 1996 Jun;139(2):244-56.

Serdar TOKSÖZ

1. Genel Bilgiler

Priapizm tanım olarak cinsel istek ve uyarıdan bağımsız yaklaşık 4-6 saat süren uzamış erekسیون halidir. Bu süre sonunda kan gazlarında iskemik değişiklikler oluşmaktadır. Priapizm, ürolojik acil bir patolojidir ve özellikle dört saatten önce tedavi edilmeyen iskemik priapizm, değişen oranlarda erektil disfonksiyon ile sonuçlanmaktadır.

Priapizm, patofizyolojik olarak 3 grupta incelenmektedir:

- Düşük akımlı (İskemik) Priapizm
- Yüksek akımlı (İskemik olmayan) Priapizm
- Tekrarlayıcı (Stuttering) Priapizm

Priapizm hastalığının isim babası mitolojik kahraman Priapos'tur. Priapos Afrodite ve Dionus'un oğludur. Büyük erekte penisi nedeniyle mitolojik figürlerde erkekliğin ve gücün sembolü olarak kullanılmaktadır. Priapizm patofizyolojisi ile ilgili modern literatürde yayınlanmış ilk makale Hinman'a ait 1914 yılında yayınlanan çalışmadır. Hinman bu çalışmada priapizmi mekanik (%80) ve nörojenik (%20) olarak iki kategoriye ayırmıştır. Mekanik nedenler arasında hematolojik hastalıklar, genital

travma ve penil tümör bulunuyordu. Nörojenik sebepler ise sifiliz, beyin tümörü, epilepsi ve entoksikasyon gösterilmiştir. Pohl ve arkadaşları 230 priapizm olgusunun etyolojisinde major olarak idiyopatik olmak üzere %21'inde alkol ve ilaç kullanımının, %12'sinde perineal travmanın ve %11'inde orak hücre anemisinin olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmalar orak hücreli anemi prevalansının priapizm etyolojisinde önemli yer tuttuğunu göstermektedir. Düşük akımlı (iskemik) priapizm detümesans mekanizmasının yetersizliğine bağlı olarak gelişen bir durumdur. Venöz çıkımın azalması sonucu kavernoza dokulara vasküler staz ve progresif hipoksi meydana gelir. Neticede, iskemik ve ağrılı bir klinik tablo ortaya çıkar. İatrojenik sebepler dışında etyopatogenezi tam olarak bilinmeyen priapizmde, kavernoza düz kas tonusu etkin rol oynamaktadır. Dolayısıyla kavernoza düz kas tonusunda etkin olan mekanizmalar, priapizm etyopatogenezi ve tedavisinde yeni araştırma konuları olmaktadır.

Klinik olarak en sık karşılaşılan ve komplikasyon oranı en yüksek olan priapizm formu düşük akımlı priapizmdir. Bu nedenle deneysel çalışmalarda sıklıkla düşük akımlı (iskemik) priapizm modeli kullanılmaktadır.

2. Deneysel Priapizm modelleri

Deneysel priapizm modelleri *in vivo* ve *in vitro* hayvan modelleri olarak iki kategoride toplanmıştır. *In vivo* hayvan deneylerinde penis dokusu deney hayvanının üzerinde iken priapizm ya da iskemik ortam oluşturma amaçlanırken *In vitro* da ise penektomi sonrası kavernoza dokü örneklerinin laboratuvar ortamında hipoksi, anoksiye maruz bırakılması veya belirli bir mikro-çevre oluşturularak inkübe edilmesi ve neticelerinin tespit edilmesi hedeflenmektedir.

2.1 *In vivo* Hayvan Modelleri

In vivo hayvan modelleri priapizmin moleküler mekanizmalarını, patolojik koşulları ve tedavinin etkilerini incelemek için değerli çalışmalardır.

Intrakavernozal İlaç Modelleri

Intrakavernozal ilaç tedavileri bundan tam 31 yıl önce Virag ve Brindley tarafından ilk olarak tanımlanmıştır. Bu araştırmacıların kullandıkları vazodilatör ilaçlar, papaverin ve fenoksibenzamin olmuştur. Intrakavernozal ilaçlar düz kas hücrelerinin relaksasyonuna neden olmaktadır. Bu ilaçlardan en sık bir nonopiat madde olan papaverin kullanılmaktadır. Intrakavernozal olarak erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılan ilk ilaçtır. Hücre seviyesinde, papaverin nonspesifik fosfodiesteraz enzim inhibitörü olarak cAMP ve cGMP düzeylerinin yükselmesine neden olur. Bunun sonucu olarak da korporal düz kas gevşemesi ve penil ereksiyon gerçekleşir.

Papaverin ile priapizm oluşturmak için gerekli malzemeler şunlardır;

- Papaverin hidroklorür ampül (40-50-60 mg/2mL)
- %0.9 NaCl
- 10 mL enjektör
- İnsülin/ppd enjektörü

Melez köpeklerle yapılan deneysel çalışmalarda endotrakeal anestezi altında papaverin ile 6 saat süren ereksiyon oluşturmak için gereken

doz 45 mg iken Sprague-Dawley sıçanlar için bu papaverin dozu ise 300-600 µg'dır. Farmakolojik yöntemler ile priapizm oluşturmak için sıklıkla tekrar dozlama gerekebilmektedir.

Bu modelin kolay uygulanabilirliği ve fizyolojik ereksiyon oluşturmaya avantajları iken anestezi altında genellikle ereksiyonun kısa sürmesi ya da uzun anestezi süresi ve ilacın penil hemodinamiyi etkilemesi dezavantajlarıdır.

Mekanik Yöntem Ereksiyon Modelleri

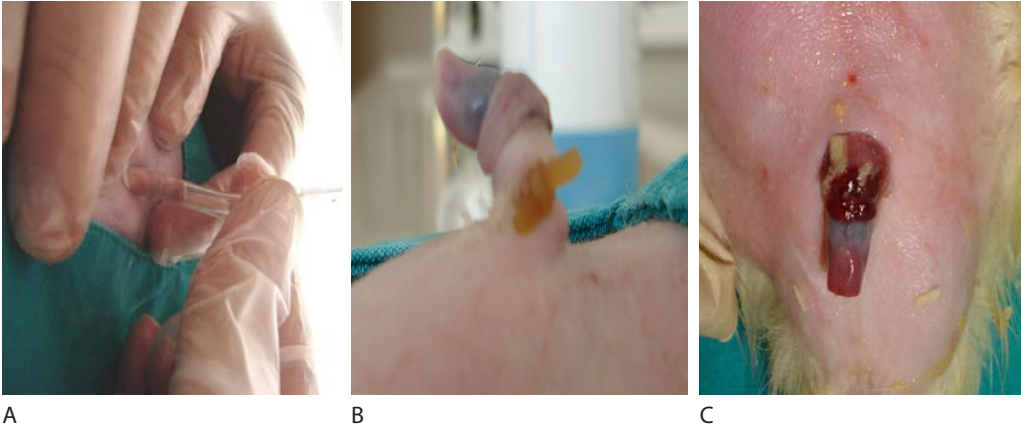
Elle manüplasyonla ereksiyon oluşturma için sıçanın anestezi almamış olması gerekmektedir, bu nedenle sıçanın tespit edilmesinin güçlüğü ve yöntemin standardize edilememesi gibi sıkıntıları mevcuttur. Bu ve benzeri nedenler ile mekanik yöntemlerden en sık vakum yöntemi kullanılmaktadır.

Vakum yöntemi için gerekli malzemeler ve yöntemin uygulanışı aşağıda açıklanmıştır.

- 10 mL'lik enjektör
- Erekte sıçan penisinin sığabileceği ve enjektöre bağlanabilen lastik tüp (Şekil 1)
- Ultrason jeli



Şekil 1. Vakum uygulamak için hazırlanmış enjektör ve lastik tüp



A

B

C

Şekil 2. Priapizm oluşturulması (M.R Gören üroloji uzmanlık tezinden alınmıştır)

A: Lastik tüpün yerleştirilmesi ve vakum uygulanması

B: Elastik bant ve priapizmin oluşması

C: Priapizm oluşturulduktan 4 saat sonra

Yeterli anestezi derinliği sağlandıktan sonra sıçan tespit edilip penil bölgenin artımı ve örtümünü takiben işleme başlanır. Penis elle dışarı çıkarılmalı ve vakum uygulaması sırasında hava sızdırmazlığının sağlanması için ultrason jeli tatbik edilmelidir. Ultrason jelinin uygulanmasını takiben ucuna lastik tüp takılmış enjektör ile içindeki penis dokusuna dışarıdan negatif basınç (vakum) uygulanır (Şekil 2).

Uygulanacak vakum düzeyi değişken olabilmektedir. Pratik yöntem olarak, Sprague-Dawley sıçanlar için 10 mL'lik enjektörün pistonunun 2 mL'ye kadar çekilmesi ile yeterli ereksiyonun sağlandığı tespit edilmiştir. Bir diğer yöntem olarak yaklaşık -200 mmHg'lık basınca sahip bir vakum cihazı da kullanılabilir. Ereksiyon sağlandıktan sonra, penis tabanı 2 mm iç çapa ve 1 mm kalınlığa sahip elastik bir bant ile detümesansı önlemek için bantlanmalıdır. Elastik bant deneysel araştırma planına göre kısa iskemik priapizmde 9 saat, uzunda ise 24 saatte açılmalıdır veya elektrofizyolojik/İmmunohistokimyasal inceleme için bant açılıp direkt penektomi yapılabilir. Priapizm oluşturulduktan sonra lokal enfeksiyon kontrolü için

doku üzerine bir topikal antibiyotiğin uygulanması önerilir.

Avantajları;

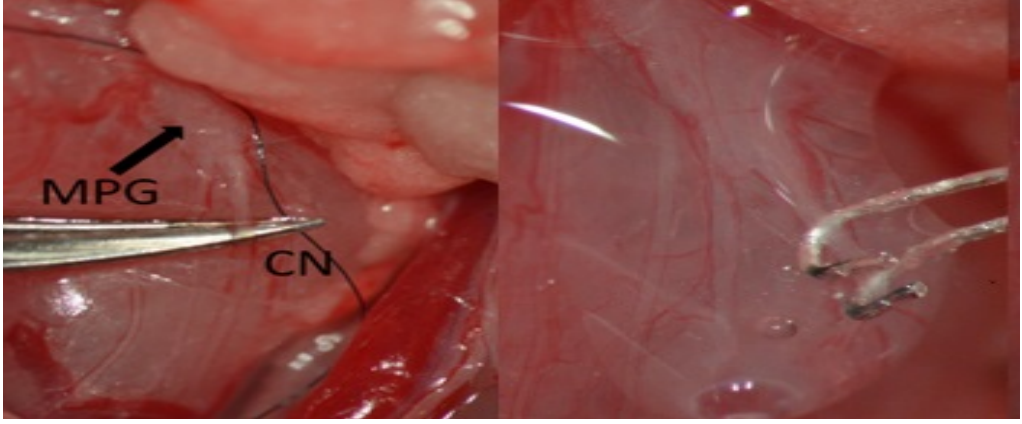
- Penil hemodinaminin değiştirilmemesi
- Yöntemin standardize edilebilmesi
- Anestezi altında ereksiyon oluşturabilmesi

Dezavantajları;

- Fizyolojik ereksiyon oluşturmaması

Elektro Stimülasyon ile Ereksiyon Oluşturma Modeli

Deneysel hayvan modellerinde ereksiyon oluşturmak için kullanılan bir diğer yöntem pelvik/kavernozal sinir elektrostimülasyonudur ve elastik bant tekniği ile kombine edilerek iskemik priapizm oluşturulabilir. Penisin kökünün 1 cm lateralinden iskiyal tüberositeyi palpe ederek dikey bir insizyon ile iskiyokavernöz kas ve tunika albuginea iyi bir şekilde ortaya çıkması sağlanır. Prostatın dorsolateral tarafında majör pelvik ganglion (MPG) ve CN(kavernöz sinir) görüntülendikten sonra, dikkatlice sinir altından bir 9-0 sütür geçilir. Elektronik stimülatöre bağlı bir bi-



Şekil 3. Majör pelvik ganglion (MPG) ve CN (kavernöz sinir) görüntüsü, bipolar elektrotun kancaları (Hox M ve ark. alınmıştır).

polar elektrotun kancaları eleve edilen sinirin altından yerleştirilir (Şekil 3). Elektro stimülatörün parametreleri CN stimülasyonu için ayarlanır (1.5 mA'da akım, 16 Hz'de frekans, 3 V'ta voltaj ve 5 ms'de darbe genişliği). Uyarılar arasında en az 1 dakika dinlenme ile 50 s stimülasyon uygulanır.

Lue ve ark. benzer işlemi melez köpeklerde uygulamıştır. Karın orta hat abdominal insizyon ile açılıp pelvik pleksusa distal olan sol pelvik sinir dikkatli bir şekilde izole edilip elektronik stimülatöre bağlı bir bipolar elektrot üzerine yerleştirilmiştir. Anestezi uygulanmış köpeklerin korpus kavernozumundaki pelvik sinir stimülasyonu uyarılarak basınç yanıtları kaydedilmiştir.

Bu tarz çalışmalarda eletrostimülasyonla ereksiyon oluşturup takiben konstrüktör bant yardımıyla araştırma planına uygun olarak deneysel priapizm oluşturulabilir.

Modelin teknik uygulama zorluğu dezavantajı iken eş zamanlı olarak intrakavernoza basınç ölçüm kolaylığı ve fizyolojik olması avantajlarıdır.

Tidal Volüm Kontrolü ile Oluşturulan Priapizm Modeli

Kim ve ark. tidal volüm kontrolü ve erektojenik/erektojenik ajanların kombinasyonu ile iskemik

priapizm modeli geliştirdiler. Modellerinde, 3.0-4.5 kg ağırlığındaki olgun erkek kediler anestezi altına alınmış, trakeotomi açılıp ardından ventilasyon ve tidal volüm kontrolü için Harvard hayvan ventilatörü aparatına bağlanmıştır. Ventilatör ayarlanması ile deney hayvanları planlanan araştırmaya göre normoksiye veya hipoksiye sokulmuştur.

Normoksi ve hipoksi altında her bir hayvan için, erektojenik ajanlar (asetilkolin PGE1, L-arginin, erektojenik ajanlar (epinefrin) iç pudendal arter kanülasyonu yoluyla infüze edilmiş ve ilgili intrakavernoza basınç yanıtları kaydedilmiştir.

Düşük Oksijen Ventilasyonu ile Oluşturulan Model + Konstrüktör Bant

İskemi ve reperfüzyondan kaynaklanan fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri değerlendirmek için Munarriz ve ark. tarafından bir tavşan iskemik priapizm modeli oluşturuldu.

Yeni Zelanda beyaz erkek tavşanlar çok kanallı bir kayıt cihazında: karotis sistemik arteriyel vücut basıncı, sistemik oksijen saturasyonu (ön ayak derisi) ve ketamin / ksilazin anestezisi altında oksijen seviyesi (intrakavernoza sen-

sör) izlendi. Hayvanlar, solunum devresinde oda havası ile periyodik olarak azot gazı dağıtarak hipoksik hale getirildi.

Sistemik oksijen satürasyonu %60 ya da intrakavernozal parsiyel oksijen basıncı (PO₂) 20 ile 25 mm Hg olduğunda, ereksiyon kavernöz sinir stimülasyonu (CNS) başlatıldı ve penisin tabanı bantlandı. Planlanan sürede bant açıldı ve böylece kavernöz cisim reperfüze edildi. İskemi sırasında veya reperfüzyondan sonra belirli noktalarda anestezi derinleştirildi ve penektomi yapıldı.

Genetik Mühendisliği Yöntemleri ile Oluşturulan Modeller

Yukarıda belirtilen modeller iskemik priapizm patofizyolojisi konusunda bilimizi büyük ölçüde artırdı. Bununla birlikte, daha önce bahsedilen modellerin yaratılmasının içsel özellikleri, kullanımlarını priapizmin nedenlerinin araştırılmasında sınırlandırmaktadır. Geçtiğimiz on yılda moleküler biyolojideki gelişmeler, genetik mühendisliği gen modellerinin, insan hastalıklarının fizyolojisi ve patolojisini araştırmak için hayvan modellerinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmasını sağladı. Aynı eğilim priapizm araştırmalarında da mevcuttur.

Moleküler genetik kullanılarak dört priapizm hayvan modeli oluşturulmuştur;

- İntrakorporal opiorphins gen transferi sıçan modeli
- eNOS - / -, nNOS - / - Fare Modeli; Olan veya olmayan nöronal nitrik oksit sentaz ve endotelial nitrik oksit sentaz modeli
- Transgenik orak-hücre fare modeli
- ADA -/- Fare Modeli; Adenosin deaminaz yokluğu fare modeli genetik mühendisliği tarafından geliştirilmiştir ve priapizmin içsel mekanizmasının anlaşılmasına büyük katkıda bulunmuştur.

Priapizm modeli çalışmalarının bir kısmı priapizm esnasında veya sonrasında intrakavernözal basınç sonuçlarını tespit etmeğe çalışırken bir kısmı da priapizim oluşturulduktan sonra kavernöz dokuları immunohistokimyasal ve/veya elektrofizyolojik olarak incelemeyi amaçlamıştır. Bunun için penektomi yapma ve kavernöz cisim şerit örneklerini hazırlama tekniğini bilmek gerekmektedir.

Kavernozal Doku Örneklerinin Hazırlanması:

Prepisyumdan orta hat insizyonu yapıp kavernoza dokulara zarar vermeden penil kruslara kadar disseke edilir. Penis, krusların hemen proksimalinden *en bloc* halinde rezeke edilerek, içinde soğuk Krebs-Henseleit solüsyonu bulunan diseksiyon plağına alınır (Şekil 4).



Şekil 4. Penisin en bloc rezeksiyonu ve krebs solüsyonu içindeki penis görüntüsü (Serdar Toksöz üroloji uzmanlık tezinden alınmıştır)



Şekil 5. Üretra, korpus spongiozum, glans penis diseksiyonu ve kavernoza örneklerin hazırlanması (Serdar Toksöz üroloji uzmanlık tezinden alınmıştır)

Diseksiyon plağına alınan penis diseksiyon mikroskobu yardımı ile proksimalinden üretra tanımlanır. Üretra, korpus spongiozum ve glans penis diseke edilerek korpus kavernoza izole edilir (Şekil 5).

2.2 İn vitro Hayvan Modelleri

Korpus Kavernoza Düz Kas Organ Banyosu Modeli

Korpus kavernoza düz kası ereksiyon fizyolojisinin önemli bir parçasıdır. Bu modelde ki bütün çalışmalar, erkek beyaz Yeni Zelanda tavşanı (3 ila 5 kg) tercih etmiştir. Yukarıda izah edildiği şekilde kavernoza şeritler hazırlanıp gaz karışımı içeren bir solüsyona yerleştirilir. Gaz karışımları bir gaz oranlayıcıya bağlanır. Planlanan çalışmaya göre gaz karışımı ayarlanır; %95 O₂, %5 CO₂ (normoksi), %20 O₂ /%75N₂/, %5 CO₂ (hipoksi), %0 O₂ /%95N₂/, %5 CO₂ (anoksi) şeklindedir. Muneer ve ark, iskeminin bu unsurlarının tek başına ve kombinasyon halinde etkilerini ortaya koyup aynı zamanda durum normale döndükten sonra kontraksiyon yapma kapasitesini de gözlemlemiş ve bu pa-

rametrelerin hangisinin geri dönüşümsüz düz kas disfonksiyonuna neden olduğunu tespit etme çalışmalarını yapmıştır.

Kavernoza dokuya bağlanma modeli; iskemik priapizmin ilk tedavi yöntemi, alfa- adrenerjik agonist ile birlikte, intrakavernoza aspirasyonu yapmaktır. Bununla birlikte, bu hastaların önemli bir kısmında düşük doz alfa-adrenerjik agonist ile konservatif tedavi başarısız olmuştur. Anoksi şartları altında, alfa-adrenerjik agonistlerin, iskeminin oluşturduğu asidik pH'ta reseptör afinitesinin azaldığını ortaya koyan çalışmalar yapılmıştır. Bu modelde prazosin (1 mM) kullanılmaktadır.

Hipoksi altında korpus kavernoza düz kas hücrelerinin inkübasyonu modeli; Planlanan belli bir ortamda ve süre boyunca hipoksi ya da anoksi ortamında kavernoza hücreler inkübe edilir ve moleküler sonuçları (PDE5 ekspresyonu vb) incelenir.

Sonuç

Korpus kavernoza düz kas şerit örneklerinin organ banyosu çalışması, priapizm ve diğer fizyolojik ve patolojik durumlarda ana araştır-

ma modalitesidir. İn vivo hayvan modellerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılır. Bağlanma deneyi ve hücre kültürü ile karşılaştırıldığında, organ banyosu çalışmaları, organ düzeyinde daha fazla bilgi sağlar ve in vivo hayvan modellerininki kadar yakın bir simülasyon sağlamasa da, gerçek hastalığa daha yakın patofizyolojik koşulları simüle eder. İn vitro modellerin avantajları, tercih ettiğimiz mikro çevreyi oluşturabilmemiz, değişkenleri minimize edebilmemiz ve izole korpus kavenozum dokuları / hücreleri üzerindeki hedef etkili faktörleri gözlemleyebilmemizdir. Bununla birlikte, in vitro ortamda simüle edilen iskemi, in vivo olarak patolojik durumu tamamen yansıtmayabilir. Deneysel priapizm hayvan modelleri teknoloji ve genetik gelişmelerin ışığında gün geçtikçe çeşitlenmektedir. Bu da araştırmacılara daha fazla ve farklı yöntemlerle priapizmin patofizyolojisini daha ayrıntılı bir biçimde ortaya koymalarına yardımcı olmaktadır.

Kaynaklar

1. Çalışkan MK, Çayan S. Priapizmin Patofizyolojisi. *Türk Urol Sem* 2011; 2: 276-80
2. Can Ş. Klasik Yunan Mitolojisi. Birinci baskı, Remzi Kitabevi, İstanbul, 1970.
3. Hinman F. Priapism: report of cases in a clinical study of the literature with reference to its pathogenesis and surgical treatments. *Ann Surg* 1914 Jan 1;60:689.
4. Muneer A, Ralph D. Guideline of guidelines: priapism. *BJU Int.* 2017 Feb;119(2):204-208. doi: 10.1111/bju.13717. Epub 2016 Dec 29. Review.
5. Dong Q, Deng S, Wang R, Yuan J. In vitro and in vivo animal models in priapism research. *J Sex Med.* 2011 Feb;8(2):347-59.
6. Muneer A, Alnajjar HM, Ralph D. Recent advances in the management of priapism. *F1000Res.* 2018 Jan 10;7:37.
7. Gören M. R. Deneysel düşük akımlı priapizm sıçan modelinde apoptozisin rolü ve kaspaz inhibitörünün ereksiyon mekanizmasına etkisi, Üroloji Uzmanlık Tezi, Ankara, Nisan 2007.
8. Munarriz R, Park K, Huang YH, Saenz de Tejada I, Moreland RB, Goldstein I, Traish AM. Reperfusion of ischemic corporal tissue: physiologic and biochemical changes in an animal model of ischemic priapism. *Urology.* 2003 Oct;62(4):760-4.
9. Trigo-Rocha F, Aronson WJ, Hohenfellner M, Ignarro LJ, Rajfer J, Lue TF. Nitric oxide and cGMP: mediators of pelvic nerve stimulated erection in dogs. *Am J Physiol.* 1993 Feb;264(2 Pt 2):H419-22.
10. Muneer A, Celtek S, Dogan A, Kell PD, Ralph DJ, Minhas S. Investigation of cavernosal smooth muscle dysfunction in low flow priapism using an in vitro model. *Int J Impot Res.* 2005 Jan-Feb;17(1):10-8.
11. Kim NN, Kim JJ, Hypolite J, Garcia-Diaz JF, Broderick GA. Altered contractility of rabbit penile corpus cavernosum smooth muscle by hypoxia. *J Urol.* 1996 Feb;155(2):772-8.
12. Hox M. Mann-Gow T, Lund L, Zvara P. Cavernous Nerve Stimulation and Recording of Intracavernous Pressure in a Rat. *J Vis Exp.* 2018 Apr 23;(134). doi: 10.3791/56807.
13. Lue TF, Schmidt RA, Tanagho EA. Electrostimulation and penile erection. *Urol Int.* 1985;40(1):60-4.
14. Broderick GA, Gordon D, Hypolite J, Levin RM. Anoxia and corporal smooth muscle dysfunction: a model for ischemic priapism. *J Urol.* 1994 Jan;151(1):259-62.
15. Ul-Hasan M, El-Sakka AI, Lee C, Yen TS, Dahiya R, Lue TF. Expression of TGF-beta-1 mRNA and ultrastructural alterations in pharmacologically induced prolonged penile erection in a canine model. *J Urol.* 1998 Dec;160(6 Pt 1):2263-6.
16. Kanika ND, Melman A, Davies KP. Experimental priapism is associated with increased oxidative stress and activation of protein degradation pathways in corporal tissue. *Int J Impot Res.* 2010 Nov-Dec;22(6):363-73. doi: 10.1038/ijir.2010.27. Epub 2010 Nov 18
17. Sanli O, Armagan A, Kandirali E, Ozerman B, Ahmedov I, et al. TGF-b1 neutralizing antibodies decrease the fibrotic effects of ischemic priapism. *International Journal of Impotence Research* (2004) 16, 492-497.
18. Champion HC, Bivalacqua TJ, Takimoto E, Kass DA, Burnett AL. Phosphodiesterase-5A dysregulation in penile erectile tissue is a mechanism of priapism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Feb 1;102(5):1661-6. Epub 2005 Jan 24
19. Ridgley J, Raison N, Sheikh M, Dasgupta P, Khan MS, et al. Ischaemic priapism: A clinical review. *Türk J Urol* 2017; 43(1): 1-8 • DOI: 10.5152/tud.2017.59458.
20. Capece M, Gillo A, Cocci A, Garaffa G, Timpano M, Falcone M. Management of refractory ischemic priapism: current perspectives. *Res Rep Urol.* 2017 Aug 29;9:175-179. doi: 10.2147/RRU.S128003. eCollection 2017.

21. Fu S, Davies KP. Opiorphin-dependent up-regulation of CD73 (a key enzyme in the adenosine signaling pathway) in corporal smooth muscle cells exposed to hypoxic conditions and in corporal tissue in pre-priapic sickle cell mice. *Int J Impot Res.* 2015 July ; 27(4): 140–145. doi:10.1038/ijir.2015.5.
22. Toksöz S. Deneysel spinal kord hasarı gerçekleştiren sıçanlarda uzun dönem tadalafil tedavisinin korpus kavernozum fonksiyonu üzerine etkileri" Üroloji Uzmanlık Tezi, Ankara 2012

Vasküler Erektile Disfonksiyon

15

Gökhan ÇEVİK, Ekrem GÜNER, Ateş KADIOĞLU

Erektile disfonksiyon (ED) yaygın bir erkek cinsel sağlığı bozukluğudur ve erkek cinsel işlev bozukluğu alanındaki yayınlarda gösterildiği üzere, erkeklerin ve eşlerinin fiziksel ve psiko-sosyal sağlıkları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Penil düz kas tonusu ereksiyonda önemli bir faktör olsa da, penil arter yetersizliğinden kaynaklanan anormal penil perfüzyon, kavernoza sinüzoidal boşluklara basıncı ve arteriyel akışı azaltabilir, böylece penisin rijiditesini azaltabilir.

Erektile fonksiyonu araştırmak için 1960 ve 1990 yılları arasında köpekler, maymunlar, kediler ve tavşanlar gibi daha büyük hayvanlar kullanılmışken, son zamanlarda daha sık olarak kemirgenler hayvan modeli olarak kullanılmaktadır. En sık bildirilen ED modelleri, metabolik (diyabetik, hiperkolesterolemi / lipidemi ve kastrasyon) ve travmatik (kavernöz sinir hasarı ve arter ligasyonu) olarak sınıflandırılabilir. Modeller arasında organik (Hipertansiyon ve kronik böbrek yetmezliği) ve organik olmayan (psikolojik) modeller bulunmaktadır. Bu derlemede vasküler kaynaklı ED modelleri irdelenmiştir.

Hayvan modellerinin kullanıldığı nörofizyolojik çalışmalar, insan cinsel işlev bozukluğu

hakkında önemli bilgiler sağlamıştır. Hayvan modelleri yeni terapötiklerin ve cerrahi tekniklerin değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır ve gelecekte de rol oynamaya devam edecektir.

Hayvan Modellerinde Erektile Yanıtın Değerlendirilmesi

Pelvik sinirlerin erektile fonksiyondaki önemini günümüzdeki araştırmacılara gösteren Eckhard'ın 1863'teki öncü çalışmasından hayvan deneyleri cinsel işlev bozukluğu ile ilgili temel bilimsel kavramlar sağlanmıştır. Sıçanların baskın model olmasının nedenlerinden biri daha büyük hayvanlarla karşılaştırıldığında satın almak, barındırmak, bakımını yapmak ve sakrifiye etmenin daha ekonomik olmasıdır. Bu sıçan modeli, insanlara benzer morfolojik ve fonksiyonel özellikler göstermektedir. Ayrıca, sıçan modelinde kavernoza sinirlerin (CN'ler) cerrahi preparatı ve diseksiyonu daha kolaydır. Sıçanın kısa ömürlü olması, hastalık durumlarının ve terapötik müdahalelerin, konakçıların biyolojik tepkisinin ölçülebildiği, nispeten kısa bir süre boyunca etkilerini değerlendiren çalışmaların yapılmasını sağlar. Sıçan penisinin anatomisi, vaskülarizasyonu ve periferik sinir

dağılımı, kapsamlı bir şekilde tarif edilmiştir. Penis ereksiyonu çalışmasındaki en önde gelen teknik, kavernoöz ve pelvik sinirlerin periferik elektrik stimülasyonuna cevap olarak intrakavernöz basınçta kantitatif değişikliklerin (ICP) ölçüldüğü, anestezi uygulanan sıçanlarda periferik sinirlerin elektriksel stimülasyonudur. Heaton ve ark, santral ereksiyonu indüklemek için farmakolojik bir ajan kullanma fikrini geliştirmiş ve apomorfinin sistemik uygulamasının, erkek sıçanlarda erektil yanıtın kaydedilmesine yol açtığını göstermiştir. Çeşitli davranışsal ve farmakolojik testler sırasında ICP'nin ve spongiöz basıncının telemetrik kayıtları da bildirilmiştir. Dinamik kavernosografi ve kavernosometri, alta yatan düz kas fonksiyonu ölçümleri sağlar. Penil ereksiyon üzerindeki etkilerini incelemek için oral ile subkutan, intra arteriyel, intravenöz veya intrakavernöz çeşitli ilaç verme yöntemleri kullanılmıştır. ED'nin çalışmasında sıçan modelinin kullanımında sayısız avantaj olsa da, dezavantajı da vardır. Hayvan modelleri, insan cinsel davranışının ve hastalıklarının karmaşıklığını tam anlamıyla temsil etmesi zordur. Sıçanların nispeten kısa ömürleri, farklı ED modellerinde herhangi bir uzun vadeli çalışmayı kısıtlamaktadır. Erkek sıçanlar, görsel ve işitsel ipuçlarına daha fazla bağımlı olan insan cinsel tepkilerinin aksine koku alma uyarılarına bağılıdır. Ayrıca, bu hayvanların gerçek erektil tepkisi tam olarak anlaşılmamıştır. Elektrik stimülasyonunu takiben penis ereksiyon derecesini dişi sıçanlarda başarılı vajinal intromisyonla ilişkilendirmek zordur ve gerçekten de, bu hayvanların izolasyon sırasındaki erektil tepkisi insanlardan çok farklıdır. Bununla birlikte erkek sıçan modeli insanlara önemli ölçüde benzerlik göstermektedir. Belirteçler, hücreye özgü immünohistokimya, PCR ve Western blot analizi gibi son teknolojik gelişmeler, ED'nin patofizyolojisinin fonksiyonel ve morfolojik değerlendirmelerini ve anlayışını geliştirmiştir. Diğer hayvan modellerinden elde edilen ve birincil

hücre kültürlerini kullanan insan gönüllülerinden elde edilen kavernoöz dokuları kullanan in vitro çalışmalar, erektil fonksiyonda yer alan hücresel mekanizmaların tanımlanmasına yardımcı olmuştur.

Deneysel Hayvan Modelleri

Arteriyel Ligasyon Modeli

Penil arteriyel yetersizliğinin, ED'nin yaygın bir nedeni olduğu gösterilmiştir. Ateroskleroz veya travmatik arterial tıkaçıcı iliak-pudendal-kavernosal arter sisteminin hastalığı, perfüzyon basıncını düşürür ve ED'nin gelişmesine yol açan arteriyel akış hemodinamiğini değiştirir. Çalışmalar, ED gelişiminin koroner arter hastalığının başlangıcından önce geldiğini göstermiştir. Sıçanlarda internal iliak arterlerin iki taraflı ligasyonu, ICP'nin elektrik stimülasyonuna verdiği yanıtta düşüşe yol açmaktadır ve bir ay sonra, erektil yanıtta önemli bir iyileşme gözlenmektedir. İmmünohistokimyasal boyama dorsal ve kavernoöz sinir liflerinde NOS içeren liflerin azaldığını ortaya çıkarırken, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ilk dönemde TGFβ -1 ekspresyonunun regülasyonunu göstermiştir. Fibroblast ve myofibroblast kaybı, yağ dejenerasyonu, kollajen birikimi ve sinüzoidlerin çökmesi; bu özellikler diğer organlarda gözlenen iskemik değişikliklerle uyumludur.

De Young ve ark, protein ekspresyonunda değişiklik ve NOS, endotel bütünlüğü, düz kas lifleri ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonunu azalttığını göstermiştir. Aboseif ve arkadaşları, internal pudendal veya penil arterin tek taraflı akut klemplenmesinin, ipsilateral tarafta sadece orta dereceli ICP bozukluğu ile kontralateral pudendal arterdeki arteriyel akışta telafi edici bir artışa neden olduğunu, ancak bilateral oklüzyonun nörostimülasyona ICP yanıtında belirgin bir azalma ile sonuçlandığını göstermiştir. Arter girişinin kronik tıkanması, penis çevresinde kollateral gelişmesi nedeniyle

erektil fonksiyon üzerinde minimum etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Lee, arteriyel ligasyon-dan sonra intrakavernöz VEGF enjeksiyonunun uygulanmasının, VEGF'nin anjiyojenik etkisini vurgulayarak endotel hücrelerinin hipertrofisi ve hiperplazisi varlığında erektil fonksiyonun iyileşmesini kolaylaştırdığını göstermiştir.

Arteriyojenik ED

El-Sakka ve arkadaşları arteriyojenik ED modeli geliştirmiştir. Bu araştırmacılar ED'yi internal iliak arterleri iki taraflı olarak bağlayarak oluşturmuştur. Değerlendirilen parametreler ICP ve intrakavernosal kanlanma olmuştur. Bu çalışmada arteriyojenik ED'nin erken evresi, azalan akış ve perfüzyon basıncı ile gösterilmiştir. Arteriyojenik ED'nin geç evresi, hemodinamik düzensizlik, endotel ve nöral NOS'un aşağı regülasyonu ile ilişkili fonksiyonel bozulma ile gösterilmiştir.

Sonuç

Bu derlemede, sıçanın ED modellerinin geliştirilmesinde kullanılan en yaygın laboratuvar hayvanı olduğu anlaşılabilir. Cinsel tepkileri kaydeden basit telemetrik cihazlar, hayvan modellerinde objektif değerlendirmeyi kolaylaştırmıştır. Erektile disfonksiyon hayvan deney modellerinde vasküler modeller arteriyojenik ve arteriyel ligasyon modeli olarak 2 alt gruba ayrılmaktadır. Yakın gelecekte yeni bilimsel çalışmalar ile bu modellerin daha da geliştirileceği öngörülmektedir.

Kaynaklar

- Eckhard C. Untersuchungen über die erektion des penis beim hunde. Beitr Anat Physiol 1863;3:123-6.
- Burnett AL. General use of animal models for investigation of the physiology of erection. Int J Impot Res 2001;13:135-9.
- Lue TF, Takamura T, Schmidt RA, Palubinskas AJ, Tanagho EA. Hemodynamics of erection in the monkey. J Urol 1983;130:1237-41.
- Carati CJ, Creed KE, Keogh EJ. Autonomic control of penile erection in the dog. J Physiol 1987;384:525-38.
- Lue TF, Takamura T, Umriaya M, Schmidt RA. Hemodynamics of canine corpora cavernosa during erection. Urology 1984;24:347-52.
- Semans JH, Langworthy OR. Observations on the neuro-physiology of sexual function in the cat. J Urol 1938;40:836-46.
- Knispel HH, Goessl C, Beckmann R. Nitric oxide mediates relaxation in the rabbit and human corpus cavernosum smooth muscle. Urol Res 1992;20:253-7.
- Quilan DM, Nelson RJ, Partin AW, Mostwin JL, Walsh PC. The rat as a model for the study of penile erection. J Urol 1989;141:656-61.
- Martinez-Pineiro L, Brock G, Trigo-Rocha F, Hsu GL, Lue TF, Tanagho EA. Rat model for the study of penile erection: Pharmacologic and electrical stimulation parameters. Eur Urol 1994;25:62-70.
- Heaton JP, Varrin SJ, Morales A. The characterization of a bio-assay of erectile function in a rat model. J Urol 1991;145:1099-102.
- Mehta N, Sikka S, Rajasekaran M. Rat as an animal model for erectile function evaluation in sexual medicine research. J Sex Med 2008;5:1278-83.
- Giuliano F, Bernabe J, Rampin O, Courtois F, Benoit G, Rosseau JP. Telemetric monitoring of intracavernous pressure in freely moving rats during copulation. J Urol 1994;152:1271-4.
- Davila HH, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid F. Corporal veno-occlusive dysfunction in aging rats: Evaluation by cavernosometry and cavernosography. J Urol 2004;171:261-6.
- Liu X, Gao X, Pang J, Zhang Y, Wang K, Fang Y, Wen X, Cai Y. Proteomic analysis of rat tissue in a model of erectile dysfunction after radical prostatectomy. BJU Int 2007;99:1500-5.
- Pilatz A, Schulthesis D, Gabouev AL, Scholte N, Mertsching H, Jonas U, Stief CG. Isolation of primary endothelial and stromal cell cultures of the corpus cavernosum penis for basic research and tissue
- Montorsi P, Ravagnani PM, Galli S, Rotatori F, Briganti A, Salonia A, Rigatti P, Montorsi F. The artery size hypothesis: A macrovascular link between erectile dysfunction and coronary artery disease. Am J Cardiol 2005;96:19M-23M.
- El-Sakka AI, Yen TSB, Lin CS, Lue TF. Traumatic arteriogenic erectile dysfunction: A rat model. Int J Impot Res 2001;13:162-71.
- Anwar MD, Khiabani HZ, Nesland JM, Strandén E, Kroese AJ. Vascular and stromal features in the skin of the lower limb in patients with chronic critical limb ischemia (CLI) and oedema. Eur J Vasc Surg 2000;20:125-31.

19. De Young L, Bella A, Howard J, Brock G. Arteriogenic erectile dysfunction alters protein expression within the cavernosal tissue in an animal model. *J Sex Med* 2005;2:199–206.
20. Aboseif SR, Breza J, Orvis BR, Lue TF, Tanagho EA. Erectile response to acute and chronic occlusion of the internal pudendal and penile arteries. *J Urol* 1989;141:398–402.
21. Lee MC, El-Sakka AI, Graziottin TM, Ho HC, Lin CS, Lue TF. The effect of vascular endothelial growth factor on a rat model of traumatic arteriogenic erectile dysfunction. *J Urol* 2002;167:761–7.
22. Walsh PC, Donker PJ. Impotence following radical prostatectomy: Insight into etiology and prevention. *J Urol* 1982; 128:492–7.
23. Canguven O, Burnett A. Cavernous nerve injury using rodent animal models. *J Sex Med* 2008;5:1776–85.
24. Ferrini MG, Davila HH, Kovanecz I, Sanchez SP, Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Vardenafil prevents fibrosis and loss of corporal smooth muscle that occurs after bilateral cavernosal nerve resection in the rat. *Urology* 2006;68:429–35.
25. Chung E¹, De Young L, Brock GB. Investigative models in erectile dysfunction: a state-of-the-art review of current animal models. *J Sex Med*. 2011 Dec;8(12):3291-305. doi: 10.1111/j.1743-6109.2011.02505.x. Epub 2011 O

Kavernozal Sinir Yaralanması

16

Ahmet ŞAHAN

Eretil disfonksiyon (ED) sinir koruyucu cerrahi tekniklerin gelişmesine rağmen radikal pelvik cerrahi uygulanan hastalarda önemli bir sağlık sorunudur. ED patofizyolojisini aydınlatmak için ilk hayvan çalışması Eckhard tarafından 1963 yılında anestezi uygulanan bir köpek üzerinde yapılmıştır, 1965'de Langworthy sıçanlarda pelvik sinirleri tarif etmiş ve sinir uyarısıyla korpus kavernozumda basınç artışını göstermiştir (1). 1968 yılında Lewis ve ark. ilk intrakavernozal basınç ölçümünü boğalarda gerçekleştirmiştir (2). Daha sonraları insan penil ereksiyonunu taklit eden modeller; köpek, tavşan, kedi ve maymunlarda da yapılmıştır (3). İntrakavernozal basınç ölçümünün fare ve sıçan gibi küçük deney hayvanları üzerinde ölçülebilmesinden sonra, ED patofizyolojisi üzerine çalışmalar hızla ilerlemiştir (3).

İatrojenik kavernozaal sinir hasarı (KSH), cerrahi teknik ve ekipmanlardaki ilerlemelere rağmen; kolorektal cerrahi, prostatektomi, sistektomi gibi radikal pelvik cerrahiler sonrası sıklıkla görülen bir komplikasyondur (4). Radikal prostatektomi ve radyoterapi erken evre prostat kanserinde standart uygulanan tedavilerdir. Bu tedaviler sonrası hastaların %10-90'ında KSH'na bağlı erektile disfonksiyon gelişmektedir.

Radikal pelvik cerrahi sonrası sıklıkla karşılaştığımız bu klinik durumu araştırmak için hayvan modellerine ihtiyaç duyulmuştur.

Kavernozal sinir hasarı modeli

Kavernozal sinir hasarı modeli ilk Quinlan ve arkadaşları tarafından sıçanlar üzerinde tanımlanmıştır (5). Bu çalışmada bilateral pelvik ganglionlar pelvik ve hipogastrik sinir ile prostat lateralinde kavernozaal sinir tarif edilmiştir. Bu model, elektriksel uyarı ile kolaylıkla ereksiyonun sağlanması ve tekrar edilebilmesi, sıçanların maliyetinin düşük, bakımının kolay olmasından dolayı sıçanlarda popülerize olmuştur.

Sıçan modellerinde yapılan KSH modellerini genel olarak ezme, transeksiyon ve eksizyon olarak 3 farklı tipte inceleyebiliriz (3). Son zamanlarda diseksiyon, dondurma, elektrokoter ve radyasyon hasarı modelleride değişik klinik durumları göstermek için kullanılan modellerdir. Transeksiyon ve eksizyon modellerinde amaç, kavernozaal sinir bütünlüğünün bozulmasıdır.

Transeksiyon modelinde her iki kavernozaal sinir kesilerek uçları serbest hale getirilir (6). **Eksizyon modelinde** ise kavernozaal sinir proksimal ve distalden kesilerek ortadaki sinir

dokusu çıkarılır (7). Bu iki hayvan modeli, sinir koruyucu radikal prostatektomi yapılmayan/yapılamayan hastaları taklit için dizayn edilmiştir. Sinir koruyucu radikal prostatektomi uygulanan hastaları taklit için ezme (crush) modeli tanımlanmıştır. **Ezme modelinde** kavernozal sinir klemp yardımı ile 15 saniye ile 2 dakika arasında sıkıştırılarak oluşturulmaktadır bu modelde transeksiyon ve eksizyona göre kavernozal sinire daha az hasar verildiği düşünülmektedir (8). Müller ve arkadaşları, transeksiyon ve ezme tipi KSH modellerinde işlemten 10 gün sonra bakılan ICP/MAP oranında kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalma göstermiş, her iki model arasında anlamlı fark bildirmemiştir (9).

Diseksiyon modeli Yamashita ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Bu modelde kavernozal sinirin majör pelvik gangliondan prostat apeksine kadar ezme, kesme gibi hasarlar vermeden diseksiyonunu içerir. Bu modelin sinir koruyucu radikal prostatektomiye daha çok benzediği düşünülmektedir (10).

Dondurma modeli ise kriyoterapiyi taklit için kuru buz veya sıvı azot içeren santrifüj tüpü kullanılarak ortalama 20 saniye kavernozal sinirin soğutulması ile oluşturulan hayvan modelidir (11). Dondurma modelinde diğer modellerden farklı olarak dondurma sinir aksonlarının yenilenmesine yardımcı olan sinir kılıfını bozmaktadır.

Elektrokoter hasarı modelinde monopolar elektrokoter tarafından indüklenen hasarı taklit etmek için tanımlanan bir modeldir (12). Prostatın her iki yüzünde major pelvik ganglionun 5 mm distaline 350 kHz ve 15 W enerji düzeyinde 1 saniye monopolar elektrokoter uygulanarak oluşturulur (12). Radyoterapi prostat kanserinde radikal prostatektomi ile benzer etkinliği olan ve sıklıkla kullanılan diğer tedavi seçeneğidir.

Radyasyona bağlı hasar modeli, Kimura ve arkadaşlarının bilgisayarlı görüntü klavuzluğunda küçük radyasyon ünitesi oluşturma-

sından sonra başlamıştır (13). Sıçan radyasyon hasarın modelinde hayvanlara 15, 20 ve 25 Gy dozlarında prostata radyasyon verilmektedir (13).

Kavernozal sinir hasarı modelinin değerlendirilmesi

Kavernozal sinir hasarının uygun yapıldığının kontrolünde bakılacak iki parametre vardır; sinir hasarının gözle izlenmesi ve erektil cevabın azalmasıdır. Yapılan çalışmalarda ED patofizyolojisini incelemek için intrakavernozal basınç ölçümü ile birlikte korpus kavernosum dokusunda oksidatif stres ve inflamasyon markırlarına bakılmaktadır.

İntrakavernosal basınç testi

Sıçan modellerinde ED'yi değerlendirmek için kullanılan temel testtir (5). İntrakavernosal basınç (ICP) ölçümünde ereksiyon, kavernozal sinir uyarısı veya vazoaktif ilaçlarla sağlanmaktadır (14). İntrakavernosal papaverin uygulaması ereksiyonu sağlamak için kullanılan en yaygın ajandır. Kavernozal sinirin bipolar elektrot kancası kullanılarak elektriksel stimülasyon yöntemi kolayca uygulanabilmesi ve tekrarlanabilmesi nedeniyle genel kabul gören yöntem haline gelmiştir. Martínez-Piñeiro ve ark. farklı frekans ve amplitutta kavernozal sinir uyarısı vererek maksimal basınca ulaşana kadar geçen süre ve toplam tümesans süresini araştırmıştır. Kavernozal sinirin saniyede 20 pulse (PPS) ve 1.5 mA'lık elektriksel stimülasyonun maksimum erektil cevap oluşturduğu ve 20 PPS'nin (10 ve 5 PPS) altındaki stimülasyon frekanslarının daha uzun bir ereksiyon cevabına neden olabileceğini göstermiştir (14). ICP testinde bakılan parametreler ereksiyon sayısı, tümesans zamanı, detümesans zamanı, erektil cevabın süresi, bazal intrakavernosal basınç, maksimum intrakavernosal basınç ve plato intrakavernosal basınçtır. Aslında bu parametrelerden herhangi

birine göre ereksiyon cevabını değerlendirmek uygun değildir. Mills ve ark. ICP'nin sistemik basınçtan etkilendiğini göstermiş ve ortalama kan basıncını (MAP) karotis arter kanulasyonu ile eş zamanlı ölçerek ICP/MAP oranını tarif etmişlerdir (15, 16). ICP ortalama arteriyel basınç ile normalize edilerek daha doğru değerlendirme yapılabilmesi sağlanmıştır.

Sinir hasarı ve sinir yenilenmesinin değerlendirilmesi

Başarılı bir sinir hasarı modelinde major pelvik gangliyon ve dalı olan kavernozaal sinir yapı ve morfolojisinde değişiklikler izlenir. Palma ve ark. sıçanlarda yapmış olduğu çalışmada KSH sonrası pregangliyonik terminal sinir uçlarında yapısal ve kimyasal değişikliklere eşzamanlı pelvik ganglionlarda yeni sinir tomurcuklarının oluştuğunu göstermiştir (17). Majör pelvik gangliyondan filizlenen yeni sinir uçlarının sempatik ve parasempatik pelvik nöronlarla bağlantılar kurmaktadır. Pregangliyonik terminalerde ise sinir hasarının retrograd etkisi olduğu düşünülen sinaptik proteinlerde belirgin azalma gözlenmektedir (17).

Florogold (FG), sinir hasarı derecesini ve sinir rejenerasyonunu etkin bir şekilde değerlendirmek için kullanılabilen bir floresan markırdır (18). Eğer sinir sağlam kalırsa, enjekte edilen FG, retrograd tarzda sinir uçlarından sinir hücre gövdelerine taşınabilir. FG ile yapılan çalışmalarda diseksiyon grubundaki FG-pozitif nöronlar, operasyondan 4 hafta sonra sham grubuna göre anlamlı olarak azalmaktadır.

Ayrıca, KSH nörotrofik faktörlerin iletimini ve dokudaki hemostazın korunmasını engellediğinden, nöronal transmitterlerde ki değişiklikler KSH'nı tanımlamak için kullanılabilir.

Nitrik oksit (NO) ereksiyonun fizyolojik mediatörüdür, bu nedenle korpus kavernozaumda büyük miktarda **NO sentaz (NOS)** ekspresyonu vardır. Başarılı KSH modelinde, nNOS'un eks-

presyonu ve immünoreaktivitesinde belirgin şekilde azalma izlenir.

Benzer şekilde intrakavernozaal sinir ve pelvik ganglionda eNOS ve iNOS ekspresyonunda önemli bir azalma gözlenmektedir.

Neurturin (NTN) ve **glial hücre türevli nörotrofik faktör (GDNF)**, penil parasempatik nöronlar için nörotrofik faktörlerdir. Neurturin ile GFRa1 ve GFRa2 gibi GDNF ailesinden reseptörlerini ekspresyonundaki değişiklikler yine KSH'nı göstermede kullanılan markırlardır (19).

Tirozin hidroksilaz (TH), sempatik aktivitenin bir göstergesidir ve aşırı eksprese edilen TH, korpus kavernozaumda sinir liflerinde yüksek oranda sinir rejenerasyonunu gösterir. KSH oluşturulan sıçanlarda sinir uçlarında TH düzeyinde anlamlı şekilde artış olduğunu gösterilmiştir (20).

Ayrıca, parasempatik (**Kolin Asetiltransferaz**) ve nöronal (**β IIIITub**) belirteçlerin ekspresyonunda sinir hasarı oluşturulduktan 48 saat sonra %50 oranında azalma gösterilmiştir (21).

FK506, sinir rejenerasyonu ve fonksiyonunu desteklemede rol oynayan ve sinir hasasını değerlendirmede kullanılan immünsüpresan bir ajandır (22). Pek çok çalışma, FK506'nın uygulanmasının, KSH oluşturulan sıçanlarında erektil fonksiyonların korunmasında fayda sağladığı gösterilmiştir (23).

Nörotropin ailesinden nöronların gelişimi, korunması ve canlılığını devam ettirmede birçok fonksiyonu olan **nerve growth faktör (NGF)** ve **reseptörü (TrkA- neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1)** akut ve kronik sinir hasarını göstermede kullanılan diğer markırlardır (24).

Korpus kavernozaum patofizyolojisi

Kavernozaal sinir hasarında hücre apoptozisi genel kabul gören bir hipotezdir. KSH sonrası ikinci haftadan başlayarak artan düzeyde kavernozaal düz kas hücrelerinde ve endotelde bir

dizi fenotipik değişiklikle gözlemlenmektedir (25). Kavernozal düz kas hücrelerinde hipertrofi ve yuvarlak endoplasmik retikulum oluşumu izlenmekte, aktin, miyozin ağır zinciri ve desmin düzeyinde belirgin azalma gözlemlenirken vimentin düzeyinde belirgin artış olmaktadır (25).

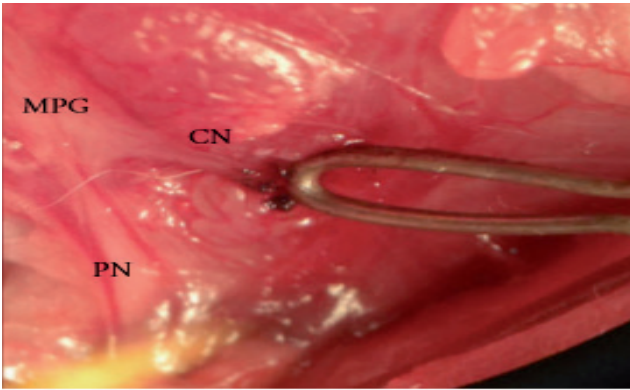
Radyasyon hasarına bağlı modellerde ise korpus kavernozaum hücrelerinde anti alfa-aktin, caspasa 3 ve endotelial NOS düzeyinde ve düz kas kollajen oranında azalma, fibronojen oranında artış gözlenmektedir (26) Kavernozal düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde apoptozis ve fibrozisde artışla birlikte venooklusif disfonksiyon gelişmektedir. Venooklusif disfonksiyon dinamik infüzyon kavernozaometre ile değerlendirilmekte ve 2 kattan fazla düşüş anlamlı kabul edilmektedir (27). Sonuç olarak radyasyona bağlı KSH sonrası Rho-kinazın erken inhibisyonunun sağlanması, Akt / Bad / Bax / kaspaz-3 ve LIMK2 / kofilin yolaklarını bas-

kılayarak korporal apoptoz ve fibrozu önleyerek korporal venooklusif disfonksiyonu ve ED'yi önleyebileceği gösterilmiştir (27).

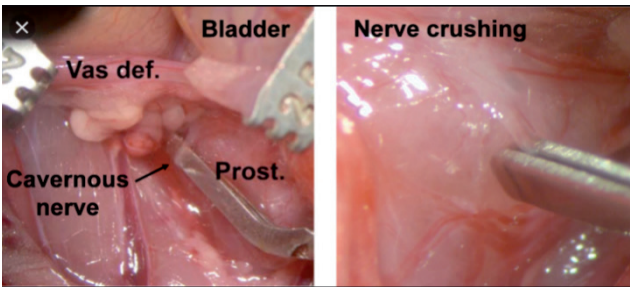
Oksidatif stres ve inflamasyon

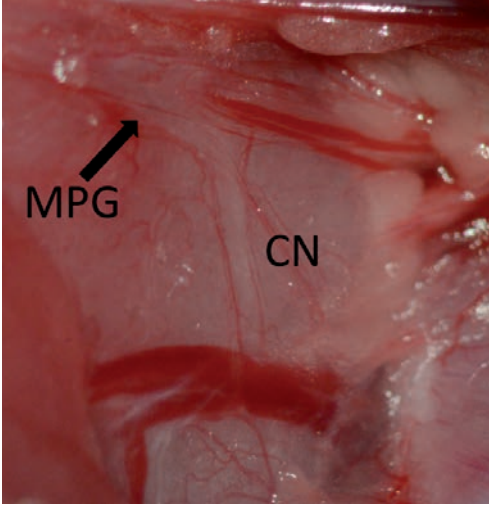
Oksidatif stres ve inflamasyon KSH'na bağlı erektil disfonksiyon gelişimi patofizyolojisinde rol alan iki önemli parametredir. KSH sonrası erken dönemde 2 temel oksidatif stres markırı olan Superoxide dismutase (SOD), ve glutathione peroxidase (GPX) düzeyleri artmıştır (6). NADPH diaforez ile boyanma dorsal penil sinirlerde NOS aktivitesini göstermek için kullanılmaktadır. Sinir hasarı olan hayvanlarda belirgin şekilde NADPH diaforez pozitif sinir liflerinde azalma gözlemlenmiştir. Transeksiyon grubunda ezme grubuna göre oksidatif stres markırlarında daha belirgin artış izlenmiştir (6).

Kim ve ark. KSH'na bağlı hipoksi bağımlı faktör 1a ekspresyonunda artma, eNOS ve



Şekil 1. Sıçanlarda kavernozal sinir anatomisi, ezme modelinin uygulanması





Şekil 2. Major pelvik gangliyon (MPG) ve kavernoza sinir (CN).

nNOS düzeyinde azalma rapor etmiştir (28). Radyasyon hasarı çıkan modelinde, oksidatif stres markırlarında ki yükselmeye inflamasyon eşlik etmektedir. Oksidatif DNA hasarını gösteren (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) ve lipid peroksidaz (4-hydroxynonenal), NADPH oksidaz (Nox4 ve gp91phox) ekspresyonu artmaktadır. Ayrıca radyoterapi sonrası inflamasyon cevabını gösteren iNOS, makrofaj aktivasyon belirteci (ED-1) ve nitrogliserin düzeyinin arttığı gösterilmiştir (29). Ayrıca Matsui ve ark major pelvik ganglion hücrelerinde KSH'nda 48 saat sonra proinflamatuvar gen ekspresyonu (Il1b, Il16, Tnfa, Tgfb, Ccl2, and Ccr2) ve anti-inflamatuvar sitokin düzeyinde artış olduğunu bildirilmiştir (30).

Genetik değişiklikler

Calenda ve ark. sıçanlarda oluşturulan KSH sonrası sıçan genomu üzerinde yaptığı incelemede 325 gen 48 saat sonra 114 gen 2 hafta sonra ekspresyon düzeyinde belirgin değişiklikler olduğunu göstermiştir (31). Özellikle onarım ve nöron koruyucu (SERPIN1, IGF1, PLA2/PLAUR, ARG), sinir sistemi gelişinde rol

alan (ATF3, GJA1, PLA2, SERPINE1), sinir rejenerasyonu (SERPINE2, IGF1, ATF3, ARG1) ve sinaptik geçişlerde (GJC1, GAL), proliferasyon ve apoptosiste (A2M, ATF3, C3, EGR4, FN1, GJA1, GAL) rol alan yaklaşık 60 gen de değişiklikler izlenmiştir (31).

Kaynaklar

1. Langworthy, O.R., Innervation of the Pelvic Organs of the Rat. *Invest Urol*, 1965. 2: p. 491-511.
2. Lewis, J.E., et al., Blood pressure within the corpus cavernosum penis of the bull. *J Reprod Fertil*, 1968. 17(1): p. 155-6.
3. Canguven, O. and A. Burnett, Cavernous nerve injury using rodent animal models. *J Sex Med*, 2008. 5(8): p. 1776-85.
4. Nyberg, M., et al., Functional and Oncologic Outcomes Between Open and Robotic Radical Prostatectomy at 24-month Follow-up in the Swedish LAPP-RO Trial. *Eur Urol Oncol*, 2018. 1(5): p. 353-360.
5. Quinlan, D.M., et al., The rat as a model for the study of penile erection. *J Urol*, 1989. 141(3): p. 656-61.
6. Wang, H., et al., Role of oxidative stress in surgical cavernous nerve injury in a rat model. *J Neurosci Res*, 2015. 93(6): p. 922-9.
7. Allaf, M.E., A. Hoke, and A.L. Burnett, Erythropoietin promotes the recovery of erectile function following cavernous nerve injury. *J Urol*, 2005. 174(5): p. 2060-4.
8. Valentine, H., et al., Neuroimmunophilin ligands protect cavernous nerves after crush injury in the rat: new experimental paradigms. *Eur Urol*, 2007. 51(6): p. 1724-31.
9. Muller, A., et al., The effect of hyperbaric oxygen therapy on erectile function recovery in a rat cavernous nerve injury model. *J Sex Med*, 2008. 5(3): p. 562-70.
10. Yamashita, S., et al., Nerve injury-related erectile dysfunction following nerve-sparing radical prostatectomy: a novel experimental dissection model. *Int J Urol*, 2009. 16(11): p. 905-11.
11. Yang, R., et al., Adipose-derived stem cells ameliorate erectile dysfunction after cavernous nerve cryoinjury. *Andrology*, 2015. 3(4): p. 694-701.
12. Song, L.J., et al., Electrocautery-induced cavernous nerve injury in rats that mimics radical prostatectomy in humans. *BJU Int*, 2014. 114(1): p. 133-9.
13. Kimura, M., et al., Pilot Study Evaluating a Rat Model of Radiation-induced Erectile Dysfunction Using an Image-guided Microirradiator. *Urology*, 2015. 85(5): p. 1214 e1-1214 e6.
14. Martinez-Pineiro, L., et al., Rat model for the study

- of penile erection: pharmacologic and electrical-stimulation parameters. *Eur Urol*, 1994. 25(1): p. 62-70.
15. Sezen, S.F. and A.L. Burnett, Intracavernosal pressure monitoring in mice: responses to electrical stimulation of the cavernous nerve and to intracavernosal drug administration. *J Androl*, 2000. 21(2): p. 311-5.
 16. Mills, T.M., V.S. Stopper, and V.T. Wiedmeier, Effects of castration and androgen replacement on the hemodynamics of penile erection in the rat. *Biol Reprod*, 1994. 51(2): p. 234-8.
 17. Palma, C.A. and J.R. Keast, Structural effects and potential changes in growth factor signalling in penis-projecting autonomic neurons after axotomy. *BMC Neurosci*, 2006. 7: p. 41.
 18. Hisasue, S., et al., Cavernous nerve reconstruction with a biodegradable conduit graft and collagen sponge in the rat. *J Urol*, 2005. 173(1): p. 286-91.
 19. Wanigasekara, Y. and J.R. Keast, Neurturin has multiple neurotrophic effects on adult rat sacral parasympathetic ganglion neurons. *Eur J Neurosci*, 2005. 22(3): p. 595-604.
 20. Lin, G., et al., Novel therapeutic approach for neurogenic erectile dysfunction: effect of neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1 monoclonal antibody. *Eur Urol*, 2015. 67(4): p. 716-26.
 21. Hannan, J.L., et al., Caspase-3 dependent nitroergic neuronal apoptosis following cavernous nerve injury is mediated via RhoA and ROCK activation in major pelvic ganglion. *Sci Rep*, 2016. 6: p. 29416.
 22. Konofaos, P. and J.K. Terzis, FK506 and nerve regeneration: past, present, and future. *J Reconstr Microsurg*, 2013. 29(3): p. 141-8.
 23. Mulhall, J.P., et al., FK506 and erectile function preservation in the cavernous nerve injury model: optimal dosing and timing. *J Sex Med*, 2008. 5(6): p. 1334-44.
 24. Huang, E.J. and L.F. Reichardt, Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*, 2001. 24: p. 677-736.
 25. Lysiak, J.J., et al., Tadalafil increases Akt and extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation, and prevents apoptotic cell death in the penis following denervation. *J Urol*, 2008. 179(2): p. 779-85.
 26. Cho, M.C., et al., Restoration of erectile function by suppression of corporal apoptosis, fibrosis and corporal veno-occlusive dysfunction with rho-kinase inhibitors in a rat model of cavernous nerve injury. *J Urol*, 2015. 193(5): p. 1716-23.
 27. Ferrini, M.G., et al., Vardenafil prevents fibrosis and loss of corporal smooth muscle that occurs after bilateral cavernous nerve resection in the rat. *Urology*, 2006. 68(2): p. 429-35.
 28. Kim, H.J., et al., Spontaneous recovery of cavernous nerve crush injury. *Korean J Urol*, 2011. 52(8): p. 560-5.
 29. Kimura, M., et al., Role of oxidative stress in a rat model of radiation-induced erectile dysfunction. *J Sex Med*, 2012. 9(6): p. 1535-49.
 30. Matsui, H., et al., M1 Macrophages Are Predominantly Recruited to the Major Pelvic Ganglion of the Rat Following Cavernous Nerve Injury. *J Sex Med*, 2017. 14(2): p. 187-195.
 31. Calenda, G., et al., Whole genome microarray of the major pelvic ganglion after cavernous nerve injury: new insights into molecular profile changes after nerve injury. *BJU Int*, 2012. 109(10): p. 1552-64.

Kavernozal Sinir Uyarılması-Erektile Fonksiyon

17

Muammer KENDİRCİ

Giriş

Erkek seksüel davranışının bütünleşik bir parçası olan penis ereksiyonu, santral ve periferik sinir sisteminin eşgüdümlü aktivitesi ve penis içindeki hücre içi ileti mekanizmalarının doğru çalışması sonucunda gerçekleşir. Ereksiyonun sağlanabilmesi için hormonal, nörolojik, yapısal ve hücresele molekülele sistemin entegre bir şekilde çalışması gerekmektedir. Bu mekanizmalar ya da sistemlerden bir veya birkaçında ortaya çıkabilecek bozukluklar erektil disfonksiyon (ED) ile sonuçlanabilir. Ereksiyonun kendisi esasında vaskülele bir olay olduğu için, bu mekanizmayı bozabilecek diyabet, hipertansiyon, kan-damar hastalıkları, obezite, fiziksel inaktivite, sigara bağımlılığı gibi vaskülele risk faktörleri gibi vaskülele risk faktörlerinin varlığı ereksiyon mekanizmaları olumsuz etkileyerek ED'ye yol açabilir (1). Epidemiyolojik çalışmalarda gösterildiği üzere, yaşlılığın kendisi de ED için başlı başına önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir.

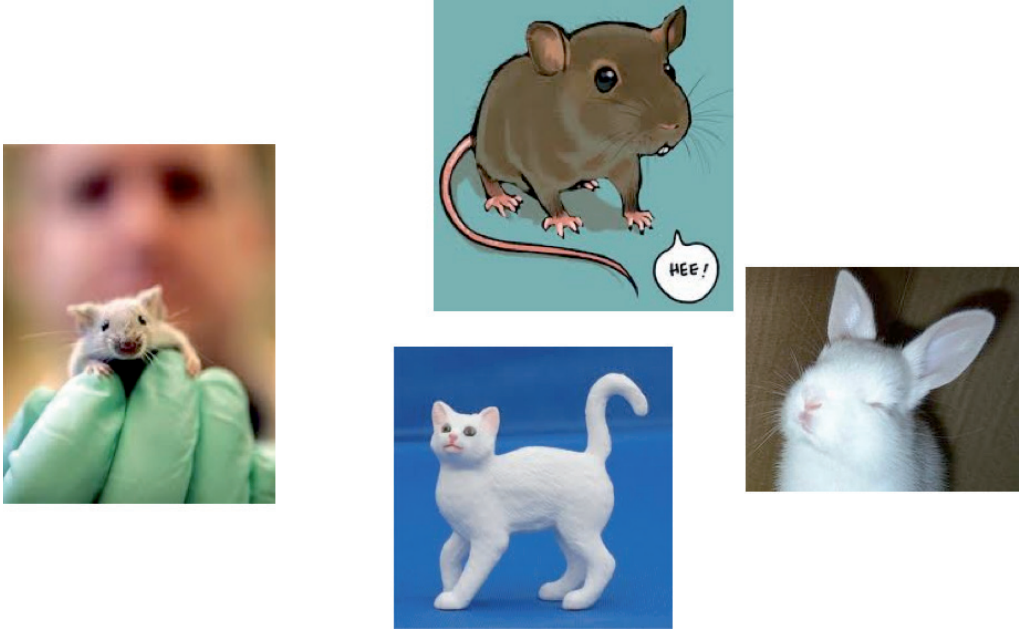
Deneysele hayvanlarda ereksiyonun elektro-fizyolojik mekanizmalarını tam olarak ortaya koyabilmek ve ED'ye yol açabilen değişik hastalık modelleriyle karşılaştırma yapabilmek

için *in vivo* olarak sağlıklı deneysele hayvanlara gereksinim vardır. Kullanılan deneysele hayvan türünden bağımsız olarak sağlıklı hayvanlardaki ereksiyon çalışmaları, lokal ve sistemik fizyolojik olayları tam olarak ortaya koyma olanağı sağlamakla kalmayıp, hastalıkların ereksiyon üzerine etkilerini gösterebilme ve değişik farmakolojik uygulamaları yapabilmek için fırsat sağlayabilir.

Bu kitap bölümünün amacı; ED için kullanılan deneysele hayvanlar, ED'ye yol açan ve deneysele olarak çalışılan hastalıklar ya da bozuklukların neler olduğu, kavernoze sinir uyarımı için gerekli gereçler, kavernoze doku ve sistemik kan basıncı için kanülasyon teknikleri, kavernoze sinir diseksiyonu ve hazırlanması, monitorizasyonun ve ölçümün nasıl yapılacağı ve yorumlanacağı konularında araştırma meraklılarıyla deneyim paylaşımıdır.

ED modellerinde kullanılan deneysele hayvanlar:

ED deneysele çalışmalarda kullanılacak hayvanın seçiminde amaçlanan çıktılar, elde edilebilme kolaylığı, mali gereçler, hayvanın idamesinin kolaylığı, laboratuvar veya kurumun



Resim 1. ED deneysel çalışmalarında en sık kullanılan hayvan türleri.

özellikleri, araştırmacının becerileri gibi faktörler belirleyicidir. Ayrıca, elde edilecek sonucun kliniğe ya da insanlara uygulanabilmesi de seçim öncesinde düşünülmesi gereken konular arasında yer almaktadır. ED için kullanılan deneysel hayvanlar arasında kedi, tavşan sıçan ve fare yaygınlık açısından en sık tercih edilen türlerdir. Ekonomik nedenler ve idamesinin kolaylığı nedeniyle sıçan (*rat*) ve fare (*mice*) en sık tercih edilen deney hayvanlarıdır. Her ne kadar manupasyonu diğer türlere göre daha zor olsa da bu iki tür; kullanımının kolaylığı, düşük maliyeti, oturmuş deneysel modelleri nedeniyle ED çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (**Resim 1**).

Yapılması planlanan ED çalışma modeline bağlı olarak, hazır üretim ancak maliyeti daha yüksek özelleşmiş deney hayvanları da ekonomik olarak daha maliyetli olmalarına rağmen yaygın olarak kullanılmaktadır. Araştırmacı, literatürde tanımlanmış diyabet, hipertansiyon,

obezite, oksidatif hasar, hiperkolesterolemi yöntemlerini kullanarak denekteki arzu edilen patolojik durumu kendisi sağlayabileceği gibi, bu modelleri hazır olarak da temin edebilir. Araştırma bütçesi uygun olanlar için değişik genetik yöntemlerle üreticiler tarafından diyabet, obezite, yaşlılık ve hipertansiyon için üretilen hayvanlar da çalışma öncesinde temin edilebilir. Genetik olarak hazır hale getirilen hayvanların kullanıldığı ED çalışmalarında, denek kaybı ve arzu edilen modelden sapmaların daha az olacağı da çalışma öncesinde göz önünde bulundurulmalıdır.

ED hayvan modelleri:

Eretil fizyoloji-moleküler mekanizması ve ED'ye yol açan bozuklukların değişik patofizyolojik modeller üzerinde onyıllardır çalışılması sonucunda, oldukça ileri düzeyde farmakolojik, genetik, hücre tabanlı ve klinik sonuçlar elde

ED deneysel hayvan modelleri

- ▶ Diyabet
- ▶ Yaşlılık
- ▶ Hipertansiyon
- ▶ Hiperkolesterol
- ▶ CNI
- ▶ Alkol
- ▶ Sigara
- ▶ Hipogonadizm
- ▶ SKY
- ▶ CNS lezyonları



Kullanılan hayvanlar

- STZ-induced (IDDM)
- Zucker
- Cohen diabetic rat
- BB/WOR (tip 1 DM)
- BBZ/WOR (tip 2 DM)
- Psammomys obesus (Israeli sand)
- Fisher 344 rat
- Brown Norway
- Sprague Dawley
- Spontaneous hypertensive rat (SHR)
- Wistar Kyoto (WKY)
- Prque hypertensive (PHR)
- Milan hypertensive (MHR)
- Genetically hypertensive rat (GHR)
- Tavşan

Resim 2. Eretil disfonksiyona sıkça yol açan risk faktörleri ve bunları araştırmak için kullanılan deneysel hayvanlar.

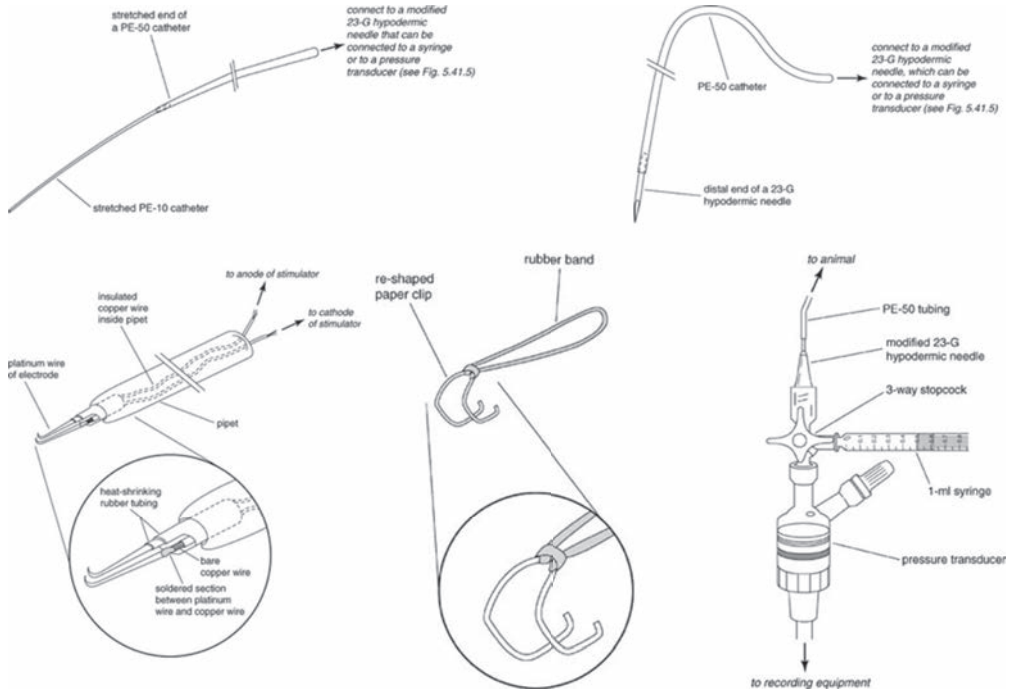
edilmiştir. ED'ye yol açan ana vasküler risk faktörlerinden olan diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve damarsal hastalıklar üzerinde çok sayıda deneysel hayvan çalışması literatürde bulunmaktadır. Aynı şekilde yaşlılığa ve kavernoza dokudaki oksidatif hasara bağlı ED için de pek çok deneysel veri mevcuttur.

Son yıllarda, radikal prostatektomiye bağlı sinir hasarının oluşum mekanizması, kavernoza dokuda ve sinirde ortaya çıkan moleküler değişiklikler ve ereksiyonun geri dönüşü üzerine yapılan deneysel çalışmalarda elde edilen sonuçlarla, ED'nin önüne geçebilme ve rehabilitasyon konusunda oldukça önemli ilerlemeler literatüre sunulmaktadır. Araştırılacak risk faktörü ne olursa olsun, yapılması planlanan kavernoza sinir uyarımı, intrakavernoza ve intraarteriyel kanülasyon ve elde edilen basınçların

monitorizasyon ve değerlendirilmesi önemli oranda standart işlemlerdir. Bazı ED modellerinde santral etkili apomorfin ya da periferik etkili fosfodiesteraz-5 inhibitörleri (PDE5i) kullanılabilmektedir. Ayrıca, endotel bağımlı ve endotelden bağımsız ereksiyon mekanizmalarını değerlendirmek üzere, kavernoza dokuya vazoaktif ajan enjeksiyonları da gerekebilmektedir. Resim 2'de ED'ye sıkça yol açan risk faktörleri ve bunları araştırmak için kullanılan deneysel hayvanlar-modelleri verilmiştir.

Gerekli malzemeler ve ekipman:

Her ne kadar kullanılan denek hayvanı ve çalışılacak konu nedeniyle farklılıklar olsa da, bu bölümde, bölüm yazarı araştırmacının da en çok kullandığı ve genellikle standart kabul edilen sıçan (*rat*) protokollerinde kullanılan mal-



Resim 3. Kavernoza sinir uyarılmasında kullanılan bazı gereçler.

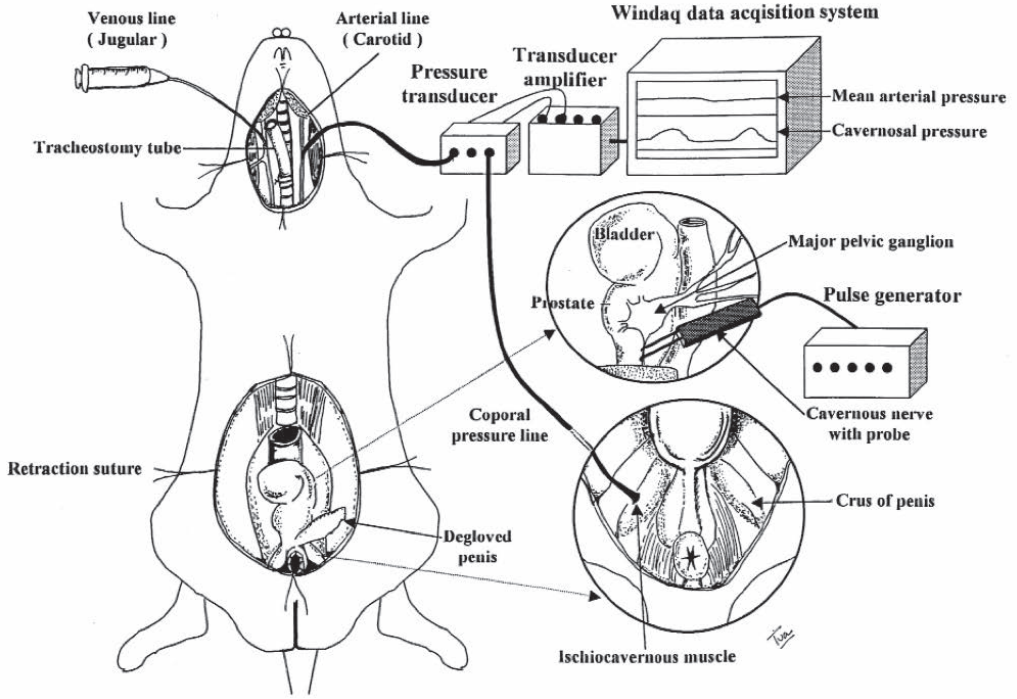
zemeler ve ekipman sunulmaktadır. Yapılması planlanan deneyin özelliğine göre malzeme ve ekipmanda değişiklikler yapılması olasıdır ve bu değişikliklere uygun protokoller literatürden genellikle temin edilebilir.

Kavernoza sinir uyarımı çalışmaları gereklili olabilecek malzemeler ve ekipmanın deney öncesinde elde hazır bulundurulması elzemdir. Aksi halde, hem bütçesel olarak zorluklarla karşılaşılabilir, hem de aylardır idamesi sağlanan deney hayvanının telef edilmesi söz konusu olabilir. Deneyin en kritik yerinde, malzemelerde eksiklik çıkması, deneyin gerçekleştirilememesi ya da arzu edilmeyen sonuçların çıkmasına yol açabilir. Deneye başlamadan önce, araştırmacı kafasında deneyi gerçekleştirmeli, ekipmanlarının hazır ve doğru çalıştığından emin olmalıdır. Kavernoza sinirinin uyarılmasında kullanılan bazı gereçler **Resim 3**'te verilmiştir.

Intraabdominal cerrahi ve kavernoza sinirinin hazırlanması

Intraabdominal cerrahi ve hedeflenen kavernoza sinirinin diseksiyonu öncesinde deney masasının düzenlenmesi gerekmektedir. Bu konuda araştırmacılara yardımcı olabilecek düzenek **Resim 4**'te sunulmuştur.

Sistemik arter basıncı monitorizasyonu için genellikle karotid arter kanülasyonu, sürekli hava desteğini sağlamak üzere trakeotomi, kavernoza sinir uyarımı için kavernoza sinirinin diseksiyonu ve bir hook yardımıyla asılması, intrakavernoza basıncının ölçülmesi için kruranın kanülasyonu gerekmektedir. Uyarım sırasında elde edilen sistemik kan basıncı ve intrakavernoza basıncının eşzamanlı kaydedilmesi için Biopack ve benzeri bilgisayar tabanlı programlar kullanılabilir.

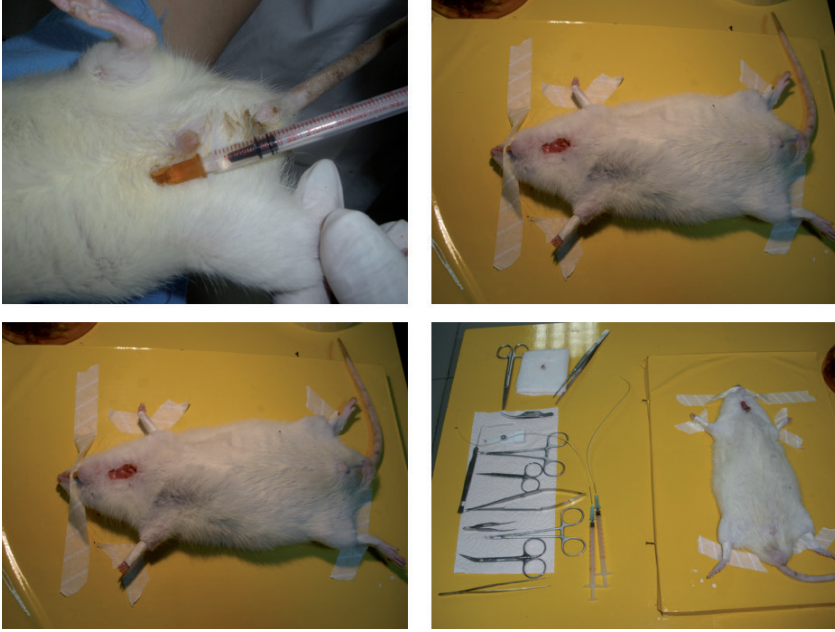


Resim 4. Eretil fonksiyon değerlendirmesinde eşzamanlı sistemik kan basıncı ve intrakavernoz basınç ölçümüne ait düzenek.

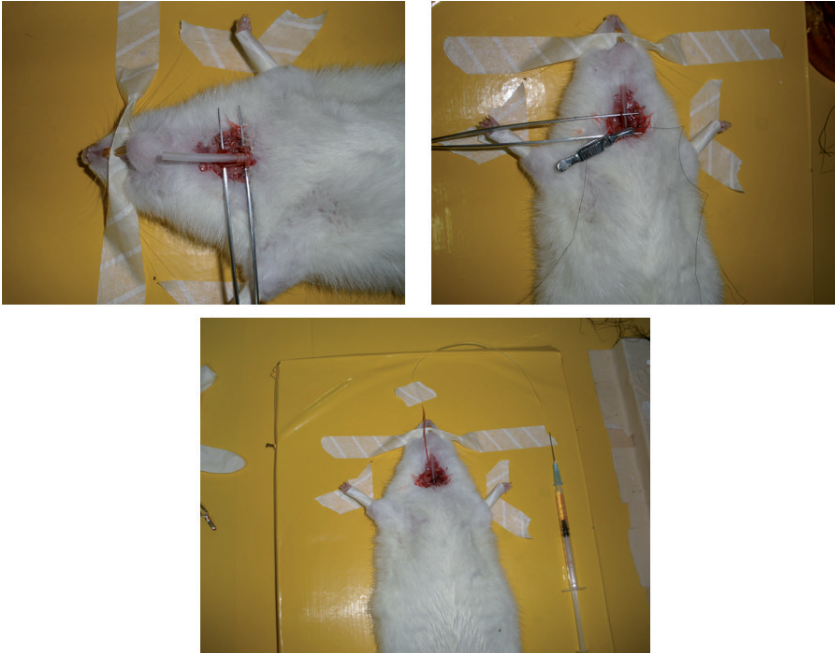
Deneye başlamadan önce deney masası üzerindeki cerrahi alanın hazırlanması gerekir. Deney aşaması çıplak gözle yapılabileceği gibi, ihtiyaç halinde bir büyüteç ya da mikroskop kullanılabilir. Deney masası üzerinde, araştırmanın kolayca ulaşabilmesini sağlayacak cerrahi gereçler ve diğer materyaller (sütür, kompres, tüpler, uyarı için hook, iğneler, kanülasyon malzemeleri, bistüri vb.) hazır bulundurulmalıdır. Xylazine (10 mg/kg) ya da ketamin (50 mg/kg) intraperitoneal ya da intramüsküler yoldan injekte edilerek deney hayvanının anestezisi sağlanır (**Resim 5**). Deney hayvanı termostatik olarak kontrolü sağlayan deney masasına supin pozisyonunda yatırılır, dişlerinden ve 4 ayağından sabitlenerek deney sırasındaki olası hareketi önlenir ve görüş alanı tam anlamıyla sağlanmış olur. Ameliyat bölgesi tıraş edildikten sonra klorheksidin veya alkolle temizlenir.

Deney aşamaları araştırmacıdan araştırmacıya değişebilir. Bazıları önce trakeostomi ve sistemik arter kanülasyonu ile başlayıp sonrasında alt abdominal bölge ve penil krusları disseke eder. Bu bölümün yazarı, ilk aşamada havayolu desteğini sağlamak ve idame ettirmek için trakea kanülasyonunu, sonrasında sistemik kan basıncını monitorize etmek üzere sağda karotid arter kanülasyonunu tercih etmektedir (**Resim 6**). Trakea kanülasyonu için genellikle PE-240 polietilen tüp ve karotid arter kanülasyonu için PE-50 tüp kullanılmaktadır.

Sonraki aşamada penis cildinin başladiğı noktadan umbilikusa kadar uzanmak üzere batın alt kadranda orta hat insizyonuyla penis cildi deglove edilir ve batın alt kadranda disseksiyonla mesane ve prostata ulaşılır. Prostat posterolateralinde kavernoza sinir majör pelvik ganglionun distalinde disseksiyonla serbestleş-



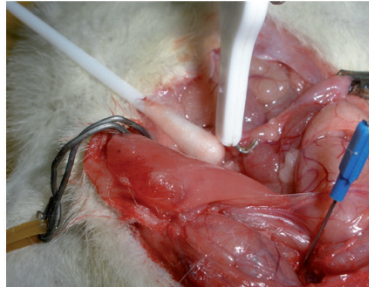
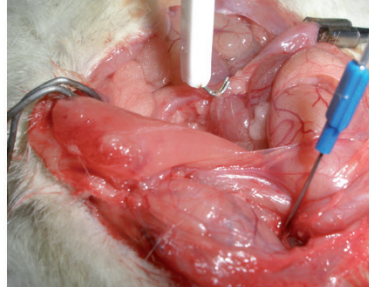
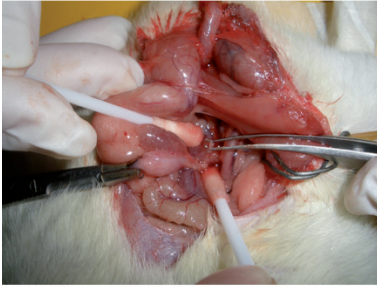
Resim 5. Deneysel hayvanının intraperitoneal yolla anestezi ve deney sırasında hava yolunun açık şekilde kalması için trakeanın kanülasyonu gösterilmektedir.



Resim 6. Hava yolunun açık kalmasını sağlayacak trakea kanülasyonu ve sistemik kan basıncının monitorizasyonu için sağda karotid arter kanülasyonu aşamaları.



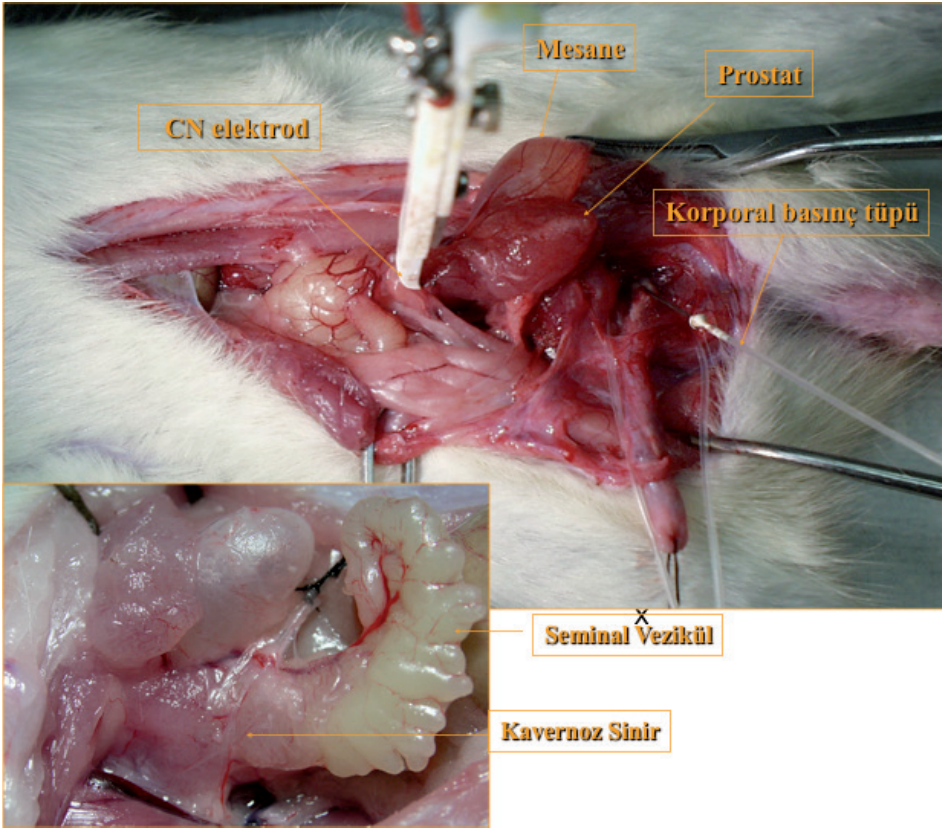
Resim 7. Kavernoal sinir diseksiyonu ve askıya alınması.



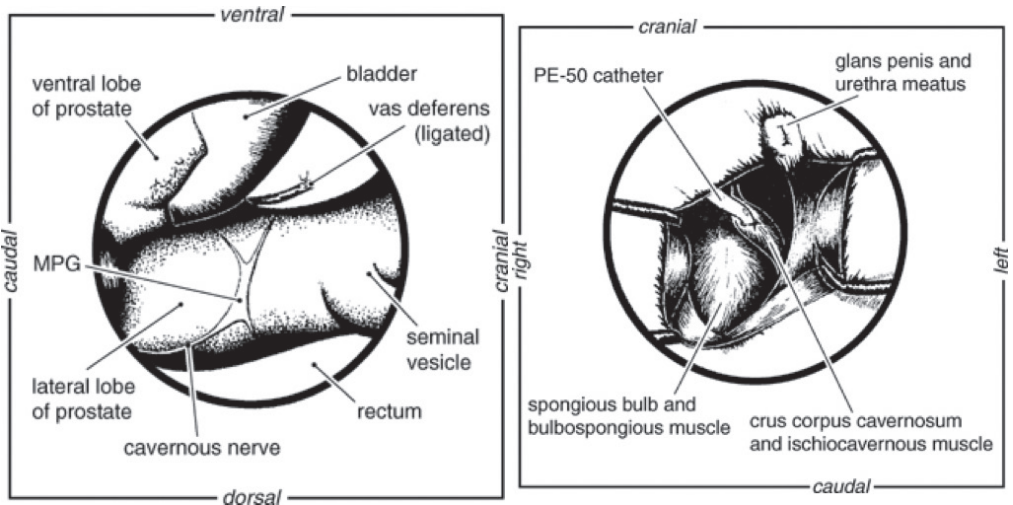
Resim 8. Kavernoal sinir diseksiyonu ve bipolar hook yardımıyla askıya alınması, penis krusunun kanülasyonu aşamaları.

tirilir ve bir uyarıcı hook yardımıyla askıya alınır (**Resim 7**). Penis proksimalinde penis krusu üzerindeki yapılar diseke edilerek krus tam olarak ortaya konur. İntrakavernoal basınç monito-

rizasyonu için penis krusu, ucunda 250 ü/mL heparinle doldurulmuş 25 gauge iğne ve PE-50 tüp kullanılarak perfore edilir ve penis içine ulaşılır (**Resim 8, 9 ve 10**).



Resim 9. Kavernoza sinir uyarımı öncesinde, kavernoza sinirin askıya alınması ve penis krusun hazırlanması.



Resim 10. Kavernoza sinirin majör pelvik ganglion, mesane ve prostatla ilişkisi (Solda). Penis krusun kanülasyonu (Sağda).

Bazı araştırmacılar intrakavernoza basınç ölçümü için doğrudan penis korpusuna monitorizasyon için giriş yapmaktadırlar. Deney hayvanında kavernoza sinir uyarımıyla oluşan ereksiyon sırasında korpustaki iğnenin hareket etmesi nedeniyle basınç ölçümünde aksamalar ve yanlış sonuçlar alınabilmektedir. Bu bölümün yazarı, literatürdeki diğeri bazı araştırmacılar gibi peniste krus kanülasyonunu tercih etmektedir. Bu tercih, intrakavernoza basıncın ölçümü için sorunsuz bir monitorizasyon sağlamaktadır.

Bilgisayar-iletici bağlantılarının kurulması:

Trakea kanülasyonu ile havayolu daimi açıklığının sağlanması, sistemik kan basıncının

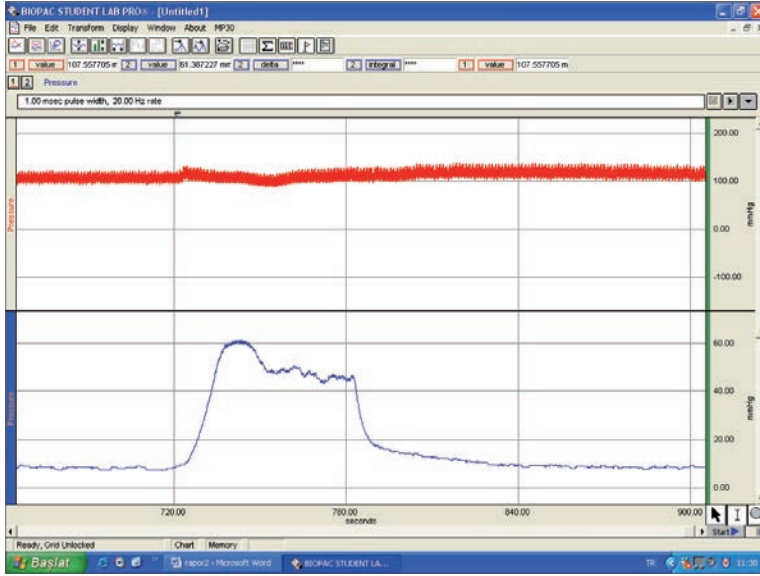
monitorizasyonu için karotid arter kanülasyonu, kavernoza sinirinin prostatın posteriorunda majör pelvik ganglion distalinde serbestleştirilmesi ve bipolar hook yardımıyla askıya alınması ve intrakavernoza basınç ölçümü için penis krusun kanülasyonu sonrasında bilgisayardaki Biopack yazılımıyla bağlantıları sağlamak üzere karotid arter ve penis krusun çıkan tüpleri basınç iletilicileriyle birleştirilir. Deneye başlamadan önce, hem sistemik kan hem de intrakavernoza basınçların bilgisayara doğru yansıtılması için ileticinin kalibrasyonunun tam olarak yapılması zorunludur (**Resim 11**).

Kavernoza sinir uyarımı:

Kavernoza sinir uyarımı için literatürde değişik protokoller bulunmaktadır. Bu bölümün yazarı



Resim 11. Kavernoza sinir uyarımıyla elde edilecek intrakavernoza ve sistemik kan basıncı ölçümleri için düzeneğin hazırlanması ve ileticiler aracılığıyla bilgisayarla ilişkilendirilmesi.



Resim 12. İntrakaverno ve sistemik arter basınçlarının monitorizasyonu.

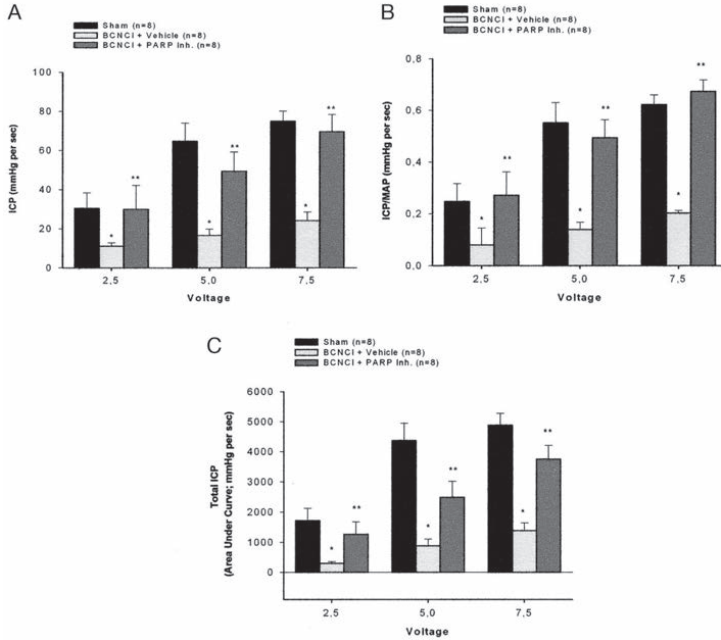
yine literatürde sunulan protokolü tercih etmektedir (2). Buna göre; 15 Hz frekansta, akım derinliği 30 saniyede ve 2,5, 5 ve 7,5 volt olmak üzere 3 değişik uyarım uygulanmaktadır. Bunlar içinde fizyolojik değerleri en iyi yansıtan 5 volttur. Her bir uyarım süresi 1 dakikadır. Bir sonraki uyarımı yapmak için deney hayvanının ortalama 3-5 dakika dinlendirilmesi gerekmektedir.

Elde edilen yanıtların değerlendirilmesinde intrakaverno basınç değeri için maksimum ICP, ICP/MAP (intrakaverno basıncın sistemik kan basıncına oranı) ve toplam ICP değerleri (AUC: Area under the curve) kullanılmaktadır (Resim 12). Kaverno sinir uyarımı sırasında peniste salgılanan nitrik oksit sistemik kan basıncını kısmen etkileyebilmektedir. Bu nedenle, ICP/MAP değerinin kullanılması

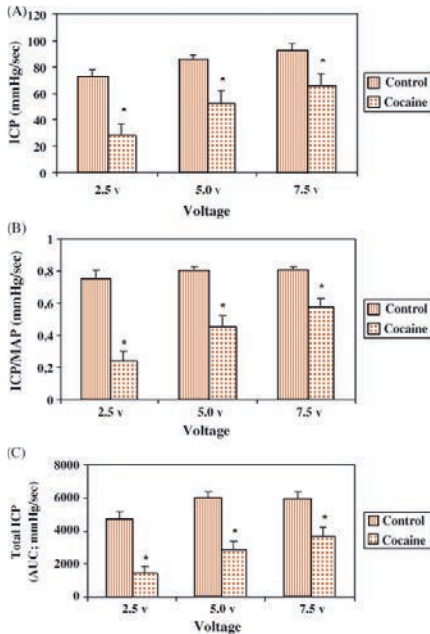
her zaman daha sağlıklı sonuçlar verecektir. Elde edilen basınç değerleri mmHg cinsinden belirtilir.

Literatürdeki deneysel çalışmalarda sık yapılan hatalardan birisi, eşzamanlı intrakaverno ve sistemik arter basınçlarının verilmemesi durumudur. Sistemik arter basıncının kaverno sinir uyarımından etkilenebileceği, deney hayvanının anestezisinin iyi yapılmaması ya da alıcılardaki kalibrasyon hataları nedeniyle elde edilen sonuçların hem sistemik kan basıncını hem de intrakaverno basıncı eşzamanlı yansıtabilecek şekilde sunulması çalışmanın doğru anlaşılması açısından önemlidir. Resim 13-16'de daha önce bu bölümün yazarı tarafından yayımlanan deneysel çalışmalardan elde edilen kaverno sinir uyarımına ait grafikler sunulmaktadır.

POLY(ADENOSINE DIPHOSPHATE-RIBOSE) POLYMERASE INHIBITION PRESERVES ERECTILE NERVE INJURY



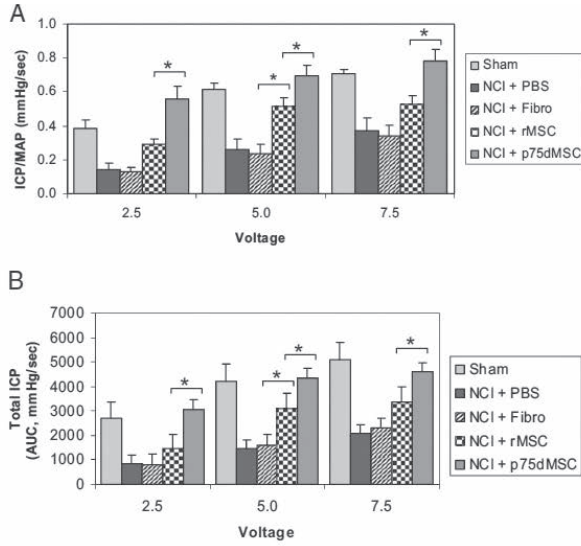
Resim 13. İki taraflı kavernoza sinir hasarı hayvan modelinde kavernoza sinirin 2,5, 5 ve 7,5 volt uyarımı sonrasında elde edilen ICP, ICP/MAP ve toplam ICP değerlerinin şematizasyonu (2).



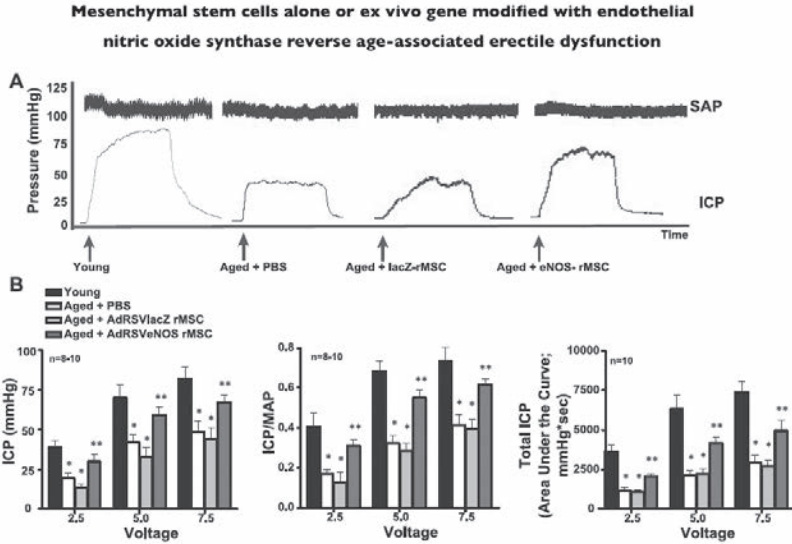
Peripheral Mechanisms of Erectile Dysfunction in a Rat Model of Chronic Cocaine Use

Resim 14. Kronik kokain kullanımının erektil fonksiyon üzerine etkilerinin değerlendirildiği hayvan modelinde kavernoza sinirin 2,5, 5 ve 7,5 volt uyarımı sonrasında elde edilen ICP, ICP/MAP ve toplam ICP değerlerinin şematizasyonu (3).

Transplantation of Nonhematopoietic Adult Bone Marrow Stem/Progenitor Cells Isolated by p75 Nerve Growth Factor Receptor Into the Penis Rescues Erectile Function in a Rat Model of Cavernous Nerve Injury



Resim 15. İki taraflı kavernoza sinir hasarı modelinde p75 NGFR kök hücre kullanılan hayvan modelinde kavernoza sinirin 2,5, 5 ve 7,5 volt uyarımı sonrasında elde edilen ICP/MAP ve toplam ICP değerlerinin şematizasyonu (4).



Resim 16. Yaşlanmanın erektil fonksiyon üzerine etkisi ve kök hücre kullanımının yaşlanmaya bağlı ED’de tedavisini değerlendiren hayvan modelinde kavernoza sinirin 2,5, 5 ve 7,5 volt uyarımı sonrasında elde edilen maksimum ICP, ICP/MAP ve toplam ICP değerleri ve buna eşlik eden sistemik kan basıncı grafiğinin şematizasyonu (5).

Sonuçlar:

Son yıllarda ED için deneysel hayvan modelleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu modellerde, insandaki ereksiyonu taklit edebilecek, ED'nin patofizyolojisini ortaya koyabilecek ve potansiyel tedavilerin kullanımına katkıda bulunabilecek pek çok model üzerinde durulmaktadır. Kavernoal sinir uyarımıyla elde edilen ereksiyon yanıtlarının kliniğe aktarılması konusunda ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. Kavernoal sinir uyarımında deney hayvanının anestezisinden itibaren uygulanması gereken protokoller bu bölümde adım adım tartışılmıştır. Elde edilen sonuçların doğru aktarılması için dikkat edilmesi gereken noktalar ayrıntılı şekilde tartışılmıştır.

Kaynaklar:

1. Kendirci M, Nowfar S, Hellstrom WJ. The impact of vascular risk factors on erectile function. *Drugs Today (Barc)*. 2005 Jan; 41(1): 65-74.
2. Kendirci M, Zsengellér Z, Bivalacqua TJ, Gur S, Usta MF, Chen M, Szabó C, Hellstrom WJ. Poly (Adenosine diphosphate-ribose) polymerase inhibition preserves erectile function in rats after cavernous nerve injury. *J Urol*. 2005 Nov; 174(5): 2054-9.
3. Kendirci M, Pradhan L, Trost L, Gur S, Chandra S, Agrawal KC, Hellstrom WJ. Peripheral mechanisms of erectile dysfunction in a rat model of chronic cocaine use. *Eur Urol*. 2007 Aug; 52(2): 555-63.
4. Kendirci M, Trost L, Bakondi B, Whitney MJ, Hellstrom WJ, Spees JL. Transplantation of nonhematopoietic adult bone marrow stem/progenitor cells isolated by p75 nerve growth factor receptor into the penis rescues erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *J Urol*. 2010 Oct; 184(4): 1560-6.
5. Bivalacqua TJ, Deng W, Kendirci M, Usta MF, Robinson C, Taylor BK, Murthy SN, Champion HC, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ. Mesenchymal stem cells alone or ex vivo gene modified with endothelial nitric oxide synthase reverse age-associated erectile dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007 Mar; 292(3): H1278-90.

Peyronie Hastalığı

18

Ahmet GÖKÇE

Peyronie hastalığının kesin oluşum mekanizması bilinmemekle birlikte, içerisinde genetik yatkınlık, travma, doku inflamasyonu gibi multifaktöriyel olayların yer aldığı ve tunika albugineada meydana gelen yara iyileşme bozukluğu olarak kabul edilmektedir. Erekte haldeki penisin seksüel aktivite sırasında muhtemel mikrotravması sonrasında gelişen anormal yara iyileşmesi sonucunda tunika albugineada skar oluşumu ile sonuçlanan bir süreçtir. Tunika albugineanın bilaminar tabakaları içinde lokalize bir fibrotik plağın varlığı ile karakterize olan bu durum en sonunda cinsel işlev bozukluğuna yol açan penil ağrı, eğrilik ve/veya deformite gelişimi ile ilişkilidir. Genel popülasyonda %3-10 sıklıkla görülen bu hastalık genellikle 50'li yaşlardan sonra izlenmesine rağmen 40'lı yaşlarda da izlendiğini belirten çalışmalar mevcuttur. Peyronie hastalığı olan erkeklerde artan oranlarda depresyon, iş performansında bozulma ve kişilerarası çatışmaların varlığı rapor edilmiştir. Peyronie hastalığı bir yıla kadar uzayabilen akut ve sonrasında gelişen kronik evrelerden oluşan iki evreli bir hastalıktır. Akut evre penil inflamasyon ve buna bağlı ereksiyonda ağrı, plak formasyonu ve penil kurvatur ile karakterizedir. İkinci evre olan kronik evrede ise

inflamasyonun rezolüsyonu ile birlikte ağrıda azalma, plak boyutu ve kurvatur stabilizasyon ve genellikle erektil disfonksiyon meydana gelir. Hastaların çok az bir kısmında tanıdan sonraki ilk bir sene içinde spontan gerileme izlenebilirken yaklaşık yarısı stabil kalır ve yine yarıya yakını da progresyon gösterir.

Nisbeten yaygın olan bu hastalık 250 yıl gibi uzun bir geçmişe sahip olmasına rağmen patofizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yapılan temel bilim çalışmaları Peyronie hastalığı'nın moleküler temeline ışık tutmuştur. Travma sonrası nötrofiller, makrofajlar, trombositler ve mast hücreleri travmanın olduğu bölgeye geçmeye başlarlar ve fibrozis oluşumunda rol alan sitokin ve vazoaaktif faktörleri salgırlarlar. Trombositler büyüme faktörleriyle birlikte transforme edici büyüme faktörleri (TGF) de salgırlar ve travma sonrası hasarlanan bölgede fibrin depolanmaya başlarlar. Burada anahtar rolü oynayan transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$ 'in (TGF- $\beta 1$) ortamda birikmeye başlaması, TGF- $\beta 1$ 'in daha fazla salınımını uyarak sağlıklı olmayan bir iyileşmeyle sonuçlanan inflamatuvar bir sürece neden olur. Aktive olan TGF- $\beta 1$ hücre yüzeyinde bulunan reseptörleri aracılığı ile kollajenazı baskılar ve

bunun neticesinde ortamda artmış bağ dokusu sentezi başlar. Bütün bu sürece ek olarak perivasküler inflamatuvar infiltrasyon ve tunika albuginea içindeki fibrinin ekstrasvazasyonu fibroblastları da aktive/prolifere eder ve bu da inatçı fibrin ve kollajen birikimi ile sonuçlanır. Ek olarak mekanik olarak bozulmuş ve stres altındaki otokrin ve parakrin faktörlerinden etkisiyle fibroblastlar miyofibroblastlara dönüşür. Miyofibroblastlar normal tunikada yaygın olarak bulunmazlar ancak yapılan çalışmalarda Peyronie plak hücre kültürünün %20'lere varan oranlarda tanımlanmışlardır. Miyofibroblastlar alfa düz kas aktin (α -SMA), miyostatin ve sitoskeletal elemanlar içerir. Miyofibroblastların hastalıklı tunikada gerilme stresine uğramaya devam etmesi ve yapısı gereği apoptoza maruz kalmamaları sonucunda Peyronie hastalığı'nın ayırt edici özelliği olan anormal yara iyileşmesi meydana gelir.

Peyronie hastalığı hayvan modeli oluşturması zor bir hastalıktır. Günümüzde Peyronie hastalığı ile ilgili yapılan araştırmalarda kullanılan hayvan modellerinin hiçbiri hastalığı tam olarak yansıtır nitelikte değildir. Son zamanlarda geliştirilen yeni modellerle bu dezavantajlar aşılmasına çalışılmaktadır.

TGF- β 1 Modeli

Peyronie hastalığı araştırmalarında günümüzde ağırlıklı olarak sıçan modelleri kullanılmaktadır. Bunun nedenleri arasında sıçan penisi anatomisinin kapsamlı bir şekilde tanımlanmış olması ve bu modelin insanlara benzer morfolojik ve fonksiyonel özellikleri yeterince yansıtabiliyor olması ve ayrıca daha büyük hayvanlarla karşılaştırıldığında daha ekonomik olması sayılabilir.

TGF- β 1 modeli ilk olarak 1990'ların sonlarında Tom F. Lue ve arkadaşları tarafından kullanıldı. Dr. Lue ve arkadaşlarının daha önce yapmış oldukları bir çalışmada insan Peyronie

plaklarından elde ettikleri dokularda TGF- β 1 ekspresyonunun artmış olduğunu görmeleri bu modelin oluşmasında öncü rol oynamıştır. Bu modelin ilk çalışmalarında TGF- β 1 benzeri özelliklere sahip bir bileşik olan sitomodulin sıçan penisi tunika albugineası içine enjekte edildiğinde 6 hafta içinde kronik hücreyel infiltrasyon, fokal/diffüz elastoz, tunika albugineada kalınlaşma, kollajen demetlerinin dağılımında bozulma ve kümelenme ve TGF- β 1 izoformu ekspresyonunda artış olduğu gözlenmiştir. Bu histolojik özellikler insan Peyronie plağı içinde görülenlere benzerdir. TGF- β 1 sıçan modelini kısaca özetlemek gerekirse öncelikle çalışma gruplarının oluşturulmasında her grupta kaç hayvan olacağı araştırmacıların sahip oldukları olanaklarla orantılı olarak değişebilir ancak elde edilecek verilerin istatistiksel açıdan analizinin doğru biçimde yapılabilmesi için her grupta en az altı hayvanın bulunması önerilebilir. Bu sayı yapılacak çalışmanın dizaynına bağlı olarak artırılabilir ancak unutulmaması gereken konu her ne kadar bu hayvanlar deney hayvanları olsa da etik kurallar gereği bu sayı her zaman bilimsel açıdan yeterli olacak asgari seviyede tutulmaya çalışılmalıdır. Bu modelde genellikle 12 haftalık ya da 300-350 gr ağırlığında erkek Sprague-Dawley cinsi sıçanlar kullanılmaktadır. Sıçanların genel bakımları ile ilgili özel bir durum söz konusu değildir. Standart deney hayvanları laboratuvarında 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü ile düzenlenmiş bir ortamda barındırılmaları yeterlidir. Çalışma dizaynına göre gruplar oluşturulabilir ancak araştırılacak tedavi yöntemine göre değişmekle birlikte Sham (kontrol), Peyronie hastalığı ve Peyronie hastalığı +Tedavi grubu olmak üzere en az 3 grup bulunmalıdır.

Intratunikal Enjeksiyon

Enjeksiyon öncesinde her sıçana intraperitoneal olarak enjekte edilen ketamin/ksilazin

(100/10mg/kg) ile anestezi uygulanır. Penisin sağ veya sol lateralinde tunika albugineayı ortaya çıkaran yaklaşık 2-3 mm'lik insizyon sonrası tunikal kılıfa ulaşılır. 10-16 büyütme altında 28-30 G'lik bir iğne yoluyla tunika albugineaya 50 µL SF (Sham) veya 0,5 µg/50 µL TGF-β1 enjeksiyonu yapılır. Tedavi grubunda ise aynı işlemin ardından kullanılacak medikal ajanın özelliğine göre enjeksiyondan hemen sonra veya değişik zaman periyotlarında penise uygulanabilir. Enjeksiyon sonrası insizyon yeri 5-0 veya daha ince bir suture ile kapatılır. Genellikle 6 hafta sonra (bazı araştırmalarda 5 hafta) eğer yapılacaksa erektil fonksiyon değerlendirmesi sonrasında histolojik ve moleküler değerlendirme yapabilmek amacıyla penektomi yapılarak en sonunda servikal dislokasyon veya medikal olarak sıçanlar sakrifiye edilir.

TGF-β1 modelinin en büyük dezavantajlarından birisi TGF-β1'in intratunikal enjeksiyonunu takiben fibrotik plak oluşumunun zamanlaması ve süresi konusundaki tutarsızlıklarla ilgilidir. Tek bir TGF-β1 enjeksiyonu fibrotik süreci oluşturmak için yeterli olsa da penis eğriliğinin gelişmesine yol açmayabilir. Ayrıca sıçan penisinde kalsifikasyon/ossifikasyonun olmaması penil eğrilik oluşsa bile TGF-β1 enjeksiyonundan 60 gün sonra kendiliğinden kaybolması da bu modelin dezavantajlarındandır.

Fibrin Modeli

Fibrinin Peyronie hastalığı'nın patogenezinde kritik ve belirleyici bir rolünün olduğu ilk olarak Somers ve Dawson tarafından 1982'de tanımlanmıştır. Bu araştırmacılar Peyronie'li erkeklerden elde edilen plak dokusu içinde fibrinojen/fibrin birikimi ile birlikte aşırı kollajen birikimi, elastik lif konfigürasyonu ve dağılımında bozukluk olduğunu bildirdiler. Yara iyileşmesinden sorumlu anahtar bir doku proteini olan fibrinojen, trombinin etkisiyle

fibrine dönüşür ve endotelial hücre yanıtına destek için geçici bir matriks oluşturur. Fibrinojen/fibrin aktivasyonu büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin de olaya dahil olması ile daha da güçlenir. Fibrinin aşırı birikimi fibrinolitik enzimlerin diğer plazma proteinleri ile maskelenmesi ve/veya anormal dokudaki fibrinolitik enzimlerin veya enzim aktivitesinin eksikliği nedeniyle olabilir. Fibrinin ortamda kalıcı olarak bulunması ise öncelikle akut ve daha sonra da kronik bir inflamatuvar yanıtı açar. Sıçanda Peyronie hastalığı modeli olarak fibrin ilk olarak Dr. Gonzalez-Cadavid ve ekibi tarafından kullanılmıştır. Bu çalışmada yukarıda anlatıldığı şekilde intratunikal fibrin (30µL+30 µL insan fibrin+trombin solüsyonu) enjeksiyonunu takiben 3 hafta sonra anlamlı fibrotik plakin oluştuğu gösterilmiştir. Bu modelin avantajı fibrin enjeksiyonundan 3 hafta sonra plak oluşumunun gözlenmesidir. Bu süre TGF-β1 ile karşılaştırıldığında yarı yarıya daha kısadır. Bu modelin dezavantajı ise fibrin hazırlanmasının ve enjeksiyonunun TGF-β1'e göre daha zor olmasıdır.

Cerrahi Travma Modeli

En başta da anlatıldığı üzere Peyronie hastalığı'nın patogenezinde mikrotravmanın önemli bir rolünün olması araştırmacıları tunika albugineada cerrahi olarak oluşturulacak travmanın hayvan modeli olarak kullanılabilirliği fikrine sevk etmiştir. Dr. Lue ve ekibinin tariflediği bu modelde tunika albugineaya yapılan insizyon, sonrasında 8/0 naylon suture ile kapatılmış ve 8 haftaya kadar uzanan değişik zaman periyotlarında hayvanlar sakrifiye edilerek doku incelemesi yapılmıştır. Çalışma sonucunda yazarlar her ne kadar erken dönemde Peyronie hastalığı'nın akut dönemine benzer değişiklikler gözlenirse de bu modelin Peyronie hastalığı'nın kronik fazını taklit etmede yetersiz kaldığı sonucunu bildirmişlerdir.

Spontan Hayvan Modeli

C57B1/6 cinsi farelerin genetik olarak modifikasyonu sonucu elde edilen Tsk (tight skin) farelerin kullanıldığı bu model ilk olarak Lucattelli ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Araştırmacıların literatürde ilk defa kendiliğinden doğal olarak farelerin yaşlanması ile oluştuğunu iddia ettikleri penil kurvatur, fibröz plak, kondroid metaplazi ve heterotopik ossifikasyon gibi değişiklikler sadece penil dokuda değil sistemik olarak yaygın bir şekilde diğer organ ve sistemlerde de gözlenmesi ve yine 12 ay geçmesine rağmen hastalığın ilerlememesi Tsk farelerin araştırmalarda kullanımını sınırlandıran faktörlerdendir.

Allogreft Modeli

Tariflenen modeller arasında en yenisi olan bu model 2014 yılında yine Dr. Lue ve ekibi tarafından geliştirilmiştir. Kısaca özetlemek gerekirse yine 16 haftalık erişkin Sprague-Dawley sıçanlar %3'lük izofluranla uyutulduktan sonra penoskrotal insizyonla penis ventraline ulaşılır. Sol kavernöz cisim spongiyöz cisimden serbestleştirildikten sonra ventral yüzden 2x10 mm'lik tunika eksize edilir ve diğer sıçandan aynı şekilde aynı yerden alınan allogreft 8/0 prolenle sütüre edilir. Hayvanlar eş zamanlı olarak opere edilerek karşılıklı elde edilen allogreftler kullanılır. Kontrol (sham) grubunda ise allogreft yerine hayvanın kendi dokusu kullanılır. 1, 3, 7 ve 12. haftalarda elde edilen sonuçlara bakıldığında bu modelin diğer modellerden farkı 1. haftadan itibaren penil kurvaturun oluştuğu ve bu değişikliklerin 12. haftaya kadar sürdüğünün görülmesidir. Yine erektil fonksiyon ölçümlerinde 12 hafta sonunda ancak erektil yanıtta bozulmanın görülmesi bu modelin Peyronie hastalığı'nın hem akut hem de kronik fazını taklit edebileceğine dair işaretler olarak yorumlanabilir. Ancak yayınlanan çalışmada

moleküler seviyede protein ekspresyonlarının gösterilememiş olması bir eksiklik ve ileri ki çalışmalarda mutlaka ele alınması gereken noktalardandır. Yine de anatomik olarak penil kurvaturun gelişmesi, elastik liflerde kılma, skar oluşumu, kronik inflamasyon ve lokal osteogenezisin elde edilmesi bu çalışmayı diğerlerinden ayıran önemli özelliklerdir.

SONUÇ

Peyronie hastalığı çalışmalarındaki güncel hayvan modelleri maalesef sağlam ve güçlü modeller değildir ve yine hiçbir model tam olarak insandaki durumu taklit eder nitelikte değildir. Bunun sebepleri arasında mevcut modellerde penil plak oluşumunun zamanlaması ve süresinin tam anlamıyla kontrol edilememesi, görünür penis plağı, kalsifikasyon ve eğriliğin her zaman elde edilememesi sayılabilir. Dahası kullanılan modellerin hepsinin kendilerine has dezavantajları vardır. İşte tüm bu etkenler etkili terapötik ajanların tanımlanmasında ve geliştirilmesindeki ilerlemenin yavaş olmasına neden olmaktadır. Bütün bunlara rağmen son zamanlarda geliştirilen yeni modeller bilim dünyasını heyecanlandırır niteliktedir.

Kaynaklar

1. Taylor FL, Levine LA. Peyronie's disease. Urol Clin North Am 2007; 34: 517-34.
2. Bella AJ, Perelman MA, Brant WO, Lue TF. Peyronie's disease (CME). J Sex Med 2007; 4: 1527-38.
3. Sommer F, Schwarzer U, Wassmer G, Bloch W, Braun M, Klotz T, Engelmann U. Epidemiology of Peyronie's disease. Int J Impot Res 2002; 14: 379-83.
4. Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Mechanisms of disease: New insights into the cellular and molecular pathology of Peyronie's disease. Nat Clin Pract Urol 2005; 2: 291-7.
5. Mulhall JP, Creech SD, Boorjian SA, Ghaly S, Kim ED, Moty A, Davis R, Hellstrom W. Subjective and objective analysis of the prevalence of Peyronie's disease in a population of men presenting for prostate cancer screening. J Urol 2004; 171: 2350-3.
6. Hauck EW, Hauptmann A, Schmelz HU, Bein G, Weidner W, Hackstein H. Prospective analysis of single

- nucleotide polymorphisms of the transforming growth factor b-1 gene in Peyronie's disease. *J Urol* 2003; 169: 369–72.
7. Hellstrom WJ, Bivalacqua TJ. Peyronie's disease: Etiology, medical, and surgical therapy. *J Androl* 2000; 21: 347–54.
 8. Gokce A, Wang JC, Powers MK, Hellstrom WJ. Current and emerging treatment options for Peyronie's disease. *Research and Reports in Urology* 2013; 5: 17-27.
 9. Gonzalez-Cadavid NF, Rajfer J. Experimental Models of Peyronie's Disease. Implications for New Therapies. *J Sex Med* 2009; 6: 303–313.
 10. Chung E, De Young L, Brock GB. Rat as an animal model for Peyronie's disease research: a review of current methods and the peer-reviewed literature. *Int J Impot Res* 2011; 23: 235-41.
 11. El-Sakka AI, Hassoba HM, Pillarisetty RJ, Dahiya R, Lue TF. Peyronie's disease is associated with an increase in transforming growth factor-beta protein expression. *J Urol* 1997; 158: 1391–4.
 12. El-Sakka AI, Hassoba HM, Chui RM, Bhatnagar RS, Dahiya R, Lue TF. An animal model of Peyronie's-like condition associated with an increase of transforming growth factor beta mRNA and protein expression. *J Urol* 1997; 158: 2284–90.
 13. Haag SM, Hauck EW, Szardening-Kirchner C, Diemer T, Cha ES, Weidner W et al. Alterations in the transforming growth factor (TGF)-b pathway as a potential factor in the pathogenesis of Peyronie's disease. *Eur Urol* 2007; 51: 255–61.
 14. Bivalacqua TJ, Diner EK, Novak TE, Vohra Y, Sikka SC, Champion HC et al. A rat model of Peyronie's disease associated with a decrease in erectile activity and an increase in inducible nitric-oxide synthase protein expression. *J Urol* 2000; 163: 1992–8.
 15. Gokce A, Abd Elmageed ZY, Lasker GF, Bouljihad M, Kim H, Trost LW, Kadowitz PJ, Abdel-Mageed AB, Sikka SC, Hellstrom WJ. Adipose tissue-derived stem cell therapy for prevention and treatment of erectile dysfunction in a rat model of Peyronie's disease. *Andrology* 2014; 2: 244-51.
 16. Gokce A, Abd Elmageed ZY, Lasker GF, Bouljihad M, Braun SE, Kim H, Kadowitz PJ, Abdel-Mageed AB, Sikka SC, Hellstrom WJ. Intratunical injection of genetically modified adipose tissue-derived stem cells with human interferon α -2b for treatment of erectile dysfunction in a rat model of tunica albuginea fibrosis. *J Sex Med* 2015; 12: 1533-44.
 17. Somers KD, Dawson DM. Fibrin deposition in Peyronie's disease plaque. *J Urol* 1997; 157: 311–5.
 18. Davila HH, Ferrini MG, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Fibrin as an inducer of fibrosis in the tunica albuginea of rat: a new animal model of Peyronie's disease. *BJU Int* 2003; 91: 830–8.
 19. El-Sakka AI, SelPeyronie hastalığı CA, Yen TS, Dahiya R, Lue TF. The effect of surgical trauma on rat tunica albuginea. *J Urol* 1998; 159:1700–7.
 20. Lucattelli M, Lunghi B, Fineshi S, Mirone V, d'Emmanuele di Villa Bianca R, Longo N et al. A new mouse model of Peyronie's disease: an increased expression of hypoxia inducible factor-1 target genes during the development of penile changes. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 2638–48.
 21. Ferretti L, Fandel TM, Qiu X, Zhang H, Orabi H, Wu AK, Banie L, Wang G, Lin G, Lin CS, Lue TF. Tunica albuginea allograft: a new model of LaPeyronie's disease with penile curvature and subtunical ossification. *Asian J Androl* 2014; 16: 592-6.

Penis Fraktürü

19

Fatih ÖZKAYA, İsa ÖZBEY

Penis fraktürü, nadir görülen ancak olduğundan az bildirilen ürolojik bir acildir. Penis fraktürü tabiri aslında doğru bir deyim olmayıp, doğrusu tunika albuginea yırtığıdır. Fraktürün birçok nedeni olmasına rağmen genellikle ereksiyondaki penisin cinsel ilişki sırasında fizyolojik olmayan bir şekilde bükülmesi sonucu oluşur.

Penis fraktürü ilk kez 1000 yıl önce Abul Kasem tarafından rapor edilmiştir. Bugüne kadar en büyük seriler 172 hasta ile Zargooshi tarafından İrân'dan, 142 olgu ile El-Housseiny tarafından Mısır'dan ve 84 vaka ile Yapanoğlu ve Özbey tarafından Türkiye'den bildirilmiştir. Penil fraktür genellikle genç erişkinlerde görülen gerçek ürolojik bir acil olup, doğru şekilde tedavi edilmez ise, önemli fiziksel, fonksiyonel ve fizyolojik sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle tanısı hızlı ve doğru konulmalı ve en uygun şekilde tedavi edilmelidir.

Etiyoloji ve Patofizyoloji:

Cinsel ilişki sırasında fizyolojik olarak peniste intrakorporal basınç 180 mmHg'ya kadar artmaktadır. İntrakavernozal basınç 1500 mmHg olduğunda tunika albugineada yırtık oluşur.

Erişkin erkeklerde tunika kalınlığı dorsalde 2 mm kalınlığında olup, ereksiyon sırasında ventrale yani üretraya doğru yaklaştıkça 0.25-0.50 mm'ye kadar incelmektedir. Bu nedenle rüptürler çoğunlukla ventralde olmaktadır.

Penis fraktürünün nedenleri eğitim durumu, kültürel alışkanlıklar ve cinsel eğitim ile ilişkili olup, değişik serilerde farklı nedenler bildirilmiştir. En sık nedenler travmatik koitus, mastürbasyon, erekte peniste yapılan uygun olmayan manevralar ve yatakta dönme hareketleri olarak bildirilmiştir.

Nadir nedenler, yataktan düşme, at tepmesi, kapıya çarpma, erekte penisi dar pantolona yerleştirme, klozet kapağına sıkıştırma, ağaçtan düşme, şişe içerisinde mastürbasyon yapma vb. olarak sıralanabilir.

Koital Tunika albuginea rüptürü, genellikle tek taraflı, proksimale yakın ve ventralde oluşur. Sağ tarafta görülme sıklığı %75, sol tarafta ise %25 olarak bildirilmiştir. Bu da sağ-sol el kullanma oranları ile uyumlu olup, rüptürlerin çoğunluğunun erekte penisi bükme ile gerçekleştiğine işaret etmektedir. Bilateral korporal rüptür oranı %4-10 olarak bildirilmesine rağmen, eşlik eden korpus spongiosum ve üretra rüptürü %0 ila 40 arasında rapor edilmiştir.



Resim 1. Peniste Patlıcan Görünümü

Tanı

Tunikal rüptür sırasında hasta ve/veya partnerinin bir kırılma sesi duyması ve ardından şiddetli ağrı ile ani ereksiyon sonlanması oldukça tipiktir. Bugüne kadar birçok pahalı, zaman kaybettirici ve gereksiz tanı aracı tanımlanmasına rağmen, penis fraktürü tanısı için hikâye ve klinik değerlendirme genellikle yeterli olmaktadır. Penil ağrı, morarma ve hematoma oluşumuna bağlı **“patlıcan görünümü”** fraktür için patognomoniktir. Penil deviasyon genellikle yırtığın aksi yönünde olur (**Resim 1**). Eğer tunika albuginea ile birlikte Buck's fasyası da zedelenmişse, hematoma Kolles fasyası boyunca perine, skrotum ve alt batına doğru yayılarak **“kelebek (butterfly)”** görünümü oluşturur (**Resim 2**).

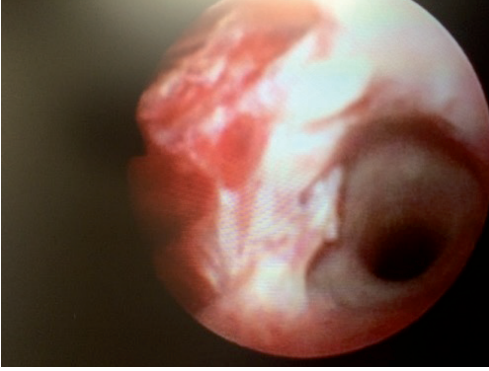


Resim 2. Kelebek (Butterfly) Görünümü

Üretral meada kan görülmesi, gros hematüri ve idrar yapamama eşlik eden üretral rüptür için uyarıcı olmalıdır. Ancak bu belirtilerin yokluğu üretral travma varlığını ekarte ettirmez. Üretrografi, üretral yaralanmayı göstermede çok yararlı olmasına rağmen, yalancı-negatiflik oranı %15'tir (**Resim 3**). Bu nedenle günümüzde cerrahi eksplorasyondan hemen önce varsa dikkatlice fleksible üretroskopi yapılması önerilmektedir (**Resim 4**). Kavernozografi yıllarca



Resim 3. Fraktür Esnasında Oluşan Üretral Yaralanmanın Üretrografi Görüntüsü



Resim 4. Fraktür nedeniyle oluşan üretral yaralanmanın fleksible üretroskopi görüntüsü

kullanılmış ancak yalancı negatiflik, priapizm ve infeksiyon riskleri taşıdığından günümüzde terk edilmiştir.

Penil US ve MR yapılabilir, ancak tanıya katkısı fazla olmayıp, zaman kaybına yol açmakta

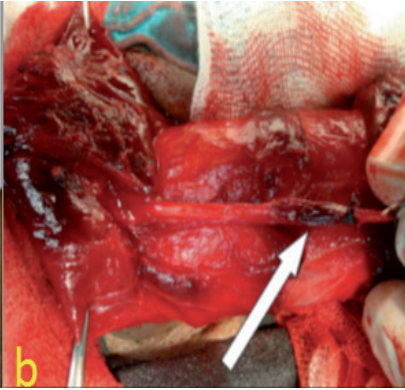
ve ekstra maliyet oluşturmaktadır. Ancak akademik çalışmalar ve yeni bilgiler elde edilmesi amacıyla bu tetkiklerin kullanılması yanlış değildir. Ayırıcı tanıda izole yüzeysel dorsal ven rüptürü ve penis derisinde nekroza yol açan penil violasyon akılda tutulmalıdır (**Resim 5** ve **6**).

Tedavi

Günümüze kadar üç farklı metod uygulanmış gelmiştir: 1. Geleneksel konservatif tedavi, 2. Erken cerrahi tedavi, 3. Gecikmiş cerrahi tedavi.

Konservatif Tedavi:

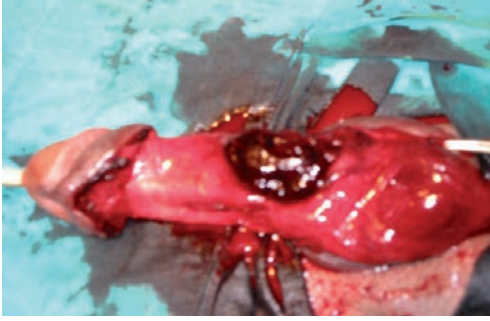
Geçmişte bu yöntem sık uygulanmasına rağmen, günümüzde çok tercih edilmemektedir. Günümüzde yalnızca korkudan dolayı cerrahi kabul etmeyen hastalara uygulanmaktadır. Bu nedenle konservatif tedavi ile ilgili literatür ol-



Resim 5. Yüzeysel Dorsal Ven Rüptürü



Resim 6. Penil violasyon



Resim 7. Tunika Albugineada Rüptür Alanı

dukça zayıftır. Kliniğimizde 42 hastanın yalnızca 5'i (%11.9) cerrahi kabul etmediğinden konservatif yöntemlerle tedavi edilmiş ve sonuçları cerrahi yöntemle karşılaştırıldığında daha kötü olduğu sonucuna varılmıştır. Konservatif tedavide TU sonda konularak penis baskılı şekilde sarılır, antibiyotik, antienflamatuar, soğuk uygulama ve sedasyon ile beklenir. Hastanede kalış süresi genellikle uzun olup ortalama iki haftadır. Komplikasyon oranı %80'lere kadar çıkmaktadır. Sık görülen komplikasyonlar, hematomun büyümesi, enfekte olması, apse formasyonu, arterio-venöz fistül, penil eğrilik, ağrılı ereksiyon, erektil disfonksiyon (ED) ve penil nodül olarak sıralanabilir.

Erken Cerrahi Tedavi:

Günümüzde erken cerrahi, düşük komplikasyon oranı, hastanede kısa kalış süresi, iyi sonuç-



Resim 8. Operasyon Sırasında Artifisiyel Ereksiyon

lar ve yüksek hasta memnuniyeti nedenleriyle altın standart olarak kabul edilmektedir.

Erken cerrahi tedavinin prensipleri sırasıyla aşağıda belirtilmiştir:

- Profilaktik antibiyotik
- Fleksible üretroskopi
- Üretral kateterizasyon (üretral rüptür yok ise)
- Sirkumsizyon insizyonu
- Hematom boşaltılması
- Yırtık alanı, üretral, spongiozal ve venöz kontrol (**Resim 7**)
- Kanayan damarların ligasyonu
- Minimal yara debritleme
- Tunika albuginea yırtığının sütüre edilmesi
- Üretral rüptür varsa onarımı
- Artifisiyel ereksiyon (penil kurvatür ve diğer yırtık alanlarının saptanması, **Resim 8**)
- Penil kurvatür mevcut ise düzeltilmesi
- Penröz dren ve yumuşak sargı (**Resim 9**)

Gecikmiş Cerrahi Tedavi:

Erken cerrahi standart tedavi olmasına rağmen, bazı hastalar utanma duygusu, kırsalda yaşam, ulaşım problemleri ve ekonomik nedenlerden dolayı geç başvurmaktadırlar. Bu hastalarda yaygın ödem ve fragil dokular nedeniyle degloving zor olabilir ve önemli komplikasyonlara yol açabilir. Bu hastaları ödemli dokuların azal-



Resim 9. Operasyon Bitiminde Yumuşak Sargı

ması için 7-14 gün süre ile konservatif tedavi ile bekletmek ve daha sonra cerrahi uygulamak daha iyi sonuçlara yol açabilmektedir. Gecikmiş cerrahide yapışık dokular nedeniyle sirkumsizyon insizyonu yerine rüptür alanının üzerinden direkt insizyon yapmak daha doğru olur. Diğer cerrahi prensipler, erken cerrahi ile aynıdır.

PENİS FRAKTÜRÜ İLE İLGİLİ DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

Ratlarda korpus kavernozumun histolojik ve morfolojik yapısına bakıldığında sirküler olmayacak şekilde korpusu çevreleyen nispeten kalın (tunika albuginea) ve tek bir vasküler yapıdan oluşur. Korpus kavernozum ortalama uzunluğu 18.99 mm, ortalama dorsoventral çapı 1.6 mm, ortalama lateral çapı 2.47 mm ve ortalama tunika albuginea kalınlığı 0.295 mm'dir. Sirküler olmayan yapı, at nalı şeklinde destek yapısı oluşturduğu için ratlarda korpus kavernozumun en zayıf bölgesi insanlardaki morfolojiye benzer şekilde ventrolateraldedir.

Eretil disfonksiyonun patofizyolojisi ve penil fizyoloji ile ilgili bilgilerin deneysel olarak araştırılması hayvan modellerinde değişmektedir. Eretil fonksiyonu değerlendirmek ve intrakavernozal basıncı ölçmek için farklı in vivo yaklaşımlar kullanılmıştır. Bunlar arasında penil pletismografi ve dinamik sık kullanılanlardır. Rehman J ve ark. ratlarda normal intrakavernozal basıncı 5-15 cmH₂O (3.5-11 mmHg) olarak ölçmüşlerdir. İnsanlarda ise intrakavernozal basınç 180 mm Hg'ye kadar çıkabilmekte, hatta rüptür sırasında 1.500 mm Hg olmaktadır.

Penis fraktürü ile ilgili deneysel hayvan modelleri için tıp ve veterinerlik literatürü tarandığında yalnızca iki makale çıkmaktadır. Bu iki makale de tıp literatüründe olup, ikisi de Türkiye kaynaklıdır. Veterinerlik literatüründe penis fraktürü ile ilgi deneysel hayvan çalışması bulunmamaktadır.

İlk çalışma 2007 yılında, Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde Akgül T ve ark. tarafından yapılmış ve "Effect of Cyanoacrylic Glue on Penile Fracture: An Experimental Study" ismi ile uluslararası bir dergide yayınlanmıştır. Bu çalışmada deney hayvanı olarak 32 Wistar Albino Rat kullanılmıştır. Ratlar 4 gruba ayrılmış, 12 saat açlıktan sonra 20 mg/kg Ceftriaxone İM profilaktik olarak uygulanmış, genel anestezi amacıyla 50 mg/kg ketamin İM uygulanmış, ratlar anesteziden sonra supin pozisyonuna alınmış, penis derisi %10'luk povidone-iodin solüsyonu ile temizlenerek traş edilmiştir. Ratlara 3 Fr üretral kateter yerleştirildikten sonra deneysel penil fraktür oluşturmak amacıyla **15 numara bistüri ile penisin proksimal dorsal tarafına insizyon yapılmıştır.**

Birinci grupta insizyon sütüre edilmeyip, sekonder iyileşmeye bırakılmış, ikinci grupta insizyon sütüre edimededen **cyanoacrylic glue** uygulanmış ve baskılı sargı ile kapatılmış, üçüncü grupta penil insizyon 6-sıfır polydioxanone ile sütüre edilmiş ve dördüncü grupta ise penil insizyon sütüre edildikten sonra **cyanoacrylic glue** uygulanmıştır. Tüm operasyonlarda x2.5 loop kullanılmıştır. Ratlar genel anesteziden uyandırıldıktan sonra, üriner diversiyon uygulanmayıp, spontan işemeleri beklenmiş, 20-24 derece sıcaklıkta ve %50-55 nem oranı olan karanlık-aydınlık 12-12 saat olacak şekilde tekli özel kafeslerde uygun şekilde beslenerek 3 hafta bekletilmiştir. Üç hafta sonra tüm ratlara intraperitoneal yüksek doz pentobarbital sodyum (100 mg/kg) verilerek sakrifiye edilmiş ve penektomi uygulanarak çıkarılan penisler histopatolojik inceleme için %10'luk formalin solüsyonuna yerleştirilmiştir. Araştırmacılar, histopatolojik inceleme sonucunda **cyanoacrylic glue** uygulanan gruplarda fibrozis oranlarının daha düşük olduğunu ve penil fraktürde bu adhezif materyalin kullanılması gerektiğini tavsiye etmişlerdir.

İkinci çalışma 2015 yılında Van 100. Yıl Üniversitesi'nde Güneş M ve ark. tarafından yapılmıştır. Çalışma "Beneficial influence of topical extra virgin olive oil application on an experimental model of penile fracture in rats" ismi ile uluslararası bir dergide yayınlanmıştır. Bu çalışmada deney hayvanı olarak 18 Sprague-Dawley albino ratlar kullanılmıştır. Hayvanlar rastgele kontrol (n=6), penil fraktürü (PF) oluşturulan+primer tamir yapılan ve PF+primer tamir+Ekstra Virgin Olive Oil (EVOO) (sızma zeytinyağı) kullanılanlar olarak üç eşit gruba ayrılmıştır. Ratlar genel anestezi sonrası (Ketamin 50 mg/kg) sırtüstü pozisyona getirilmiş, genital bölge %10 povidin iyot ile temizlenmiştir. Bir 3 f üretral kateter eksternal üretral meadan 2 cm kadar itilerek midpenile itilmiş ve 15 numara bistüri ile PF oluşturulmuştur. Daha sonra PF ve PF+EVOO gruplarının insizyonları 6-0 polyamiksion ile kapatılmıştır. Tüm operasyonlarda x2.5 loop kullanılmıştır. PF+EVOO uygulanan grupta primer kapatmaya ek olarak 3 hafta boyunca günde iki kez EVOO uygulanmış ve kontrol grubundaki ratlara herhangi bir işlem yapılmamıştır. 21. günde Ketamin ile genel anestezi altında penektomi yapıldıktan sonra tüm ratlarda "servikal dislokasyon yapılmıştır. Penektomi materyallerinin bir kısmı histopatolojik inceleme için %10'luk formol solüsyonuna konulmuş ve geri kalan materyaller ise oksidan/antioksidan durum analizi için -80 ° C'de saklanmıştır. Bu dokular 5 dakika boyunca bir mekanik (Heidolf, Silen Crusher M) ve bir ultrasonik (Bandelin, UW 2070) homojenize ediciler kullanılarak soğuk fosfat tampon çözeltisinde homojenize edilmiş ve daha sonra 15 dakika boyunca 7000 G kuvvetle santrifüj edilmiştir (Ozkol ve diğ. 2012b). Santrifüj işleminden sonra üst kısımda kalan süpernatlarda ayrı ayrı malondialdehide (MDA), lipid hyoperoxide (LOOH), total oxidant status (TOS), reduced glutathione (GSH) gibi antioksidan seviyeleri ve myeloperoxidase

(MPO) aktiviteleri değerlendirilmiş ve bu işlemler +4°de gerçekleştirilmiştir.

Araştırmacılar histopatolojik inceleme sonucunda PF oluşturulan ratlarda topikal EVOO uygulanmasının antienflamatuar, antioksidan ve antimikrobiyal etkileri ile PF üzerinde olumlu etki yaptığını ve topikal EVOO uygulamasının PF'nin diğer konservatif tedavi seçeneklerine dahil edilebileceğini tavsiye etmişlerdir.

YORUM

Bu çalışmalar, literatürde şimdiye kadar penis fraktürü ile ilgili yapılmış olan deneysel hayvan modeli kullanan yegâne çalışmalar olması bakımından övgüyü hak ediyorlar. Ancak penis fraktürünün etyopatogenezi ve patofizyolojisi incelendiğinde basit bir bistüri kesisinin penis fraktürünü tam olarak temsil ve taklit etmediği anlaşılmaktadır. Çünkü genel bilgiler bölümünde anlatıldığı üzere, penis fraktürü kapalı penis derisi altında başta tunika albuginea olmak üzere, spongios cisim, üretra, Buck's fasyası, Colles fasyası ve Dartos fasyası'nın etkilendiği künt bir travma sonucu oluşur ve rüptürler bistüri insizyonu gibi düzgün olmayıp düzensiz bir şekilde olmaktadır. Erişkin erkeklerde Tunika albuginea kalınlığı 2 mm'den 0.25-0.50 mm ye kadar incelendiğinde ve bükülme sonucu 1500 mm Hg basınç uygulandığında rüptür gerçekleşmekte ve rüptürlerin çoğu üretra ve spongios cisme yakın ventralde olmaktadır. Bu nedenle ideal bir deneysel hayvan modeli için tunika albuginea kalınlığı ölçülmeli, bu kalınlığa karşılık gelecek basınç hesaplanmalı ve penis derisi soyulmadan kapalı bir şekilde penis bükülerek fraktür oluşturulmalıdır. Literatürde henüz böyle bir çalışma olmamasına rağmen, Türk Üroloji ve Türk Androloji Akademileri'nin desteği ile ileride bu çalışmaların ilki yapılabilir ve Dünya literatürüne katkı sağlanabilir. Yukarıda anlatıldığı şekilde gerçeğine yakın penis fraktürü oluşturulduktan sonra, konservatif tedavi, er-

ken ve geç cerrahiler uygulanacak hayvan modellerinde yeni bilgilere ulaşılabilecektir.

Kaynaklar

1. Taha SA, Sharayah A, Kamal BA, Salem AA, Khwaja S, Fracture of the penis: surgical management. *Int Surg*, 1988. 73(1): p. 63-4.
2. Zargooshi J, Penile fracture in Kermanshah, Iran: the long-term results of surgical treatment. *BJU Int*, 2002. 89(9): p. 890-4.
3. Ibrahim el-HI, el-Tholoth HS, Mohsen T, Hekal IA, el-Assmy A, Penile fracture: long-term outcome of immediate surgical intervention. *Urology*, 2010. 75(1): p. 108-11.
4. Yapanoglu T, Aksoy Y, Adanur S, Kabadayi B, Ozturk G, Ozbey I, Seventeen years' experience of penile fracture: conservative vs. surgical treatment. *J Sex Med*, 2009. 6(7): p. 2058-63.
5. Al-Shaiji TF, J. Amann and GB Brock, Fractured penis: diagnosis and management. *J Sex Med*, 2009. 6(12): p. 3231-40; quiz 3241.
6. Ozbey I, Penile fracture: Conservative vs. surgical treatment. *European Society for Sexual Medicine Today*, 2010(20): p. 9-11.
7. Kelly DA, Anatomy of the baculum-corpora cavernosum interface in the norway rat (*Rattus norvegicus*), and implications for force transfer during copulation. *J Morphol*, 2000. 244(1): p. 69-77.
8. Mehta N, S Sikka and M Rajasekaran, Rat as an animal model for male erectile function evaluation in sexual medicine research. *J Sex Med*, 2008. 5(6): p. 1278-83.
9. Wu C and JR Kovac, Models for erectile dysfunction and their importance to novel drug discovery. *Expert Opin Drug Discov*, 2016. 11(2): p. 185-96.
10. Sjostrand NO and E Klinge, Principal mechanisms controlling penile retraction and protrusion in rabbits. *Acta Physiol Scand*, 1979. 106(2): p. 199-214.
11. Davila HH, J Rajfer and NF Gonzalez-Cadavid, Corporal veno-occlusive dysfunction in aging rats: evaluation by cavernosometry and cavernosography. *Urology*, 2004. 64(6): p. 1261-6.
12. Rehman J, Christ G, Melman A, Fleischmann J, Intracavernous pressure responses to physical and electrical stimulation of the cavernous nerve in rats. *Urology*, 1998. 51(4): p. 640-4.
13. Akgül T, Ayyıldız A, Cebeci O, Nuhoğlu B, Ozer E, Germiyanoglu C, et al., Effect of cyanoacrylic glue on penile fracture: an experimental study. *J Urol*, 2008. 180(2): p. 749-52.
14. Gunes M, Ozkol H, Pirincci N, Gecit I, Bilici S, Yildirim S, Beneficial influence of topical extra virgin olive oil application on an experimental model of penile fracture in rats. *Toxicol Ind Health*, 2015. 31(8): p. 704-11.

Diyabetik Erektile Disfonksiyon

20

Mustafa Faruk USTA

GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM)'un; Erektile Disfonksiyon (ED) gelişiminde majör bir risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Literatürde yer alan birçok çalışmada, DM'lu erkeklerde ED oranının olmayanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu rapor edilmiş olup; DM ilişkili ED prevalansının %20 ile %71 arasında değiştiği bildirilmektedir. DM ile ilişkili ED patofizyolojisinde; Endotelial disfonksiyon, nörolojik disfonksiyon/dejenerasyon ve küçük-büyük vasküler yapılarda oluşan hasarın rol oynadığı düşünülmektedir. Ek olarak DM'un hormonal fonksiyonlarda da bozukluğa neden olduğu bilinmektedir (1,2,3).

Diabetik hayvan modellerinde yapılan çalışmalar; penis arterlerde ve otonomik sinirlerde patolojik değişikliklerin oluştuğunu; ek olarak korpus kavernozum nörotransmitter düzeylerinde de anlamlı azalmaların geliştiğini ortaya koymuştur. DM hayvan modellerinde gelişen ED'un nedeni; direkt olarak hiperglisemi ile ilişkili olmakla birlikte; Tip-1 ve Tip-2 DM modellerinde gelişen ED patofizyolojileri arasında belirgin bir farklılığın olduğu bildirilmiştir. Tip-1 DM modellerinin çoğunda; kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, korpus kaverno-

zum maksimal kontraksiyon yanıtında belirgin bir artışın olmadığı; buna karşılık parasempatik sinir aracılı düz kas relaksasyonunda önemli derecede azalma geliştiği tespit edilmiştir. Bu bulgunun nedeni: Non-adrenarjik non-kolinergik sinyal yolağında ortaya çıkan ağır defekt olarak tanımlanmıştır. Buna karşılık Tip-2 DM modellerinde; endotelial disfonksiyon ilişkili ve parasempatik aracılı düz kas relaksasyonunda gelişen yetersizliğin minimal düzeylerde kaldığı rapor edilmiştir (1,2,3).

Tip-1 DM ilişkili ED Modelleri

Diabetik ED hayvan çalışmalarının önemli bir bölümünde Tip-1 DM modeli kullanılmıştır. Ratlarda ve farelerde Tip-1 DM modelinin oluşturulmasında streptozotocin (STZ) en yaygın kullanılan ajandır. STZ ile oluşturulan DM modelinde en önemli bulgu; parasempatik aracılı düz kas relaksasyonunda oluşan yetersizlik ile düz kas ve endotel hücre yoğunluğunda ortaya çıkan azalmadır. Nitrojenik sinirlerde oluşan dejenerasyon ve buna bağlı gelişen nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS) düzey düşüşleri de bir diğer önemli bulgudur. Düz kas endotel hücrelerinde oluşan disfonksiyon ve dejenerasyonun sonu-

cu ise; endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) üretimini azalmasıdır. Tip-1 DM modellerinde ek olarak; kavernoza düz kas serbest oksijen radikal düzeylerinin de kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir (1,4,5).

Tip-1 DM modelinin oluşturulmasında kullanılan bir diğer önemli ajan allokstan olup, genellikle bu ajan tavşanlarda uygulanmaktadır. Allokstan kullanılarak oluşturulan DM ilişkili ED modellerinde benzer histopatolojik ve fizyopatolojik bulgular meydana gelmektedir. Bununla birlikte, STZ ve allokstan kullanılan modellerin her ikisinde de deney hayvanlarında, ağır dehidratasyon ve yüksek derecede mortalite ve morbidite geliştiği rapor edilmiştir (1,2,3).

Penil hemodinami ve penis histolojisinde saptanan değişikliklerin yanı sıra Tip-1 DM ilişkili ED hayvan modellerinde saptanan bir diğer önemli patoloji de; anlamlı derecede düşen serum testosteron düzeylerine bağlı gelişen Hipogonadizm tablosudur. Serum Testosteron düzeylerindeki azalmalar, penil doku NO ve nNOS düzeylerini azaltmakla birlikte, RhoA/Rho-kinaz düzeylerini de arttırarak düz kas hücrelerinin kontraksiyon eğiliminde artışa neden olmaktadır (1,4,5).

Tip-1 DM oluşturulmasında bazı genetik modifiye rat modellerden de kullanılmıştır. Genetik modifikasyon sonucu kendiliğinden Tip-1 DM oluşturulan BioBreeding/Worcester (BB/Wor) modeli; İnsan Tip-1 DM hastalarına tamamen paralel olarak kabul edilebilecek bir model olarak değerlendirilmiştir. Bu modelde de penil dokuda azalmış NOS aktivitesi ve kavernoza sinir uyarısına karşı azalmış erektil yanıtın geliştiği gösterilmiştir. BB/Wor modelinin en önemli özelliği; bu modelde penil dokuda gelişen nöropatiye karşılık herhangi bir vaskülopatinin gelişmemesi ve bu özellikten dolayı tek başına nöronal kökenli patolojilerin araştırılmasına olanak sağlamasıdır. Benzer şekilde yine penil doku nNOS düzeylerinin azaldığı BBZ/WOR ratlarının ise ideal Tip-2 DM modeli olarak kabul

edilebileceği rapor edilmiştir. BB/WOR (Tip-1 DM) ve BBZ/WOR (Tip-2 DM) modellerinde penil doku nNOS aktivitelerindeki azalmalara ek olarak serum Testosteron düzeylerinde de kontrol gruplarına göre anlamlı derecelerde azalmalar olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak; her iki grupta da hiperglisemi düzeyine paralel olarak gerçekleşen kavernoza düz kas/kollajen oranında azalmaların olduğu ve hücresele apoptozis indekslerinde artışların gözlemlendiği bildirilmiştir (6,7,8).

Tip-2 DM ilişkili ED Modelleri

Tip-2 DM ilişkili hayvan modellerinde de NO biyoyararlanım düzeylerinde anlamlı azalmaların olduğu gösterilmiştir. Zucker ratları ve obez db/db fareleri bu amaçla en sık kullanılmış olan deney hayvanlardır. Tip-2 DM modellerinde özellikle penil doku eNOS düzeylerinde anlamlı azalmaların olduğu gösterilmiştir (7,9). Ek olarak Zucker ratları ve obez db/db farelerinde penil doku düz kas kontraksiyon düzeylerinin de arttığı rapor edilmiştir. Tüm bu bulgular bu hayvan modellerinde yüksek oranda saptanan ED'un patofizyolojisini açıklayan önemli faktörlerdir.

Tip-1 DM modellerinde farklı olarak, Tip-2 DM modellerinde intrakavernoza basınç ve kavernoza aktivitelerin anlamlı derecelerde potansiyelize edildiği görülmektedir. Hiperinsülinemi ve insülin rezistansı anlamlı derecelerde sempatik sinir sistem stimülasyonuna ve artmış düz kas tonüsüne neden olmaktadır. Bu durumda; vazokonstriksiyon ve düz kas kontraksiyonunun aşılabilmesi için çok daha güçlü bir vazodilatatör uyarıya ihtiyaç duyulmaktadır. Artmış düz kas kontraksiyon düzeylerinin, RhoA-Rho kinaz aracılı olarak ortaya çıktığı ve azalmış düz kas vazodilatasyonu ile birlikte; Tip-1 DM modellerinde görülmeyen veno-oklüzif disfonksiyona neden olduğu bildirilmiştir (10).

Nitrik Oksit (NO)/ siklik Guanozin Mono Fosfat (cGMP) ve Kavernozal Düz Kas

İnsan ve hayvanlarda, DM patofizyolojisinin en önemli tetikleyici mekanizmasının; kavernozal sinirler ve endoteliumda üretilen NO düzeylerinde ortaya çıkan azalma olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, DM'un endotel ve düz kas hücre düzeylerinde de anlamlı derecede azalmalara neden olduğu gösterilmiştir. Özet olarak: DM'un korpus kavernozum düz kas ve endotel yapılarına olan yıkıcı etkisi sonucu NO/cGMP yolağında patolojik değişimler ortaya çıkmaktadır. Tüm bu bilimsel gerçeklerden yola çıkılarak; DM ilişkili ED hayvan modellerinde tedavi stratejilerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır (1,2,3).

Diabetik ED Modellerinde Hedef Moleküller ve Mekanizmalar:

1) Oksidatif Stres

Hiperglisemi, Tip-1 ve Tip-2 diabet modellerinde ortaya çıkan patolojik sonuçlarının en önemli nedenidir. Oksidatif stres ise sözü edilen patolojik sonuçların en önemlilerinden biridir. Superoksit anyonu, okstatif stres ortamında düzeyi artış gösteren bir serbest oksijen radikalidir. Oksidatif strese bağlı olarak artan süperoksit anyonu; ortamda bulunun NO'e bağlanarak peroksinitrit oluşumuna neden olur. Bu rekasyon sonucu bir yandan erektile fizyolojinin en önemli nöromedyatörü olan NO düzey ve biyoyararlanımı azalmakta, öte yandan da son derece toksik bir molekül olan peroksinitrik ererktile dokuda hasara ve apoptozise yol açmaktadır. Bu etkinin ortadan kaldırılması amacı ile α -lipoik asit, γ -linoleik asit, Vitamin E, Sodyum selenat, PDE-5 inhibitörleri, Süperoksit dizmutaz, peroksinitrat katalaz ve askorbik asit gibi tedavilerin etkinlikleri hayvan modellerinde araştırılmış ve değişen düzeylerde tedavi başarı oranları rapor edilmiştir (2,3).

Oksidatif stres ortamında etkinliği artan önemli bir molekül de Arginaz-2 enzimidir. Bu enzim aktivitesinin artışı sonucu L-Arginin biyoyararlanımı ve sonuç olarak NO düzeylerinde azalmalar ortaya çıkarak, düz kas relaksasyon yeteneğinde azalma ve sonuç olarak erektile fonksiyonda bozulma meydana gelmektedir. Buna karşılık; hayvan modellerinde Arginaz-2 aktivasyonunun azaltılması ile erektile kapasitenin artırılmasının olanaklı olduğu rapor edilmiştir (2,11). Benzer şekilde diabet ilişkili ED patofizyolojisinde rol oynadığı bilenen Protein Kinaz C (PKC) enzim aktivasyonlarının bloke edilmesi ile ereksiyon kalitesinin artırılabilceği de bildirilmiştir. Ek olarak, diabetik hayvan modellerinde yapılan çalışmalar sonucunda; Protein Kinaz Akt (PKB) aktivatörleri ile diabetik ED'a bağlı azalmış korpus kavernozum düz kas relaksasyonunun artırılabilceği bildirilmiştir (2,3).

Advanced Glycation End Products (AGE's) olarak adlandırılan 'Glukoz Son Yıkım Ürünleri' ile diabet nedenli ED arasındaki ilişki de birçok çalışmada değerlendirilmiştir. Kontrolsüz ve uzun süreli DM varlığında serum ve penis gibi tüm organlarda düzeyleri yükselen bu moleküller; ilgili dokular üzerinde yıkıcı etki yaratmaktadır. Peniste artan AGE düzeylerinin en önemli etkisi: NO biyoyararlanımının azaltılarak, düz kas relaksasyon potansiyelinin düşürülmesidir. Tüm bunların dışında artmış AGE'lere bağlı olarak penil doku kollagen molekül yapılarında morfolojik bozulmalar oluşmakta ve penil fibrozis süreci uyarılmaktadır. Bu önemli moleküller ve etkilerine karşılık; Aminoguanidin gibi AGE oluşumunu inhibe eden ajanlar ve ALT-711 gibi oluşmuş AGE molekülünü parçalayan ajanların tedavi edici etkileri, diabetik rat modellerinde ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların sonuçları, Aminoguanidin ve ALT-711'in eksperimental düzeyde; diabet ile ilişkili ED tedavisinde umut verici bir tedavi modalitesi olduğunu ortaya koymuştur (12,13,14).

2) PDE-5 İnhibitörleri

PDE-5 inhibitörleri, cGMP hidrolizini PDE-5 enzimi üzerinden bloke ederek, hücresele düzeyde düz kas relaksasyonuna neden olan cGMP molekül miktarının yüksek oranlarda kalmasına neden olur. Yüksek cGMP oranları da hücre içi Ca düzeyini düşürerek, düz kas relaksasyonunun uzun süreli devam etmesini sağlar. Gerçekten de bu mekanizma sayesinde ED bulunan erkeklerinin yaklaşık %75-80'inde tedavi başarısı elde etmek mümkün olmuştur. Buna karşılık diyabet ile ilişkili ED gibi 'Tedavisi Zor' olgularda, bu oranların azaldığı tespit edilmiştir. Alternatif tedavi modaliteleri olarak sildenafil, vardenafil, tadalafil, avanafil ve çok sayıda PDE-5 inhibitörünün birçok diyabetik ED hayvan modelinde uygulandığı görülmektedir. PDE-5 inhibitörleri kronik olarak tek başına ya da başka etki mekanizmalarına sahip ajanlar ile kombine edilerek; diyabet ilişkili ED tedavisinde alternatif tedavi seçenekleri olarak kullanılmıştır. Tüm bunların dışında diyabet ilişkili ED'un en önemli sonuçlarından biri olan hipogonadizm varlığı da diyabetik ED hayvan modellerinde araştırılmış; PDE-5 tedavi etkinliğinin testosteron kombinasyonu ile artırılabilceği de rapor edilmiştir (2,3,15,16).

3) Endotelin-1 ve Rho Kinaz

Düz kas kontraksiyonundan sorumlu mekanizmaların yolları ile ilgili mekanizmalar da diyabetik ED hayvan modellerinde ele alınmıştır. Diyabetik penis dokularda sözü edilen mediatör düzeylerinin kontrol gruplarına göre anlamlı derecelerde arttığı saptanmıştır. Buna karşılık kontraksiyondan sorumlu yolak ve mediatör blokasyonu sonrası, düz kas relaksasyonun diyabetik hayvan modellerinde normal gruplar ile aynı düzeylere getirilebildiği de rapor edilmiştir. Rho kinaz blokasyonu Y-27632 gibi farmakolojik ajanlar ile sağlanabileceği gibi; Adenovirüs aracılı (AAVT19NrhoA) olarak Rho kinaz antagonisti protein sentezi yaptırılarak da gerçekleştirilebilir (4,10).

4) Growth Faktörleri

Penis dokuda fiziksel ve kimyasal travmalar sonrasında; Schwann hücreleri tarafından salgılan Nörotrofinler; sinir rejenerasyonu ve apoptoze karşı direncin gelişmesini sağlar. Başlıca Nörotrofinler; Nerve Growth Factor (NGF) ve Brain Derived Growth Factor (BDGF) olup; bu moleküllerin kimyasal yapıları benzerlik, buna karşılık fonksiyonları farklılık göstermektedir. Diyabetik ED hayvan modellerinde yapılan çalışmalar; NGF'nin travma sonrası sinir hücre rejenerasyonundaki rolünü açık olarak ortaya koymuştur. BDNF, Insulin-like Growth Factors (IGF's), ve Neurotrophins (NT-3 ve NT-4) gibi diğer mediatörlerin de diyabetik rat modellerinde tedavi edici etkinliğinin olduğu rapor edilmektedir.

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF); anjiyogenezin uyarılması buna karşılık apoptozisin bloke edilmesini sağlayan bir başka önemli mediatördür. Diyabetik rat modellerinde VEGF tedavisi ile normal erektil kapasitenin korunduğu gösterilmiştir (17,18,19).

5) Gen Tedavisi

Erektile disfonksiyon tedavisinde gen terapinin tercih edilmesinin en önemli nedenleri; penis organ lokalizasyonu nedeni ile kolay uygulanabilirlik, gen transferi sonrası proteinlerin peniste yüksek ekspresyon düzeyi, hayvan modellerinde tedavi ile ilişkili ciddi yan etkilerinin görülmemesi ve tedavinin uzun süreli etkinlik sağlıyor olması olarak sıralanabilir. Ereksiyon fizyolojisinde rolü olan hücre, enzim, protein ve bazı büyüme faktörlerinin çeşitli yollar ile penise transferi ya da transplante edilmesi; ED hayvan modellerinde önemli bir tedavi alternatifi olarak düşünülmüştür. Diyabetik rat modellerinde eNOS, nNOS, süperoksit dizmutaz ve anti-Rho protein gen transferleri başarı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda, cGMP, NO gibi erektil fizyolojide önemli rolü olan nöromediatör düzeylerinin arttığı göste-

rilmiştir. Bu sonuçlar kadar önemli olmak üzere, yapılan elektrofizyolojik değerlendirmelerde; diyabetik rat erektil kapasitelerinin de kontrol grupları ile benzer düzeylere getirildiği gösterilmiştir. K-maxi kanallarının hiperpolarizasyonu erektil fonksiyonun gerçekleşmesinde rol oynayan önemli faktörlerden birisidir. Bu bilimsel veriden yola çıkılarak; K-maxi kanal subunit gen terapinin, diyabetik ratlarda erektil kapasite üzerine olan tedavi edici etkisi gösterilmiştir. Benzer şekilde Vasointestinal Polipeptide (VIP) ve Insulin-like Growth Factors (IGF's) gen terapileri de diyabet ilişkili ED hayvan modellerinde etkin seçenekler olarak rapor edilmiştir. Daha yakın zamanlarda da VEGF ve BDGF protein genlerinin diyabetik ratlara transferi sonrası, erektil kapasite arttırılmasının sağlandığı bildirilmiştir (10,20,21,22,23,24,25,26).

6) Kök hücre Tedavisi

Diabete bağlı gelişen deneysel ED modellerinde kök hücre tedavisi; ilk olarak kemik iliği kökenli mezenkimal hücreler aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları: Tedavi sonrası diyabetik ratlarda erektil kapasitenin kontrol grubu ile benzer düzeylere ulaşabildiğini; ek olarak düz kas ve endotel hücre restorasyonunun gerçekleşebildiğini ortaya koymuştur (27). Daha sonraları yağ dokusundan elde edilen kök hücrelerin penis içine enjeksiyonu sonrası; yine erektil kapasitenin ve ereksiyonda rol oynayan proteinlerin penil doku düzeylerinin arttırılabildiği gösterilmiştir (28). Daha yakın dönemde, Adenovirüs aracılı VEGF'ün mezenkimal kök hücreli aracılığı ile penil dokuya transfer edilmesi sonrası; diyabetik ratlarda ED'un tedavi edilebildiği gösterilmiştir (29)

SONUÇ

Diabet ile ilişkili ED fizyopatolojisinin detaylı olarak anlaşılmasında ve tedavi alternatiflerinin geliştirilmesinde hayvan modellerinin katkısı ol-

dukça fazladır. Literatür incelendiğinde; hayvan modellerinde en çok rat ve farelerin kullanıldığı görülmektedir. Tavşan, kedi, maymun ve köpek gibi hayvanlar da az sayıda çalışmada kullanılmıştır. Bununla birlikte rat ve farelerin maliyet, üretim, bakım ve üzerinde araştırma olanakları diğer hayvanlara oranla önemli avantajlar sağlamaktadır. Diyabetik hayvan modelleri, ED fizyopatoloji ve tedavi olanakları konusundaki bilgilerimizin artması üst düzey katkılar sağlamakla birlikte, hayvanlardan elde edilen bilimsel verilerin insan verileri ile her zaman örtüşmeyebileceğini unutmamak gereklidir.

Kaynaklar

1. Chung E, Young LD and Brock GB: Investigative Models in Erectile Dysfunction: A State-of-the-Art Review of Current Animal Models. *J Sex Med* 2011; 8:3291-3305
2. Gur S, Peak TC, Kadowitz PJ et al: Review of Erectile Dysfunction in Diabetic Animal Models. *Curr Diabet Rev* 2014; 10:61-73
3. Gur S, Kadowitz PJ and Hellstrom WJG: A critical appraisal of erectile function in animal models of diabetes mellitus. *Int J Androl* 2008; 32; 93-114
4. Chitale K and Luttrell I: Strain differences in susceptibility to in vivo erectile dysfunction following 6 weeks of induced hyperglycemia in the Mouse. *J Sex Med* 2008; 5:1149-1155
5. Burchardt T, Burchardt M, Karden J et al: Reduction of endothelial and smooth muscle density in the corpora cavernosa of the streptozotocin induced diabetic rat. *J Urol* 2000; 164; 1807-1811
6. McVary KT, Rathnau CH and McKenna KE: Sexual dysfunction in the diabetic BB/WOR rat: A central neuropathy. *Am J Physiol* 1997; 272(Pt2):R259-267
7. Villalba N, Martinez P, Briones AM et al: Differential structural and functional changes in penile and coronary arteries from obese Zucker rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297:H696-707
8. Vernet D, Cai L, Garban H et al: Reduction in penile nitric oxide synthase in diabetic BB/WORdp (tupel) and BBZ/WORdp (typell) rats with erectile dysfunction. *Endocrinology* 1995; 136:5709-5717
9. Carneiro FS, Giachini FR, Lima VV et al: Adenosine action are preserved in in corpus cavernosum from obese and type II diabetic db/db Mouse. *J Sex Med* 2008; 5: 1156-1166
10. Bivalacqua TJ, Champion HC, Usta MF et al: RhoA/Rho kinase suppresses endothelial nitric oxide

- synthase in the penis. A mechanism from diabetes-associated erectile dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:9121-9126
11. Toque HA, Tostes RC, Yao L et al: Arginase II deletion increases corpora cavernosa relaxation in diabetic mice. *J Sex Med* 2011; 8:722-733
 12. Gurbuz N, Sagdic G, Sanli A et al: Therapeutic effect of combination of alagebrium (ALT-711) and sildenafil on erectile function in diabetic rats. *Int J Impot Res* 2012; 24:114-121
 13. Usta MF, Kendirci M, Gur S et al: The breakdown of preformed advanced glycation end products reverses erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: preventive versus curative treatment. *J Sex Med* 2006; 3:242-50
 14. Usta MF, Bivalacqua TJ, Koksali IT et al: The protective effect of aminoguanidine on erectile function in diabetic rats is not related to the timing of treatment. *BJU Int.* 2004;94:429-432
 15. Francis SH and Corbin JD: PDE5 inhibitors: targeting erectile dysfunction in diabetics. *Curr Opin Pharmacol* 2011; 11:683-688
 16. Gurbuz N, Kol A, Ipekci T et al: Chronic administration of sildenafil improves erectile function in a rat model of chronic renal failure. *Asian J Androl* 2015; 17:797-801
 17. Ebadi M, Bashir RM and Heidrick ML: Neurotrophins and their receptors in nerve injury and repair. *Neurochem Int* 1997; 30:347-374
 18. Pittenger G and Vinik A: Nerve growth factor and diabetic neuropathy. *Exp Diabetes Res* 2003; 4:271-285
 19. Carmeliet P and Storkebaum E: Vascular and neuronal effects of VEGF in the nervous system: implications for neurological disorders. *Semin Cell Dev Biol* 2002; 13:39-53
 20. Bivalacqua TJ, Champion HC, Usta MF et al: Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase partially restores nitric oxide synthesis and erectile function in streptozotocin diabetic rats. *J Urol* 2003; 169:1911-1917
 21. Bivalacqua TJ, Usta MF, Champion HC et al: Effect of combination endothelial nitric oxide synthase gene therapy and sildenafil on erectile function in diabetic rats. *Int J Imp Res* 2004; 16:21-29
 22. Bivalacqua TJ, Usta MF, Kendirci M et al: Superoxide anion production in the rat penis impairs erectile function in diabetes: influence of in vivo extracellular superoxide dismutase gene therapy. *J Sex Med* 2005; 2:187-197
 23. Pu XY, Hu LQ, Wang HP et al: Improvement in erectile dysfunction after insulin-like growth factor-1 gene therapy in diabetic rats. *Asian J Androl* 2007; 9:83-91
 24. Melman A and Christ GJ: Integrative erectile biology: the effects of age and disease on gap junctions and ion channels and their potential value to the treatment of erectile dysfunction. *Urol Clin North Am* 2001; 28:217-231
 25. Shen ZJ, Wang H, Lu Y et al: Gene transfer of vasoactive intestinal polypeptide into the penis improves erectile responses in the diabetic rat. *BJU Int* 2005; 95:890-894
 26. Schratzberger P, Walter DH, Rittig K et al: Reversal of experimental diabetic neuropathy by VEGF gene transfer. *J Clin Invest* 2001; 107:1083-1092
 27. Qiu X, Lin H, Wang Y et al: Intracavernous transplantation of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells restores erectile function of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Sex Med* 2011; 8:427-436
 28. Nishimatsu H, Suzuki E, Kumano S et al: Adrenomedullin mediates adipose tissue-derived stem cell-induced restoration of erectile function in diabetic rats. *J Sex Med* 2012; 9:482-493
 29. Qiu X, Sun C, Yu W et al: Combined strategy of mesenchymal stem cell injection with vascular endothelial growth factor gene therapy for the treatment of diabetes-associated erectile dysfunction. *J Androl* 2012; 33:37-44

Hipogonadizm ve Kastrasyon

21

Utku CAN, Ali Cihangir ÇETİNEL

GİRİŞ

Erkeklerde infertilitenin anlaşılması, prostat kanseri tedavisinde hormonoterapinin aydınlatılması yanı sıra erektil fonksiyonlar ve androjenlerin ilişkisinin gösterilmesi için rat, fare, tavşan ve köpeklerde kastrasyon ve hipogonadizm modelleri yapılmıştır (1-6). Kastrasyon, testiküler fonksiyonların cerrahi, medikal ya da kimyasal olarak baskılanması ya da yok edilmesi olarak tanımlanır (7). Cerrahi kastrasyon ya da orşiektomi poliklinik şartlarında lokal anesteziyle de yapılabilen bir tedavi metodudur. En büyük avantajı hızlı etkisidir. Bilateral orşiektomi sonrası serum testosteron seviyeleri 3 ile 12 saat içinde (ortalama 8.6 saat) kastre seviyelere iner (8). Ancak skrotumun boş kalmasının psikolojik etkileri göz önüne alındığında bazı hastalar için kabul edilebilir bir durum olmayabilir. Bu soruna yönelik 1942'de Riba subkapsüler orşiektomiyi tanımlamıştır (9). Buna göre her iki yöntemin de efektif ve eşit kastrasyon sağladığı gösterilmiştir (10). Cerrahi kastrasyona alternatif olarak birçok kimyasal kastrasyon metodu geliştirilmiştir. Antiandojenler, GnRH analogları, steroidogenez inhibitörleri ile LH ve testosteron üretiminin baskılanması amaçlanır (11).

Aylık ya da 3 aylık subkutan depot olarak uygulanan LHRH analogları, serum testosteron ve LH üretimini başlangıçtaki kısa bir stimülasyonun ardından 2-3 hafta içinde kastre seviyelere indirir. Başka bir kimyasal kastrasyon yönteminde ise bilateral intratestiküler enjeksiyon ile doku kemo-ablasyonu sağlanır. Farklı çalışmalarda gliserol (12), laktik asit (13), kalsiyum klorid (14), sodyum klorid (7) ve hipertonic salin (6) gibi farklı kimyasal solüsyonlar kullanılmıştır. Hipogonad hipogonadizm modellemesi içinse başta mutant hipogonadal fare geliştirilmesi olmak üzere hipotalamus nörotoksin lezyonları, cerrahi hipofizektomi, GnRH agonist yada antagonist gibi yaklaşımlar kullanılmıştır.

KASTRASYON MODELİ

Kimyasal / Medikal kastrasyon

LHRH analogları ilk kez 1977 yılında sıçan modelinde tanımlanmıştır (15). Erişkin erkek sprague-dawley sıçanları (185-205 gr) 20-22°C'de ışık kontrollü kafeslerde (14 saat aydınlık, 10 saat karanlık) bekletilmiş. İlk değerlendirme için 0.6, 3, 15 ya da 75 pg LHRH agonisti, hCG (50 IU) ya da sodyum klorür enjeksiyonu yapılmış. Hayvanlar son LHRH ya da Hcg enjeksiyonundan

16-18 saat sonra sakrifiye edilmiş. Sonuç olarak bu çalışma ile testis LH reseptörlerindeki down-regulasyon, azalan testiküler hacim ve plazma testosteron seviyeleri gösterilmiştir. 2008 yılında ise kastrasyona minimal invaziv bir alternatif olarak tanımlanan kimyasal kastrasyon metodu da ise erkek wistar sıçanları kullanılmıştır (6). 250- 300 gr ağırlığındaki sıçanların anestezi intramuskuler ketamin HCL (40 mg/kg) ile yapılmış. Sıçanların bir kısmına cerrahi kastrasyon uygulanırken bir kısmına da intratestiküler %20 hipertonic salin solüsyonu enjekte edilmiş. Hipertonic salin enjeksiyonu (0.5- 1 ml) her iki testise insulin enjektörü ile birçok noktaya uygulanmış ve osmotik imbalansın intraselüler dehidratasyona ve hücre ölümüne sebep olması amaçlanmıştır. Takip eden günlerde genital organlarda herhangi bir deformite izlenmemiş. Sıçanların hiçbirinde enfeksiyon, deri nekrozu, ödem ya da hiperemi gözlenmemiş. Elde edilen kan örneklemeleri 10 dakikalık santrifüj sonrası -20 derecede bekletilmiş, 1 ve 30. gün yapılan serum testosteron ölçümlerine göre orşiektomi ile benzer sonuçlara ulaşılmış, bu veri ileri çalışmalarla da desteklenmiştir (16). Orşiektomi ve hipertonic salin enjeksiyonunun hipotalamohipofizer akstaki hormon gen ekspresyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise sprague-dawley sıçanı (5 ay) kullanılmış (17). 12 saatlik karanlık/aydınlık siklusunda, 22 derece sıcaklıkta bekletilen sıçanların bir kısmına orşiektomi, bir kısmına ise sterilize %20'lik salin solüsyonu her bir testise 750 µL olacak şekilde uygulanmış. Serum testosteron seviyeleri ölçümü için ELISA kiti ile kan örnekleme ve total RNA hesaplanması için doku örneği alınmış. Hem orşiektomi hem de salin enjeksiyonu grubunda serum testosteron seviyelerindeki dramatik düşüşün benzer olduğu gösterilmiştir.

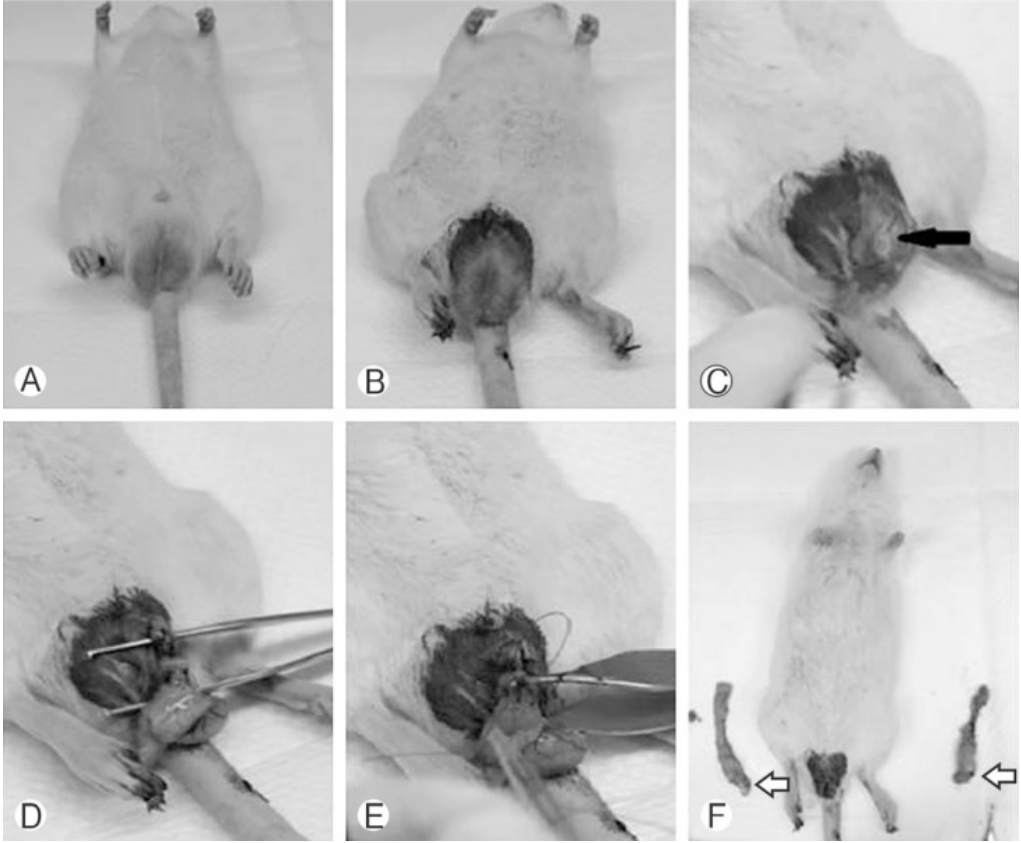
Cerrahi kastrasyon

Erektile disfonksiyon amaçlı cerrahi kastrasyon yapılan fare modellerinin kullanıldığı bir çalış-

mada seksüel açıdan matür erişkin erkek fare kullanılmıştır (vücut ağırlığı 28-32 gr). Anestezisinde, intraperitoneal olarak 40 mg/kg sodyum pentobarbital kullanılmış, orta skrotal insizyon ile bilateral kord yapılarına ulaşılmış ve spermatik kord 3-0 Vicryl ile bağlanarak bilateral orşiektomi yapılarak cerrahi kastrasyon gerçekleştirilmiştir (5). Kastrasyon sonrası seksüel davranışların araştırıldığı başka bir çalışmada erkek wistar sıçanı kullanılmış, 4-5 li gruplar halinde kafeslere yerleştirilmiş ve 24 derecelik odalarda 12 saatlik gece/gündüz siklusunda bekletilmiştir. Sıçanların bir kısmına sodyum pentobarbital (65 mg/kg, 1 ml/kg) ile anestezi altında orta hat skrotal insizyonla orşiektomi yapılmış. Kastrasyon sonrası testosteron seviyesinin saatler içinde düştüğü ancak seksüel davranışların 2-10 hafta devam ettiği gösterilmiştir (18). Orşiektomi sonrası kemik mineral dansitesindeki (KMD) değişiklikleri araştıran bir çalışmada (19), 10 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçanları kullanılmış sıçanların bir kısmına yalnızca cerrahi operasyon bir kısmına ise bilateral orşiektomi yapılmış. Cerrahi prosedür öncesi anestezide intraperitoneal %5 izofluran ve Rompun (2.5 mg/kg) ve zoletil (5 mg/kg) kullanılmış. %2.5 izofluran ve oksijen nasal kanül ile cerrahi prosedür boyunca uygulanmış. Bilateral orşiektomi skrotal yaklaşımla yapılmış. Cerrahi prosedür aşamaları Resim 1'de verilmiştir. Benzer hazırlık yalnızca operasyon grubunda da yapılmış, testis, epididim, vas deferens ve testiküler kan damarları vizüalize edildikten sonra skrotal ve kremasterik kesi tekrar sütürize edilmiş. Cerrahi sonrası 8. Haftada orşiektomi grubunda KMD anlamlı düşük bulunurken, yalnızca cerrahi grubunda preoperatif değerlere göre benzer bulunmuş.

HİPOGONADİZM MODELİ

1970lerin ortasında MRC Harwell Enstitüsü'de mutagenesis programında hipogonadal (hpg) fare üretilmiştir. Bu mutant alel taşıyıcısı homo-



Resim 1. Sıçanlarda orşiektomi prosedürü. Anestezi altındaki sıçanların supin pozisyonda operasyon masasına yatırılması (A). Betadin solüsyonu ile sterilizasyon (B). Skrotumda 1 cm'lik median insizyon (C). 7 mm'lik insizyon ile kremaster kaslarının açılması, künt forseps ile yağ dokularının sıyırılması, testis boyunca kauda epididim takiben de kaput epididim, vas deferens ve testiküler damarların ortaya çıkarılması (D). Vas deferens ve testiküler damarlara tek bir bağlama yerleştirilmesi (E). Testisin çıkarılması, diğer testise aynı işlemin uygulanması ve katların anatomiye uygun kapatılması (F) (19).

zigot hipogonadal fare, bazal ön beyin ve hipotalamusta GnRH üretmediği için infertildir (20). Akabinde mGnRH-I geninin klonlanması (21) ve hpg mutasyonunun analizi ile, GnRH geninin bu tür farelerde translasyonel olarak inaktif olduğu gösterilmiştir (22). İnfertil hpg farelerin sentetik GnRH ya da normal GnRH nöronları içeren vahşi-tip fetal hipotalamik doku grefti ile tedavisinin erkeklerde spermatogenezini indüklediği gösterilmiştir (23-24). Her ne

kadar farklı bir gen (GnRH-II) tarafından kodlanan ikinci bir GnRH formu insanda ve diğer memelilerde bulunmuş olsa da (25), hpg faresinde gözlenen derin hipogonadotropik hipogonadizm, üreme gelişimi ve fonksiyon için gerekli anahtar peptidin m-GnRH-I olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmaktadır. Bu nedenle GnRH-II'nin rolü belirsizdir.

Diğer deneysel hipogonadotropik hipogonadizm formları, testislerin endokrin kontro-

lünü incelemek için kemirgenlerde geliştirilmiştir; mediobasal hipotalamusun nörotoksik lezyonları (26), cerrahi hipofizektomi (27-28), gonadotropinlerin hipofiz salınımını (29) ve GnRH'nin immünolojik blokajını aşağı-regülasyon için GnRH antagonistlerini veya agonistlerini kullanan endokrin / farmakolojik yaklaşımlar (30) örnek olarak gösterilebilir. Mutant Hpg farelerinin kullanımı, bu tür karmaşık müdahalelere olan ihtiyacı ortadan kaldırmaktadır.

Fenotip

Homozigot erkek fareler, mikropenis ve azalmış anogenital mesafe ile kolayca teşhis edilebilir ve genotipleri, üreme kolonilerinin bakımı için özellikle heterozigot erkeklerin ve dişilerin tanımlanmasında özellikle faydalı olan PCR bazlı analiz (31) ile doğrulanabilmektedir.

Üreme gelişimi

GnRH'nin yokluğu erkek hpg farelerini ileri derecede hipogonadotropik yapar, ancak fenotip, dişi dış görünümüne sahip işlevsel androjen reseptörlerine sahip olmayan erkek farelerde olduğu kadar ileri seviyede değildir (32). Hpg testisinde testiküler androjen üretimi ileri derecede düşüktür (33), ama maskulanizasyon açısından yeterlidir. Böylelikle erkek üreme yapıları 'neonatal' seviyedekine benzer olsa da gelişir ve anogenital mesafe dişiye kıyasla erkek görünümüne daha yakındır. Davranışsal maskulanizasyon eksiktir, çünkü yetişkinlerde androjen tedavisi ile uygun bir endokrin ortamın sağlanması normal seksüel davranışı ve sonuçta doğurganlığı tetiklemek için yeterli değildir. Erişkin hpg farelerinde, testis hacmi vahşi tip yetişkinin sadece %2-4'üne ulaşır ve on günlük bir vahşi tip erkeğine benzer, ancak hpg testis hacminin yakın takibi, yaşla birlikte küçük fakat anlamlı bir artış gösterir. Bu sınırlı testis büyümesi, GnRH bağımsız gonadotropin üretimin-

den kaynaklanır, çünkü çok düşük miktarlarda biyoaktif LH ve FSH, hpg farelerin hipofiz bezlerinde tespit edilebilir (20) (34). Bununla birlikte, bu çok sınırlı gonadotropin üretiminin, hpg faresinin beyinde eksprese edildiği gösterilen GnRH-II salınımından kaynaklanması olasılığı vardır (35); bu hipotez deneysel bazda test edilmeyi beklemektedir. Yabani tip farelere kıyasla, hpg testisinin seminifer tübüllerinin küçük bir çapı vardır ve genellikle lümen bulunmadığından seminifer kordon görünümü vardır. Mevcut olan germ hücreleri sadece, spermatogonia ve mayoz safhasındaki birkaç pakiten primer spermatisittir. Testis ağırlığındaki yaşa bağlı kademeli artış, 250 günden büyük hpg fare testisinin lümenli bazı tübüllerinde, küçük dereceli bir seminifer epitel gelişimi gösterir.

Kaynaklar

1. Müller SC, Hsieh JT, Lue TF, Tanagho EA. Castration and Erection. *European Urology* 1988;15:118-24.
2. Mills TM, Wiedmeier VT, Stopper VS. Androgen Maintenance of Erectile Function in the Rat Penis1. *Biology of Reproduction* 1992;46:342-8.
3. Baba K, Yajima M, Carrier S, Akkus E, Reman J, Nunes L, et al. Effect of testosterone on the number of NADPH diaphorase-stained nerve fibers in the rat corpus cavernosum and dorsal nerve. *Urology* 2000;56:533-8.
4. Cooke HJ, Saunders PTK. Mouse models of male infertility. *Nature Reviews Genetics* 2002;3:790-801.
5. Palese MA, Crone JK, Burnett AL. A castrated mouse model of erectile dysfunction. *Journal of Andrology* n.d.;24:699-703.
6. Emir L, Dadalı M, Sunay M, Erol D, Çaydere M, Üstün H. Chemical castration with intratesticular injection of 20%hypertonic saline: A minimally invasive method. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 2008;26:392-6.
7. Neto OA, Gasperin BG, Rovani MT, Ilha GF, Nóbrega JE, Mondadori RG, et al. Intratesticular hypertonic sodium chloride solution treatment as a method of chemical castration in cattle. *Theriogenology* 2014;82:1007-1011.e1.
8. Lin BJT, Chen K-K, Chen M-T, Chang LS. The time for serum testosterone to reach castrate level after bilateral orchiectomy or oral estrogen in the management of metastatic prostatic cancer. *Urology* 1994;43:834-7.

9. LW R. Subcapsular castration for carcinoma of prostate. *J Urol* 1942;48:384–6 1942.
10. Bergman B, Damber JE, Tomić R. Effects of Total and Subcapsular Orchidectomy on Serum Concentrations of Testosterone and Pituitary Hormones in Patients with Carcinoma of the Prostate. *Urologia Internationalis* 1982;37:139–44.
11. Attar RM, Takimoto CH, Gottardis MM. Castration-Resistant Prostate Cancer: Locking Up the Molecular Escape Routes. *Clinical Cancer Research* 2009;15:3251–5.
12. Wiebe JP, Barr KJ. The control of male fertility by 1,2,3-trihydroxypropane (THP;glycerol): rapid arrest of spermatogenesis without altering libido, accessory organs, gonadal steroidogenesis, and serum testosterone, LH and FSH. *Contraception* 1984;29:291–302.
13. Fordyce G, Hodge PB, Beaman NJ, Laing AR, Campeiro C, Shepherd RK. An evaluation of calf castration by intra-testicular injection of a lactic acid solution. *Australian Veterinary Journal* 1989;66:272–6.
14. Jana K, Samanta PK. Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for nonsurgical sterilization in adult albino rats. *Contraception* 2006;73:289–300.
15. Auclair C, Kelly PA, Labrie F, Coy DH, Schally A V. Inhibition of testicular luteinizing hormone receptor level by treatment with a potent luteinizing hormone-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1977;76:855–62.
16. Kwak BK, Lee S-H. Intratesticular injection of hypertonic saline : non-invasive alternative method for animal castration model. *Development & Reproduction* 2013;17:435–40.
17. Kwak BK, Lee S-H. Evaluation of Newly Developed Chemical Castration Method: Changes in Hormone Gene Expression of Hypothalamic-Pituitary Axis. *Development & Reproduction* 2017;21:307–15.
18. Heaton JPW, Varrin SJ. Effects of Castration and Exogenous Testosterone Supplementation in an Animal Model of Penile Erection. *Journal of Urology* 1994;151:797–800.
19. Ryu SJ, Ryu DS, Kim JY, Park JY, Kim KH, Chin DK, et al. Bone Mineral Density Changes after Orchiectomy using a Scrotal Approach in Rats. *Korean Journal of Spine* 2015;12:55.
20. Cattanach BM, Iddon CA, Charlton HM, Chiappa SA, Fink G. Gonadotrophin-releasing hormone deficiency in a mutant mouse with hypogonadism. *Nature* 1977;269:338–40.
21. Adelman JP, Mason AJ, Hayflick JS, Seeburg PH. Isolation of the gene and hypothalamic cDNA for the common precursor of gonadotropin-releasing hormone and prolactin release-inhibiting factor in human and rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1986;83:179–83.
22. Mason A, Hayflick J, Zoeller R, Young W, Phillips H, Nikolics K, et al. A deletion truncating the gonadotropin-releasing hormone gene is responsible for hypogonadism in the hpg mouse. *Science* 1986;234:1366–71.
23. Krieger DT, Perlow MJ, Gibson MJ, Davies TF, Zimmerman EA, Ferin M, et al. Brain grafts reverse hypogonadism of gonadotropin releasing hormone deficiency. *Nature* 1982;298:468–71.
24. Silverman AJ, Zimmerman EA, Gibson MJ, Perlow MJ, Charlton HM, Kokoris GJ, et al. Implantation of normal fetal preoptic area into hypogonadal mutant mice: temporal relationships of the growth of gonadotropin-releasing hormone neurons and the development of the pituitary/testicular axis. *Neuroscience* 1985;16:69–84.
25. Fernald RD, White RB. Gonadotropin-Releasing Hormone Genes: Phylogeny, Structure, and Functions. *Frontiers in Neuroendocrinology* 1999;20:224–40.
26. Lamperti A, Blaha G. Further Observations on the Effects of Neonatally Administered Monosodium Glutamate on the Reproductive Axis of Hamsters. *Biology of Reproduction* 1980;22:687–93.
27. Bartlett JMS, Weinbauer GF, Nieschlag E. Differential effects of FSH and testosterone on the maintenance of spermatogenesis in the adult hypophysectomized rat. *Journal of Endocrinology* 1989;121:49–NP.
28. Kerr JB, Maddocks S, Sharpe RM. Testosterone and FSH have independent, synergistic and stage-dependent effects upon spermatogenesis in the rat testis. *Cell and Tissue Research* 1992;268:179–89.
29. Ganguly A, Misro MM, Das RP. Roles of FSH and Testosterone in the Initiation of Spermatogenesis in Prepubertal Rats Medically Hypophysectomized by a GnRH Antagonist. *Archives of Andrology* 1994;32:111–20.
30. Awoniyi CA, Kim WK, Hurst BS, Schlaff WD. Immunoneutralization of gonadotropin-releasing hormone and subsequent treatment with testosterone Silastic implants in rats: an approach toward developing a male contraceptive. *Fertility and Sterility* 1992;58:403–8.
31. Lang J. Assay for deletion in GnRH (hpg) locus using PCR. *Mouse Genome* 1991;89, 857.
32. De Gendt K, Swinnen J V., Saunders PTK, Schoonjans L, Dewerchin M, Devos A, et al. A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2004;101:1327–32.
33. Scott IS, Charlton HM, Cox BS, Grocock CA, Sheffield JW, O'Shaughnessy PJ. Effect of LH injections on testicular steroidogenesis, cholesterol side-chain cleavage P450 mRNA content and Leydig cell mor-

hology in hypogonadal mice. *Journal of Endocrinology* 1990;125:131–NP.

34. Charlton HM, Halpin DMG, Iddon C, Rosie R, Levy G, McDowell IFW, et al. The Effects of Daily Administration of Single and Multiple Injections of Gonadotropin-Releasing Hormone on Pituitary and Gonadal

Function in the Hypogonadal (hpg) Mouse*. *Endocrinology* 1983;113:535–44.

35. Chen A, Yahalom D, Ben-Aroya N, Kaganovsky E, Okon E, Koch Y. A second isoform of gonadotropin-releasing hormone is present in the brain of human and rodents. *FEBS Letters* 1998;435:199–203.

Klitoral Yetmezlik ve Klitoris Uyarılması

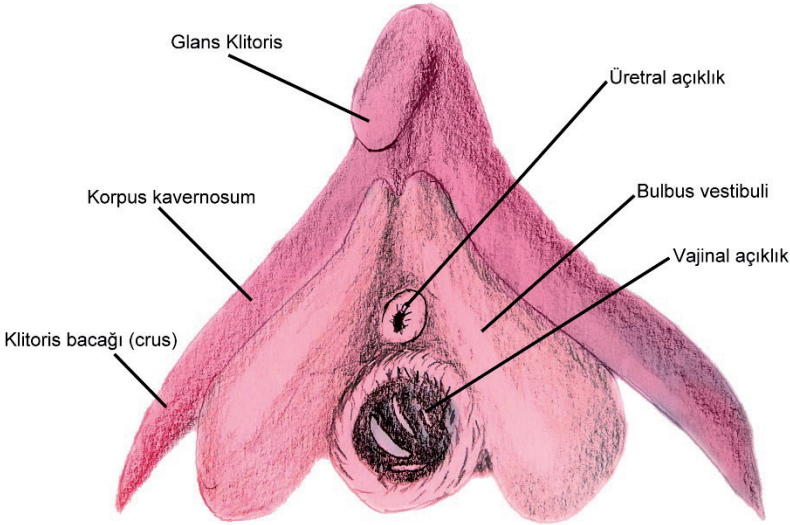
22

Özgür EFİLOĞLU, Bülent EROL

İnsanlar üzerinde yapılacak klinik çalışmalar bazı etik kaygılar ya da yeterli ön klinik araştırma olmaması nedeniyle çoğu zaman yapılamamaktadır. Kuşkusuz, hayvan modelleri, geçtiğimiz yıllar içinde cinsel davranışların nöroanatomik ve nörokimyasal mekanizmalarını açıklamaya ve her iki cinsiyetteki belirli cinsel işlev bozuklukları için farmakolojik tedavilerin tasarlanmasına yardımcı olmuştur.

Klitoris Anatomisi

Klitoris erkeğin glans ve korpora kavernozaşının homoloğudur. Klitoris bir dış organdır ve çoğu deri altında bulunan üç erektil dokudan (glans, gövde ve kruslar) oluşur (şekil 1). Organın serbest kısmında, labia minora tarafından oluşturulan prepusun içinde yer alan gövde ve glans kısımları vardır. Eretil doku, büyük sinir gövdeleri ile çevrili ince bir fibröz kapsülle



Şekil 1. İnsan klitoris bölümleri

çevrenmiş trabeküler düz kas ve kolajen bağ dokusundan oluşur. Klitoris kanlanması iliohipogastrik pudental arteriyel yatak tarafından sağlanır.

Klitoris, ürogenital diyaframın altında, pubik simpizisin önünde ve anterior perineal bölgede lokalizedir. Klitorisin krusları, ischiokavernosus kasları ile kaplanmış olan iskiopubik ramus ile temas halindedir ancak anterior vajinal duvarla temas etmezler.

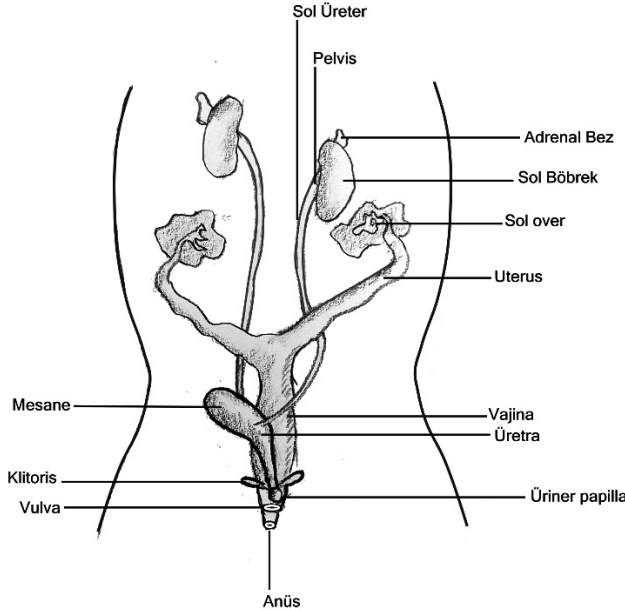
Yetişkin dişi farelerin perine bölgesindeki yüzey yüksekliği klitoris değil, prepusu temsil eder. Klitoris, çoğunlukla U şeklinde epitelyal lamina olarak derin perineye yerleşmiştir. Yetişkin fare klitorisi ventral stromaya bağlanır ve bu nedenle hareketsizdir. Penisden farklı olarak, yetişkin fare klitorisi kıkırdak veya epitelyal dikenler içermez ve epitelyum kaplı bir alanda bulunmaz. Benzer şekilde, üretra tamamen veya kısmen klitorisin dışında yer alır (şekil 2). Klitoral bezler, anterolateral olarak subkutan

bağ doku içerisine gömülüdür, kanalları klitoral fossanın lateral duvarına açılır.

Klitoris Uyarılması

Klitorisin özel bir işlevi vardır ve bu görev cinsel zevkin alınmasıdır. Cinsel uyarılma sırasında, klitoriste ereksiyon ve boyutunda artış (özellikle çapında) olmaktadır. Plato safhasında, uyarılma ve orgazm sırasında baş kısmında ön sütün içine geri çekildiği görülür.

Orgazm elde etmek için çeşitli nongenital yöntemler vardır, ancak cinsel hazzın birincil kaynağı beynin genital stimülasyona cevabıdır. Dış ve iç genital bölgelerden duyu lifleri dört ana sinirden (bir somatosensör; pudental ve üç otonomik; hipogastrik, pelvik, vagal) farklı seviyelerden merkezi sinir sistemine girerler. Kadında klitoris uyarılmasına bağlı oluşan algı genital organlara bağlı cinsel zevk alınmasında ilk ve en önemli sırayı alır. Klitoral stimülasyon, kadınların orgazma ulaşması için en kolay yoldur.



Şekil 2. Dişi fare ürogenital sistemi

Her ne kadar kadın cinsel yanıtı üzerine çalışmalar ağırlıklı olarak insanlarda vajinal kan akışı ve sıçanlarda vajinoservikal uyarım üzerine olsa da hem insanlarda hem de farelerde kadın cinsel işlevi ve davranışı için klitorisin önemine giderek daha fazla vurgu yapılmaktadır. Klitorisi beş saniye aralıklarla kayganlaştırıcı sürülmüş bir fırça ile okşayarak, insanlarda klitoral uyarımdan kaynaklanan orgazm gibi, cinsel ilişkiye girmemiş dişi sıçanlarda benzer sonuçlar alınmıştır. Beş saniye aralıklarla sıçanlara verilen klitoral uyarı, medyal preoptik alanda belirgin bir Fos ekspresyonu paternine neden olmaktadır ve koşullandırılmış yer tercihini de uyarmaktadır. Daha öncesinde cinsel deneyim yaşamış ve yaşamamış ooferektomize ve hormon tedavisi almış dişi sıçanların karşılaştırıldığı bir çalışmada ise önceki cinsel deneyimin, koşullandırılmış yer tercihini baskıladığı bildirilmiştir. Önceki cinsel birleşme deneyiminin genitosensöryal devrenin duyarsızlaşmasına neden olabileceği düşünülmüştür.

Başka bir çalışmada klitorise vibratöre bağlı pamuklu çubuk ucu ile bir ve beş saniyelik bir dakika süren uyarım, beş döngü şeklinde 1-2 dakikalık aralarla uygulanmıştır. Bu çalışmada gruplar arasında cinsel davranışta fark saptanmamış ancak stimülasyonun paterni ve ritmine bağlı olarak doğurganlığı etkilediğini göstermiştir.

Sıçanlarda ve tavşanlarda genital uyarılma deneysel modellerinde, pelvik sinirin elektriksel uyarılmasının, normal cinsel uyarıma yanıt olarak dişilerden alınan stimülasyon tipini taklit ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmalar vajinal kan akımında, basınç ve boyda, klitoral intrakavernozal basınçta ve kan akışında artış olduğunu göstermiştir.

Klitoral Yetmezlik

Kadınlarda seksüel disfonksiyonun vasküler, nörojenik, hormonal ve psikojenik nedenleri

mevcuttur. Omurilik yaralanması ve diyabet gibi merkezi veya periferik sinir sistemini etkileyen hastalıklar nörojenik seksüel işlev bozukluğuna yol açabilir. Sakral spinal segmentleri etkileyen tüm üst motor nöron yaralanmalarında psikojenik vajinal ıslaklık elde edilememektedir. Ancak parsiyel yaralanmalarda vaginal ıslanma korunmaktadır. Hipotalamik / hipofizer aksın disfonksiyonu, cerrahi veya medikal kastasyon, menopoz, prematür over yetmezliği ve kronik doğum kontrol hapı kullanımı, hormonal temelli kadın seksüel işlev bozukluğunun en yaygın nedenleridir. Ayrıca insan kadavraları ile yapılan bir çalışmada yaş artışı ile klitoral kavernozaal düz kas liflerinin azalması arasında güçlü bir bağlantı olduğu ortaya konmuştur.

Klitoral vasküler yetmezlik sendromu öncelikle iliohipogastrik / pudental arteriyel yatağın aterosklerozuna bağlıdır. Aortoilyak veya aterosklerotik hastalığa bağlı azalmış pelvik kan akımı, vajinal duvar ve klitoral düz kas fibrozisine yol açar. Örneğin, pelvik kırıklar, künt travma, cerrahi yaralanma veya kronik perineal basınç nedeniyle iliohipogastrik pudental arteriyel yatakta oluşan bir travmatik yaralanma, vajinal ve klitoral kan akışının azalmasına ve cinsel işlev bozukluğuna neden olabilir. Literatürde klitoral yetmezlik oluşturmak için çeşitli modeller oluşturulmuştur.

Ooferektominin sıçanlarda ve tavşanlarda, klitoral kavernozaal fibrozisin artmasına, klitoral erektil dokunun gevşeyici tepkilerinin azalmasına ve klitoral arteriyel yetersizliğe neden olduğu gösterilmiştir.

İn vivo olarak, diyabetik sıçanlarda pelvik sinir uyarımına cevap olarak vajinal kan akımı ve diyabetik tavşanlarda ortalama bazal flask ve pik klitoral kavernozaal kan akımları kontrol gruplarına göre anlamlı derecede azalmıştır. Benzer şekilde, insülin ile tedavi edilen diyabetli premenopozal kadınlarda kontrollere göre daha düşük bazal klitoral kan akışı gösterdiği gösterilmiştir.

Aorto-iliak arterlerin balon yaralanmasını ve %0,5 kolesterol diyetini birleştiren bir tavşan modelinde, pelvik sinir uyarımına yanıt olarak vajinal ve klitoral hemodinamik yetersizlik tanımlanmıştır. Histolojik incelemede pelvik ve klitoral arterlerde aterosklerotik değişiklikler, düz kas içeriğinde azalma ve yaygın fibrozis izlenmiştir.

Diyabetik, aterosklerotik, hipertansif, ileri yaş, spinal kord travması gibi klitoriste hem vasküler hemde nörojenik hasar yapan yetmezlik modelleri ve bu modellerde uygulanan tedaviler sayesinde kadında klitoral yetmezlik patofizyolojisinin aydınlanması ve cinsel fonksiyon bozukluğu tedavi seçeneklerinin belirlenmesine katkı sağlanacaktır.

Kaynaklar

1. Costantini E, VD, Filocamo M. T. Female Sexual Function and Dysfunction. Springer International Publishing; 2017.
2. Puppo V. Anatomy of the Clitoris: Revision and Clarifications about the Anatomical Terms for the Clitoris Proposed (without Scientific Bases) by Helen O'Connell, Emmanuele Jannini, and Odile Buisson. ISRN obstetrics and gynecology. 2011;2011:261464.
3. Yang JH, Menshenina J, Cunha GR, Place N, Baskin LS. Morphology of mouse external genitalia: implications for a role of estrogen in sexual dimorphism of the mouse genital tubercle. The Journal of urology. 2010;184(4 Suppl):1604-1609.
4. Puppo V. Anatomy and physiology of the clitoris, vestibular bulbs, and labia minora with a review of the female orgasm and the prevention of female sexual dysfunction. Clinical anatomy (New York, NY). 2013;26(1):134-152.
5. Georgiadis JR, Kringelbach ML, Pfaus JG. Sex for fun: a synthesis of human and animal neurobiology. Nature reviews Urology. 2012;9(9):486-498.
6. Parada M, Abdul-Ahad F, Censi S, Sparks L, Pfaus JG. Context alters the ability of clitoral stimulation to induce a sexually-conditioned partner preference in the rat. Hormones and behavior. 2011;59(4):520-527.
7. Parada M, Chamas L, Censi S, Coria-Avila G, Pfaus JG. Clitoral stimulation induces conditioned place preference and Fos activation in the rat. Hormones and behavior. 2010;57(2):112-118.
8. Parada M, Jafari N, Pfaus JG. Sexual experience blocks the ability of clitoral stimulation to induce a conditioned place preference in the rat. Physiology & behavior. 2013;119:97-102.
9. Cibrian-Llenderal T, Tecamachaltzi-Silvaran M, Triana-Del Rio R, Pfaus JG, Manzo J, Coria-Avila GA. Clitoral stimulation modulates appetitive sexual behavior and facilitates reproduction in rats. Physiology & behavior. 2010;100(2):148-153.
10. Min K, Munarriz R, Kim NN, et al. Effects of ovariectomy and estrogen replacement on basal and pelvic nerve stimulated vaginal lubrication in an animal model. Journal of sex & marital therapy. 2003;29 Suppl 1:77-84.
11. Tarcan T, Park K, Goldstein I, et al. Histomorphometric analysis of age-related structural changes in human clitoral cavernosal tissue. The Journal of urology. 1999;161(3):940-944.
12. Berman JR, Berman L, Goldstein I. Female sexual dysfunction: incidence, pathophysiology, evaluation, and treatment options. Urology. 1999;54(3):385-391.
13. Park K, Ahn K, Lee S, Ryu S, Park Y, Azadzi KM. Decreased circulating levels of estrogen alter vaginal and clitoral blood flow and structure in the rabbit. International journal of impotence research. 2001;13(2):116-124.
14. Park K, Ahn K, Chang JS, Lee SE, Ryu SB, Park YI. Diabetes induced alteration of clitoral hemodynamics and structure in the rabbit. The Journal of urology. 2002;168(3):1269-1272.
15. Kim NN, Stankovic M, Cushman TT, Goldstein I, Munarriz R, Traish AM. Streptozotocin-induced diabetes in the rat is associated with changes in vaginal hemodynamics, morphology and biochemical markers. BMC physiology. 2006;6:4.
16. Caruso S, Rugolo S, Mirabella D, Intelisano G, Di Mari L, Cianci A. Changes in clitoral blood flow in premenopausal women affected by type 1 diabetes after single 100-mg administration of sildenafil. Urology. 2006;68(1):161-165.
17. Park K, Tarcan T, Goldstein I, Siroky MB, Krane RJ, Azadzi KM. Atherosclerosis-induced chronic arterial insufficiency causes clitoral cavernosal fibrosis in the rabbit. International journal of impotence research. 2000;12(2):111-116.

KISIM 4

İŞLEVSEL ÜROLOJİDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Fatih TARHAN

Aşırı Aktif Mesane

23

Ramazan UĞUR, Fatih AKKAŞ, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

GİRİŞ

Aşırı aktif mesane (AAM), idrar aciliyeti semptomunun varlığına dayanan bir klinik tanıdır. Belirleyici semptomun subjektif doğası nedeniyle semptomun varlığını veya bir hayvanda varlığını tespit etmek mümkün değildir. Görünüşte, daha fazla objektif, detrusor aşırı aktivitesi (DAA) kavramı, dolum fazı sırasında fazık mesane kasılmalarının ürodinamik olarak gözlemlenmesidir. Bununla birlikte, bu tür kasılmaların birçok hayvan türünde normal olduğu bilinmektedir.

Uluslararası Kontinans Derneği'nin (ICS: International Continence Society) tanımına göre aşırı aktif mesane (AAM), altta yatan herhangi bir organik patoloji veya üriner enfeksiyon olmadan sıkışma tipi üriner inkontinans ile birlikte olan ya da olmayan, sıkışma hissi, sık idrara gitme ve noktürinin eşlik ettiği, rahatsız edici semptomlar kompleksidir.

DAA, sistometrinin dolum aşamasında istemsiz kasılmalar ile karakterize olan ürodinamik bir gözlemdir ve bunlar kendiliğinden veya provakasyonla olabilir. AAM hastaları tarafından tanımlanan aciliyet semptomları sıklıkla

sistometri üzerinde görülen DAA ile ilişkili olsa da, iki terimin birbirleriyle eş anlamlı olmadığını belirtmek gerekmektedir. 2006 yılında yayınlanan bir retrospektif çalışma, ICS tanımını kullanan AAM tanısı alan hastaların sadece %64'ünün ürodinamik incelemede kanıtlanmış olduğunu göstermiştir.

Aşırı Aktif Mesanenin Patofizyolojisi

AAM'nin patofizyolojisi ile ilgili mekanizmalar karmaşıktır ve hem periferik hem de merkezi sinir sistemini içerir. AAM'nin patogenezinde yapılan araştırmalar, semptom temelli bir tanı olması nedeniyle sınırlı kalmaktadır ve sonuç olarak, bu alandaki çalışmalar, afferent sinyal iletim anormalliklerine ve DAA'nın altındaki mekanizmalara odaklanmıştır. Afferent dönüş ve sinyal işlemedeki değişikliklerin acil idrar yapma hissinin temeli olduğu varsayılmaktadır.

Normal işeme regülasyonu karmaşıktır ve hem spinal hem de supraspinal kontrol mekanizmalarını içerir. Mesane kapasitesini ve idrarın mesaneden üretraya iletilmesini kontrol edip düzenleyen pontin işeme merkezi alt üriner sistem fonksiyonunun temel belirleyici-

sidir. Bu iki faz arasındaki geçişe neden olan ana faktör, mesaneden kaynaklanan afferent aktivitenin seviyesidir. Mesane içindeki duysal bilgileri merkezi sinir sistemine ileten afferent sinirler en az iki ana popülasyondan oluşur. Miyelinli A Delta lifler mekanik olarak duyarlıdır ve mesane doluluğu hissinden sorumludur. Hem düşük (non-nosiseptif) hem de yüksek (nosiseptif) intravezikal basınçlarla aktive olurlar. Miyelinsiz C-lifleri ikinci tipte bir afferenttir ve mesane mukozasının soğuk, ısı veya irritasyonu ile aktive edilir. C-lifleri öncelikle nosiseptif fonksiyonlara sahiptir ve genellikle mesane distansiyonuna cevap vermezler, ancak patolojik koşullar altında bunu yapabilirler. Herhangi bir derecedeki mesane distansiyonu için afferent aktivitesi seviyeleri uygun olmadığında DAA ve AAM ortaya çıkabilmektedir.

DAA'nın patofizyolojik temelini açıklamak için üç ana hipotez önerilmiştir; nörojenik, miyojenik ve periferik otonomi (integratif). Nörojenik teoride, temel problem merkezi sinir sisteminde yer alırken, son iki hipotez periferik odaklanmaktadır. Nörojenik hipotezde, DAA'nın, detrusor kasının genelleştirilmiş, sinir aracılı uyarımına yol açan, merkezi sinir sistemi içindeki nöronal plastisitenin neden olduğu savunulmaktadır. Buna, daha yüksek beyin merkezlerinden kaynaklanan efferent inhibe edici yolaklardaki hasar, ilkel spinal mesane reflekslerinin uygun olmayan ifade veya afferent terminallerin hassaslaşması neden olmaktadır.

Miyojenik hipotezde; mesane düz kaslarındaki değişimlerin, eksitabilite ve kas hücreleri arasında gelişmiş elektriksel bağlantı ile kendiliğinden kasılma olasılığına yol açtığını savunulmaktadır.

Integratif hipotez, mesanenin üzerindeki inhibisyonun ortadan kalkması sonrası yaşanan kompleks otonomik aktivitenin gözlemlenmesine dayanır. Bunun sonucunda, çeşitli hayvan modellerinde lokalize kasılmalar ve

mikro-hareketler gösterilmiştir. Bu bulgular, detrusor kasının motilitesinin bağırsak motilitesini kontrol eden miyenterik pleksuslara benzeyen modüler yapıda bir miyovezikal plexus tarafından belirlendiğini ileri sürmüştür. Mesane dolumu sırasında lokal modüler aktivite normal duysal yanıt oluştururken, abartılı yanıtlar idrar aciliyetine neden olabilir. Buna bağlı olarak, mikromotion aktivitesinde artmış bir sıklık, semptomatik kadınlarda bildirilen aciliyet hissi ile ilişkilendirilmiştir. Hipotez, münferit modüllerdeki aktivitenin intravezikal basınç üzerinde çok az etkiye sahip olmasına rağmen, miyovezikal plexustan modüler aktivitenin artırılmış koordinasyonunun, mesane duvarının daha büyük bir oranının, DAA ortaya çıkmasıyla sonuçlanabileceğini düşündürmektedir. İntegratif hipotez, kaslara ek olarak diğer hücre tiplerinin (interstisyel hücreler, ürotelyum ve periferik sinirler) normal lokalize spontan aktiviteye ve dolayısıyla doldurma durumunun düşük basınç algısına katkıda bulunduğunu ileri sürer. Semptomatik kişilerde lokalize mikromotionlar abartılıdır, idrar aciliyetine neden olur ve aynı hücre tipleri de DAA'da da görülen spontan aktivitenin daha geniş bir şekilde yayılmasına yol açar.

AAM ve DAA'nın altında yatan mekanizmalar hala tam olarak anlaşılabilmemiştir. AAM'nin patogenezi multifaktöryeldir. Farklı bireyler için farklılık gösteren ve herhangi bir kişide zaman içinde değişiklik gösterir. Normal mesane fonksiyonu, nöral, miyojenik ve diğer hücre tiplerinin karmaşık etkileşimlerine bağlıdır ve bunlardan herhangi birinin bozulması, kontrol hiyerarşisinde herhangi bir yerde telafi edilmediği takdirde, alt üriner sistem disfonksiyonuna yol açabilir. Dolayısıyla, mesane fonksiyonu ve kontrolüne giderek artan karmaşık hipotez anlayışlarının ortaya çıkması şaşırtıcı değildir. Sonuç olarak, hayvan modelleri teorilerin geçerliliklerini incelemek kullanılan vazgeçilemez bir araçtır.

Aşırı Aktif Mesanenin Yönetimi

AAM bu alanda özelleşmiş uzman bir merkezde yönetilmelidir. Yaşam tarzı tavsiyeleri, davranışsal eğitim, farmakolojik ve cerrahi müdahaleler tedavi seçenekleri arasında yer alır. Konservatif ve cerrahi müdahaleler arasında çeşitli tedaviler geliştirilmiş ve benimsenmiştir. Bunlar arasında intravezikal botulinum toksin enjeksiyonu, tibial sinir uyarımı ve sakral nöromodülasyon bulunur. Refrakter semptomları olan hastalar için alternatifler rekonstrüktif cerrahiler olan augmentasyon sistoplasti ya da üriner diversiyondur. Mevcut geniş çapta tedaviye rağmen, AAM hastalarının önemli bir oranı semptomları ile sorunlu olmaya devam etmektedir ve bu nedenle daha geniş bir yelpazede daha etkili tedaviler gerekmektedir.

Hayvan Modellerinin Önemi

Alt üriner sistem işlevinin anlaşılması, insan çalışmaları ve insan materyalini kullanan araştırmalardaki yasal, etik ve ahlaki kısıtlamalar nedeniyle doğal olarak sınırlı olduğundan eksik kalmaktadır. Mesane fonksiyonu hakkındaki bilginin çoğu, kas liflerini kullanmak gibi in vitro araştırmalardan gelmiştir, ancak bu tip deneylerden elde edilen bulgularla, tüm mesane fonksiyonunu tahmin etmek zordur.

Geçtiğimiz yüzyılda, insanlarda mesane işlevine bakan deneysel çalışma, istekli hastalar ve gönüllüler üzerinde in vivo sistometrik araştırmaları ve ayrıca biyopsi materyalini kullanan moleküler ve hücresele araştırmaları içermektedir.

Hipotezler tipik olarak türetilmiş tahminleri test etmek için hayvan modellerine ihtiyaç duyarlar. Hayvan modellemesi bu nedenle klinik bağlamda önemli bir bağlantı sağlar ve bunun temel ve klinik araştırmalardaki kullanımı, insanlarda güvenli ve etik açıdan sağlam araştırma yapmada gerekli bir öncüdür. Hayvan

modelleri, basit in vitro araştırmalardan elde edilen sonuçların, doğrudan insan deneyleri olmaksızın "intakt" biyolojik sistemlerde test edilebildiği yoldur. Bu önemlidir, çünkü yapay in vitro koşullar altında elde edilen bulgular in vivo uygulanamaz ve bir hücre tipi kullanılarak üretilen sonuçlar diğer hücre dizileri için geçerli olmayabilir.

Hayvan modelleri, üretecekleri bilgi türüne bağlı olarak, açıklayıcı, açıklayıcı veya tahmin edici olarak sınıflandırılabilir. Keşif modelleri biyolojik fonksiyon hakkında yeni fikirler ve teoriler oluşturmak için fizyolojik süreçleri ve eylemin patolojik mekanizmalarını incelemek için kullanılır. Bu hipotezler daha sonra, incelenen hastalık veya fizyolojik süreçle ilgili olduklarından emin olmak için insan çalışmalarına geçmeden önce bulguları diğer modellerde kopyalayarak doğrulamak gerektirmektedir. Açıklayıcı modeller diğer araştırmalar sonucunda ortaya çıkan bulguların önemini ve ilgisini anlamamızı geliştirmek amacıyla geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu modellerin kullanıldığı çalışmaların amacı, biyolojik bir süreç için bir açıklama sağlamaktır. Tahmin edici modeller ise, yeni tedavilerin ve terapötik ajanların etkisini keşfetmek ve ölçmek, bunların canlı organizmalar için toksisitelerini değerlendirmek için kullanılmaktadır.

Çoğu araştırmada kullanılan hayvan modelleri, insan hastalıkları için etiyoloji, patogeneze, doğal tarih ve potansiyel tedavileri incelemek üzere geliştirilmiştir. Elde ettikleri bulgular tıbbi ilerlemeler ve anlayışa yol açabilir, ancak elde edilen bilgiler modelin sınırları dahilinde yorumlanmalıdır. Gereken doğrulama, modelin bir hastalığı veya durumu ne kadar yeniden ürettiğine bağlı olacaktır. Homolog modelde deney hayvanı insan durumunun semptomlarını, etiyolojisini ve doğal tarihini yansıtır. İzomorfik modeller insan fenotipine benzer, ancak hayvandaki altta yatan mekanizma klinik

ortamdan farklıdır. Mevcut kullanımdaki çoğu model, ne homolog ne de izomorfiktir, çünkü modelledikleri insan durumunu taklit etmediklerinden, ancak bir hastalığın veya tedavilerinin yönlerini incelemek için kullanımlarına izin verecek kadar benzerlikler taşıdıklarından kısmidirler. Kullanılan modelin türüne bakılmaksızın, hem modelin kendisinin hem de ürettiği sonuçların dikkatli bir şekilde doğrulanması, herhangi bir bulgunun hayvandan insana doğru bir şekilde açıklanmasını sağlar. Ayrıca herhangi bir hayvan modelinden elde edilen bulgulara tamamen gerçekmiş gibi çok fazla ağırlık verilmemelidir.

Hayvan Modellerini Kullanan Çalışmaların Sonuçlarını Yorumlamak Zorluklar

Hayvan modellerinin, hastalardaki yeni terapötik ajanların etkisini tahmin etmede sık sık başarısız olduğu gerçeği, hayvanlardan insanlara veri aktarımına neden olur. İdeal olarak, hayvan modelleri insan durumunun tüm yönlerini yeniden üretmelidir, ancak herhangi bir hayvan modelinin bir hastalık veya durumun meydana gelen fizyolojik ve patolojik değişiklikler de dahil olmak üzere tüm belirtilerini, semptomlarını, mekanizmalarını ve sonuçlarını çoğaltacağı düşünülemez.

Modellemeyi, insan durumunu tam olarak kopyalamak için bir girişim olarak görmek yerine, her biri belirli bir deneysel hipotezi cevaplamak için uyarlanmış belirli modeller olarak görmek daha üretken bir yaklaşımdır.

Memeli mesanesinin temel fizyolojik fonksiyonlarının idrar depolaması ve uygun zamanlarda işeme olduğu göz önüne alındığında, bu işlevi düzenleyen genel ilkelerin farklı türler arasında benzer olması gerektiğini varsaymak mantıksız değildir. Bununla birlikte, normal üriner sistem yapısında farklı hayvan türleri ve insanlar arasındaki işlevlerde bir dizi önem-

li farklılığın olduğunun bilinmesi önemlidir. Bunlar, fizyolojik ve patolojik bulguları insanlara aktarmadan önce dikkate alınmalı. İnsan mesanesindeki sinir aracılı kasılmaların hemen hemen tamamı kolinerjik bir mekanizmaya aracılık etse de, normal insan mesane düz kas hücreleri fonksiyonel adenosin trifosfat (ATP, purinerjik) reseptörlerini eksprese eder, ve bazı non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) uyarıcı iletimin bazı patolojik koşullarda ortaya çıktığı görülmektedir.

Bir başka önemli fark ise parasempatik sistemin düzenlenmesidir. Örneğin hayvan çalışmaları için yaygın olarak kullanılan sıçanlarda mesaneyi innerve eden postganglionik parasempatik hücre gövdelerinin tamamen pelvik ganglionlarda bulunduğu, bu hücrelerin önemli bir kısmının insanlarda ve diğer hayvan türlerinde mesane duvarında yer aldığına dikkat edilmelidir.

Asetilkolin, detrusor kasındaki muskarinik reseptörler üzerindeki etkisi ile mesanenin boşalmasını etkileyen birincil nörotransmitterdir. Muskarinik reseptörler, moleküler ve farmakolojik kriterler temelinde beş alt tipe (M1 – M5) göre sınıflandırılır ve detrusor kasında bu reseptör alt tipleri heterojen bir dağılım sergiler. Muskarinik reseptörler, interstisyel hücreler ve ürotelyum da dahil olmak üzere mesanedeki diğer hücre tiplerinde de mevcuttur. Çalışmalar, M2 ve M3 reseptörlerinin kombine yoğunluğunun, incelenen her bir türdeki (fare, tavşan, gine domuzu ve insan) muskarinik reseptörlerin toplam yoğunluğuna çok yakın olduğunu ve M2 reseptör ekspresyonunun baskın olduğunu göstermiştir. İmmüno-assay verileri, M3 reseptör alt tipi yoğunluğunun sıçanlarda %8'den insanlarda %32'ye değiştiğini ve muskarinik M2 ve M3 reseptör alt tiplerinin oranının çeşitli türler için farklı olduğunu göstermektedir. M2-M3 reseptör oranı, insan, tavşan ve gine domuzunda 3:1 sıçan mesanesinde 9: 1 olarak bildirilmiştir.

Primatlar, insan modellenmesi için ideal olarak uygundur, ancak genetik olarak değiştirilmiş varlıklar üretmek, zorluklarla doludur. Bazı insan dışı primatların genomları tamamen çıkarılmış olsa, knock-out ve knock-in amacıyla belirli genlerin manipüle edilmesi mevcut gen transferi yöntemlerinin düşük verimlilik ve zayıf güvenilirliği nedeniyle kısıtlanmıştır. Diğer taraftan fareler, insanlardan daha farklı olmakla birlikte, transgenik ve knock-out çalışmaları için ideal olarak uygundur. Çünkü fareler göreceli olarak daha kolay genetik olarak manipüle edilebilir ve daha kısa bir üretim süresine sahiptirler.

Yukarıda tartışılan yapısal ve fonksiyonel farklılıklar alt üriner sistemde araştırmayla ilgili olan, aralarındaki farklılıkların birkaç örneğidir. Hayvan modellerini kullanırken, genel prensipleri oluşturan deneysel bulguları ayırt etmek ve incelenen hayvana özel olanların diğer türlere uygulanabilir olması için bu yönlerin dikkate alınması önemlidir. Tür farklılıklarını göz önünde bulundurmama, sadece çeşitliliğin mekanizmalarını daha iyi anlama fırsatını kaçırmakla kalmaz, aynı zamanda araştırmacıların yetersiz şekilde kurulmuş olan önermeler yapmasına da neden olabilir.

Keşişen noktalar değişkenliği göz önüne alındığında, kullanımdaki çeşitli hayvan modelleri, farklı hastalık ve yönleri incelemek için farklı güçlü ve zayıf yönlere sahiptir. Hayvan çalışmaları, hiyerarşik olarak görülebilir; çünkü kemirgenler ve küçük laboratuvar hayvanları kullanan çalışmalar, daha büyük hayvanlar ve primatlar kullanılarak yapılan çalışmalardan daha basit, uygulanabilir ve sürdürülebilir. Küçük memelilerle yapılan araştırmalar, bu hayvanların daha kısa ömürlerinden dolayı daha ucuz, daha erişilebilir ve daha az zaman alıcıdır, ancak "basit" türlerden elde edilen bulguları daha "karmaşık" olanlara çevirmeye çalışırken dikkatli olunmalıdır.

Kullanılan hayvan türünden ve modelinden bağımsız olarak, deneysel bir bulgu veya değişikliğin çalışılan fizyolojik veya patolojik süreçle ilgili olup olmadığına karar vermek hayati önem taşımaktadır. Bütün organizmalar, nöronal plastisite ve hücrel adaptasyonlar yoluyla patolojik zorluklarla başa çıkmaya çalışırlar ve değişime adapte olurlar. Bu nedenle deneysel bulgular, etiyolojik veya patofizyolojik olmaktan ziyade telafi edici değişiklikler veya kolateral etkiler olabilir. Aynı zamanda görülen değişimler, altta yatan patolojik sürece tamamen ilgisiz olan ve tesadüfen meydana gelen epifenomenler olabilir. İnsanlara herhangi bir çalışma sonucunun uygulanabilirliğini sağlamak için bulguların dikkatli bir şekilde doğrulanması gerekir.

Hayvan modellemesi ile ilgili zorluklara ve bu çalışmaların elde ettiği bulguların dikkatli bir şekilde doğrulanmasına ihtiyaç duyulmasına rağmen, bunların karmaşık biyolojik sistemlerde tıbbi müdahaleleri değerlendirmek için araç olarak kullanılmasının bir alternatifi yoktur. Herhangi bir bulgu, ideal olarak, verileri tahmin etmeden ve insan deneklerini kullanarak araştırma yapmayı düşünmeden önce birden fazla memeli türünde yeniden denenmelidir.

AAM'nin Hayvan Modellerini Geliştirilmesindeki Zorluk

Aşırı aktif mesanenin patofizyolojisini araştırmak amacıyla çeşitli türlerde çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. AAM semptom esaslı bir tanı olduğundan bir hayvanın aciliyet yaşayıp yaşamadığını öğrenmenin kesin bir yolu yoktur. Hayvanlar semptomlarını araştırmacılarla paylaşmadığından, teknik olarak bir AAM hayvan modeli oluşturmak mümkün değildir.

Hayvanların acil idrar yapma ifadesini bilemediğimizden çoğu deneysel model DAA'ya odaklanmıştır, çünkü bu objektif olarak sisto-

metride ölçülebilir. Ancak DAA'nın AAM için patognomonik olmadığı unutulmamalıdır.

HAYVAN MODELLERİ

Ürolojik hastalıklar ve alt üriner sistem araştırmaları için pek çok hayvan türü kullanılmıştır. Hamster, sıçan, deney faresi, tavşan, kedi, köpek, domuz ve insan dışı primatlar bu türler içerisinde yer alır. Bu bölümde hayvan modellerinin belli başlı çeşitlerine değinilecek ve aşırı aktif mesanenin mekanizması ve tedavileri üzerinde hayvan modelleriyle ortaya konan veriler ortaya konarak çalışmaların bulgularından hareketle AAM'nin tartışmalı konuları gözden geçirilecektir.

Hayvan deneylerinin hemen hepsinin başlangıç noktası konu üzerinde epidemiyolojik olarak daha önceleri elde edilmiş verilere dayanmaktadır. AAM'nin gelişmesinin ileri yaşla ilişkili olduğu, her iki cinsiyet için de bu durumun geçerliliği hayvan deneylerinin mihenk taşıdır. Mesane depolama semptomları ile AAM ve nörolojik durumlar ile mesane çıkım obstrüksiyonu arasındaki ilişkiler fark edilmiş olup bu bağlamda hayvan modelleri geliştirilmiştir. Nörolojik hastalıkları olan tüm hastalar alt üriner sistem fonksiyonu ile ilgili bir takım problemler taşımakta, bu problemler ne kadar hafif olursa olsun mesane ilişkili bir sorun ile son bulmaktadır. Bu düşünceden yola çıkarak bir dizi nörolojik modelleme geliştirilmiştir.

AAM'nin çalışıldığı modellerin büyük kısmında hastalığın indüklendiği sağlıklı denekler kullanılmıştır. Hayvanların genetik olarak modifiye edilebilmesi ve teknolojiye gelişmeler sayesinde genetiği değiştirilmiş modellere olan yönelim güçlenmektedir.

Periferik ve Merkezi Modeller

AAM'nin hayvan modelleri nörolojik defisit baskın olduğu kısma yönelik olarak periferik ve merkezi olarak ikiye ayrılmıştır. Periferik

modeller mesaneye doğrudan hasarın olduğu, periferik inervasyonun veya kan akımının bozulduğu durumlarda; merkezi modeller de spinal kord, beyin sapı veya daha üst merkezlerin kusurlarının söz konusu olduğu durumlarda kullanılır.

İndüklenmiş Hipersensitivite/İnflamasyon Modelleri

Mesaneye kısa bir süreliğine zararlı bir maddenin doğrudan verilmesi ile cerrahi veya kimyasal bir hasar oluşturularak hipersensitivite ve/veya inflamasyon oluşturulması pek çok modelde sık kullanılan bir yaklaşımdır. Bu amaçla pek çok kimyasal kullanılmış olup asetik asit, sitrik asit, hidroklorik asit, kapsaisin, protamin sülfat, ksilen ve turpentin bunlardan bazılarıdır. Bu kimyasallar ile elde edilen sonucun mesane duvarında bulunan afferent C fibrillerinin uyarılması ve up-regülasyonu neticesinde gerçekleştiğidir. Bunun sonucunda duysal etkinlik oluşmakta ve bu mekanizmanın ertelenemeyen şiddetli idrar yapma hissinin (urgency) potansiyel bir sebebi olduğu düşünülmektedir.

Bu modeller mesane depolama problemlerine sebep olan mekanizmaların aydınlatılması için kullanılmış olmakla birlikte, bunlar AAM'nin gerçek bir örneği değildir ve reaktif inflamasyon oluşturulması için apayrı bir faktör kullanılmıştır. Histolojik bir değerlendirme yapıldığında AAM hastalarının mesane mukozalarında inflamatuvar yanıtı dair bir gösterge olmamaktadır ki bu yanıt hayvanlarda uyarılan bir yanıtır. Zararlı uyarılar diğer epitelyal yüzeyleri de etkileyebileceğinden üroepitelyumun tek hedef olmadığı söylenebilir. Bundan hareketle söylenebilir ki, bu hayvan modelleri, enfeksiyöz sistit, radyasyon sistiti veya ketamin sistiti gibi diğer klinik durumlara daha uygun olabilir. AAM'de klinik olarak ortaya çıkması beklenen nöronal plastisite ve hücresel adap-

tasyon gibi mekanizmalar kronik bir durumun akut enflamatuvar yangısında görülmeyeceğinden bu durumu modellemek konusunda yeter-siz kalacaktır.

Mesane Çıkım Obstrüksiyonu (MÇO) Modeli

Mesane çıkım obstrüksiyonu benign prostat büyümesine (BPH) bağlı olarak yaşlı erkeklerde sık görülen bir problem olup alt üriner sistem enfeksiyonunun sıklığında artışa da sebep olan bir olaydır. Depolama semptomları, obstrüksiyon cerrahi olarak tedavi edildikten uzun sene-ler sonra dahi sebat edebilir. AAM'nin altında yatan mekanizmalar MÇO'yu olan hastalarda net anlaşılmiş değildir.

İnsanlarda MÇO'ya benzer etkiler hayvan-larda da doğrudan benzerdir. Bu durum domuz, sıçan, deney faresi ve tavşanda doğrudan uretra çıkımını obstrükte edecek bir ligasyon aracılığı ile kısa süre içerisinde veya hayvan büyüdüğü zamanla gelişecek bir obstrüksiyon oluşturacak şekilde pek çok kez elde edilmiş ve denenmiştir. Bu modellerde insan MÇO'unda görülen kas hücreleri hipertrofisi, uyarana karşı verilen yanıtta değişiklik, artmış spontan miyojenik etkinlik gibi pek çok yapısal ve fizyolojik mesane değişiklikleri ile işeme dışı kasılmalar ve duysal nöronlar ve parasempatik ganglion-larda büyüme ile birlikte görülmektedir. Ayrıca detrusor kasında parçalı halde denervasyon görülmekte olup bu durum myojenik hipotezin anahtar etkenidir. Dolum fazındaki detrusor kasılmaları periferik sinirsel etkinliğin blokajına rağmen sebat edebilir, bu durum sinirsel olma-yan bir orjini işaret eder.

Kısmi MÇO hayvan deneylerini temel alan yayınlanmış pek çok çalışmada dişi kemirgen-ler kullanılmış olup bu sebeple yorumlanma-ları tartışmalıdır, çünkü veriler erkek BPH'ya uyarlanmıştı. Dahası indüklenmiş MÇO'unda BPH'ya göre durum daha akut ve potansiyel

olarak daha ağırdır, özellikle de uretra ligas-yona uğratıldığında bu durum daha da belir-gindir. Kısmi MÇO etyolojik geçerliliği daha yüksek olacağından alt üriner sistem enfeksi-yonlarını çalışmak için oluşturulacak bir mo-delde kullanılması daha uygun bir modelle-medir.

Spontan Hipertansif Sıçan Modeli

Spontan Hipertansif Sıçan (SHS) multifaktöriyel hipertansiyonunun genetik modeli olup insan esansiyel hipertansiyonuna benzediği kabul edilir. SHS'de ayrıca mesanenin anormal fonk-siyonu ve hiperaktif davranışı görülür. Genetik kontrolleri ile kıyaslandığında bu hayvanlarda mesane kapasitesinde ve işeme volümünde azalma, işeme frekansında artma ve işeme dışı kasılmaların DAA'da olduğu gibi daha sık rast-lanması söz konusudur. Bu durum SHS mode-linin DAA'i ve AAM çalışmalarında kullanımının önünü açmıştır.

SHS'de görülen anormal işeme fonksiyonu-nun sebebi tam olarak bilinmemekle beraber hem periferik hem spinal mekanizmaların bu süreçte rol oynadığı düşünülmektedir. Major anomalinin işeme refleksi üzerindeki norad-renarjik kontrolün merkezi sinir sistemindeki değişimlere bağlı olarak bozulması olduğu düşünölmektedir. Periferik olarak norepinefrine karşı detrusor kasında artmış, nöronal sistemde de azalmış cevap görülür.

Hayvanlarda yapılan sistometrik çalışma-ların çoğunda intravezikal basıncın tek başına ölçülmesi söz konusu olduğundan mesane basıncındaki artışın aslında abdominal basınç artışına bağlı oluşan bir yanıt olup olmadığı bilinemez. Bu belirsizlik ise SHS'de sıçanlarda görülen hiperaktivite davranışı söz konusu ol-duğunda beklenebilir. 2008'de yayınlanan bir çalışmada erkek SHS'lerde spontan intra-abdo-minal basınç ölçümü yapılmış olup söz konusu problem incelenmiştir. Bu çalışmada SHS'lerde

ölçülen intravezikal basınç artışı durumlarının %76'sı aşırı aktif detrusor dalgaları ile gösterilmiş olup geri kalanın abdominal basınç değişimlerine bağlı olarak oluştuğu düşünülmüştür. İdeal olarak intraabdominal ve intravezikal basınçların eşzamanlı ölçümü sistometriyle yapılmalı, çünkü bu hayvanlarda kaydedilen basınç değişikliklerinin büyük çoğu detrusorun işeme dışı kasılmalarına bağlı görülmektedir.

Hiperlipidemik Sıçan

Epidemiyolojik çalışmalarda alt üriner sistem semptomları ve erektil disfonksiyon arasında bir korelasyon olduğu, bu sebeple iki durumun ortaya çıkmasında ortak mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir. Hiperlipideminin erektil disfonksiyondaki rolünden yola çıkarak alt üriner sistem semptomları ve AAM modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Kontrol gurubu ile kıyaslandığında; yüksek yağ/kolesterol içeren diyet ile beslenen sıçanlarda artmış idrar sıklığı ve dolun sistometrisinde işeme dışı kontraksiyonların sayısında artış görülmüştür. Hiperlipidemik sıçanlarda anlamlı düzeyde yüksek vücut tartısı ve kolesterol seviyeleri kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur, fakat glukoz düzeyleri arasında istatistiksel olarak klinik anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Altta yatan patolojik mekanizmalar net olarak ortaya konamasa da güncel çalışmalar vasküler ve nörojenik komponentlerin her ikisinin de etkili olduğunu ortaya koymuştur. Ateroskleroza sekonder kronik mesane iskemisi uzamış orta düzeyli mesane iskemisi gibi etiyolojik faktörlerinden biri olup tavşanlarda mesane dolumu esnasındaki detrusor kontraksiyonları ile ilişkili bulunmuştur. Aynı zamanda ürotelyumdaki pürinerjik reseptörler ve mesane sinir demetlerinde kontrol gruplarına göre upregülasyon saptanmıştır ki ileri yaştaki insanlardaki yükselmiş NANK inervasyonu ve mesanenin durumu ile ilişkili olabilir.

Nörolojik Modeller

Merkezi sinir sistemi hastalıkları ve hasarları işemenin istemli kontrolüne zarar verir ve işemenin merkezi inhibisyonunda meydana gelen hasar primitif işeme reflekslerinin tekrar ortaya çıkmasına neden olabilir. İşemenin merkezi kontrolü komplekstir ve nörolojik hasarın seviyesi ve ciddiyeti ile ortaya çıkan işeme bozukluklarla koreledir. Mesanenin detrusor kasları ve sfinkter mekanizması arasındaki koordinasyonu pontin işeme merkezi tarafından kontrol edilir. Sonuç olarak suprapontine veya kortikal lezyonlar detrusor sfinkter dissinerjisi olmaksızın ürodinamide tipik olarak DAA'ya neden olur. Spinal kord hasarı olan hastalar ise yaralanmanın seviyesine ve komplet veya inkomplet olma durumuna bağlı olarak farklı değişiklikte alt üriner sistem semptom ve bulgularına neden olur. Nörojenik DAA, detrusor sfinkter dissinerjisi ve farklı formda üriner inkontinans epizodlarına neden olur. Nörojenik modellerle idiyopatik aşırı aktif mesane konusundaki mekanizma tam olarak açıklanamasa da işemenin kompleks mekanizması konusundaki kavrayışımıza katkı sağlar.

Spinal Kord Kesilmesi Hasarı

En sık kullanılan nörolojik modellerden biridir. Spinal kord hasarını takiben erken dönemde spinal şok evresini hasarın alt bölgesinde inhibisyonunun ortadan kalkması ile spastisite (iskelet kası hiperrefleksi), DAA (mesane hiperrefleksi) ve detrusor sfinkter dissinerjisi (sfinkter hiperrefleksi) ortaya çıkar. Buna ek olarak inen inhibitör yolların kaybı ile nöronal plastisite ortaya çıkar. Böylece normalde mesane distansiyonuna cevap veren nosiseptif C lifleri afferent kolda aktive olarak nörojenik detrusör aşırı aktivitesinin gelişimine katkıda bulunur. İntravezikal vanilloid terapisine verilen cevabın altında yatan mekanizma da budur.

Suprapontine Hayvan Modelleri

Serebrovasküler olay, demans, parkinson hastalığı ve multiple skleroz (MS) gibi birçok merkezi sinir sistemi hastalığı insanlarda işeme disfonksiyonuna neden olur. İnme geçiren hastalardaki en sık görülen ürodinamik bulgu DAA'dır. Serebrovasküler hasar ile gerçekleştirilen hayvan modellerinde inme ilişkili aşırı aktif mesane patofizyolojisi konusunda önemli bilgiler elde edilmiştir. Ratlarda orta serebral arterin oklüzyonu ile elde edilen serebral enfarkt ipsilateral frontoparyetal korteks ve kaudat putamene ilerler. Bundan dolayı işeme frekansının arttığı mesane kapasitesinin azaldığı DAA ortaya çıkar ve bu tablo aylarca devam eder. Orta cerebral arterin tıkanmasından 30 dakika sonra bu tablo ortaya çıkar ve mesanenin devamlı kortikal kontrolü ortadan kalkar, tonik kortikal kontrol ve bunun yol açtığı disinhibisyon aşırı aktif mesanenin ortaya çıkmasının altında yatan neden olabilir. Bununla birlikte, sıçanların orta serebral arter oklüzyonu ile deserebrasyonu, serebral enfarktüsün mesane fonksiyonu üzerindeki etkilerini azaltır ve bu, tonik inhibisyon kaybına ek olarak, ön beyin bölgesinden uyarıcı sinyallerin upregülasyonu ile mesane aşırı aktivitesine neden olur. N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistlerinin intravenöz uygulanması, uyanık hayvanlarda serebral enfarktüsün etkilerini azaltır ve inme ile ilişkili AAM'nin patojenezinde glutamaterjik yolların rolünü gösterir. Bununla birlikte, NMDA reseptör antagonistleri bu etkileri tamamen tersine çeviremezler ve bu nedenle diğer nörotransmitter sistemlerinin dahil olması muhtemeldir. Farmakolojik çalışmalar, dopaminerjik yolların, serebral enfarktüsle indüklenen mesane hiperaktivitesinde de rol oynadığını göstermektedir, öyle ki MCA tıkalı hayvanlarda D2 benzeri reseptörlerin antagonizması, mesane kapasitesini arttırmaktadır. Normal ratlarda

D1 benzeri dopaminerjik reseptörlerin aktivasyonu işemeyi inhibe ettiği ve D2 benzeri reseptörlerin aktivasyonu işemeyi uyardığı ortaya konulmuş olur.

Parkinson hastalığı, substantia nigra pars kompakta ile putameni bağlayan striatal dopaminerjik nöronların selektif hasarı ile karakterize beynin kronik ve progresif bir hastalığıdır. Hastaların büyük çoğunluğu nörojenik detrüsor aşırı aktivitesi ve istemli üretral sfinkter gevşemesinin bozulduğu nörojenik detrüsor aşırı aktivitesi yaşar. Maymunlarda substantia nigra dopaminerjik nöronların selektif hasarına yol açan nörotoksin 1-metil-4-fenil 1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) uygulaması parkinson oluşturur. Parkinson hastalığı hayvan modeli hastalığın patofizyolojisini anlamak ve işemenin kontrolünde dopaminerjik nöronların etkinliğini ortaya koymak için yapılmıştır. MPTP uygulanan maymunlarda sistometri dopamin reseptör agonisti enjeksiyonu ile mesane volümünün ve işemeyi indükleyen basınç eşik değerlerinin belirgin şekilde gösterirken normal maymunlarda aynı etki gözlenmemiştir.

Bununla birlikte D2 reseptör agonisti uygulamasının mesanede işeme için eşik değer volümünü düşürerek işemeyi tetiklediği hem normal hem de MPTP uygulanan gruplarda gösterilmiştir. Bu sonuçlar Parkinson hastalığında oluşan substantia nigra dopaminerjik nöronların kaybının D1 benzeri reseptörlerin aktive olamamasına neden olarak nörojenik detrüsor overaktivitesine neden olduğu ve D2 benzeri reseptörlerin işemeyi indüklediğini göstermiştir.

Deneysel Otoimmün Ensefalomyelitis Modeli

MS, disfonksiyonu olan hastalar arasında sık görülen bir durumdur ve 10 yılı aşkın MS hastalığı olanlarda işeme disfonksiyonu oranı %90'ın

üzerindedir. İşeme anomalileri çoğunlukla spinal demiyelizan lezyonlara bağlıdır fakat eşlik eden serebral lezyonlar da olabilir. Nörojenik detrüsor over aktivitesi etkilenen hastaların %70'inde ortaya konulan bir ürodinamik bulgudur ve hastaların %50'sinde detrüsor sfinkter dissinerjisi eşlik eder.

DeneySEL otoimmün ensefalomyelit enfamatuar otoimmün bir durum olup hedef nöronal dokulardır ve farklı hayvan türlerinde, merkezi sinir sisteminin immunojenik komponentleriyle aktif immünizasyon veya etkilenen hayvanlardan elde edilen ensefalojenik T hücrelerin pasif aktarımı ile indüklenebilir.

Transgenik Hayvan Modelleri

Genetik mühendisliği tekniklerindeki ilerlemeler genetik olarak değiştirilmiş organizmaların araştırma için kullanımının artması ile sonuçlanmıştır. Örneğin genetiği değiştirilmiş fareler ile farklı muskarinik reseptör tiplerinin birbirleri ile ilişkisi ortaya konulmuş ve m^3 reseptörün dominant reseptör olduğu ortaya konulmuştur.

Yaygın olarak bakımı kolay ve kısa bir üretim süresine sahip olması nedeniyle fare en çok kullanılan hayvan modeli olmuştur. Alt üriner sistem fizyoloji ve disfonksiyonu ile ilgili birçok farklı fare modeli geliştirilmiştir.

Nöronal Nitrik Asit Sentaz Knock-Out Fare

Kontrol grubu farelere göre bu hayvan modelinde total idrar üretiminde farklılık olmaksızın idrar sıklığı artmıştır. Bu bulgu intravezikal nitrik oksit sentaz inhibitörleri verilen ratlarda alt üriner sistem fonksiyonlarındaki değişimleri destekler ki bunlar; azalan mesane kapasitesi, detrüsor kontraksiyonlarının artmasıdır.

Nitrik oksit siklik guanosin monofosfat yolağı üzerinde etkisi olan fosfodiesterazlar alt üri-

ner sistem fonksiyonları ile ilişkili bulunmuştur ve klinik uygulanabilirliği söz konusu olabilir. Hayvan modellerinde saptanan değişikliklerin üriner çıkım gevşemesinin bozulmasına neden olan mesane hipertrofisine sekonder olduğu veya nitrik oksit ile indüklenebilen afferent yolların olmamasına sekonder olduğu bilgisi henüz net değildir.

Üroplakin Knock-Out Fare

Üroplakin ürotelyal hücrelerin apikal yüzeyini kaplayan ve ürotelyuma bariyer görevi gören plak yapısının integral komponentlerinden biridir. Üroplakin 3a ve özellikle üroplakin 2 knock out farelerde mesanede spontan aktivite artışı, işeme epizodları arasında basınç artışı ve sistometride detrüsor over aktivitesi gibi işeme harici kontraksiyonların olduğu mesane fonksiyon değişiklikleri ile ilişkilidir. Histolojik değerlendirmede üroplakin eksikliğinde ultrastrüktürel değişiklikler görülmüştür. Bu modellerde ürotelyumun geçirgenliğinde azalma saptanmıştır. Transgenik fare modeli ürotelyumun mesane fizyolojisi ve disfonksiyonu üzerinde önemli etkisinin olduğunu göstermiştir.

Prostoglandin Reseptör Knock-Out Fareler

Prostoglandinler siklooksijenaz 1 enzimi ve indüklenebilir izoenzimi olan siklooksijenaz 2 enzimi tarafından üretilir. Siklooksijenaz 2 ekspresyonu mesane disfonksiyonu modellerinde artmıştır ve overaktif mesanesi olan erkek ve kadın hastalarda prostoglandin E2 bu enzim tarafından üretilir. PGE2 etkisi G proteini ilişkili reseptörlerin EP ailesini (EP1-EP4 isoform) aktive ederek gösterir. İntravezikal olarak uygulandığında PGE2 işeme harici kontraksiyonları indükler ve insanlarda mesane kapasitesini azaltır.

Gerilime sekonder detrüsor kası tarafından PGE2 üretilir. EP3 reseptör knock out modellerde idrar kompozisyonu ve volümünden bağımsız olarak mesane kapasitesi artar. Bu hayvanlarda EP reseptör agonisti intravezikal uygulandıktan sonra mesane aşırı aktivitesi görülmez. Böylece EP3 reseptörün PGE2 salınımının arttığı aşırı aktif mesane hastalarında mesane disfonksiyonuna katkıda bulunduğu söylenebilir. Bu sınırlı bilgi ile periferik afferent duyarlılık artışı üzerinde katkısı olduğu söylenebilir.

Pürinerjik Reseptör Knock-Out Fareler

Mekanik gerilime bağlı olarak insan ve hayvan ürotelyumundan ATP salınımı olur. Subürotelyal afferent sinir uçlarındaki purinerjik reseptörlere bağlanan ATP sensöryal nörotransmitter olarak işlev görür. Aslında uyanık serbest hareketli ratlarda intravezikal ATP uygulamasının işeme frekansı ve mesane kontraksiyonlarını artırarak aşırı aktif mesaneyi tetiklediği görülmüştür. Purinerjik reseptör knock-out farelerde azalmış işeme frekansı ve artan işeme volümleri ile mesane duyarlılığı azalmış olur. Bu nokta ATP nin ve purinerjik reseptörlerin normal mesane fonksiyonları üzerinde fizyolojik rolü olduğunu gösterir. Bu durum purinerjik reseptör ekspresyonun artması ve artan ATP düzeyleri ile purinerjik yolların artmasının aşırı aktif mesane gelişim mekanizmalarına katkıda bulunduğunu gösterir.

Östrojen Reseptör Knock-Out Fareler

Yaşlanan kadınlarda alt üriner sistem semptom prevalansının yükselmesinde, epidemiyolojik çalışmalarda östrojen eksikliğinin katkıda bulunan bir faktör olduğu belirtilmektedir. Östrojenin mesane üzerindeki etkisini konu alan birçok deneysel ve klinik çalışma yapılmıştır. Östrojen

reseptörleri nükleer reseptör süper ailesinin parçasıdır ve iki farklı alt tipi vardır (ERa ve ERb). Bunlar ligand ile aktive olan transkripsiyon faktörleridir ve etkilerinin hedef gen ekspresyonu üzerinden gerçekleştirirler. Her iki alt tip de alt üriner sistemde ekspresyon olurlar fakat ERb mesanedeki baskın izoformudur.

ERa ve ERb reseptörleri olmayan knock-out farelerin çalışıldığı hayvan modellerinde kontrol grup fareler ile karşılaştırıldığında sistometride işeme paterni veya başka bir parametrede farklılık saptanmamıştır. Sakrifiye edilen hayvanlardan elde edilen in vitro kas çalışmalarında karbakol veya elektriksel alan stimülasyonuna verilen kontraktıl cevapta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında knock-out farelerde farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte ERa knock out farelerde kapsaisine cevap alınamaz iken diğer ER knock out fareler ve normal farelerde intravezikal uygulama sonrası sistometride overaktif patern saptanmıştır. Bu bulgu östrojenin etkisini direk kas üzerinden veya efferent yollardan ziyade afferent sinyal yollarından gerçekleştirdiğini göstermiştir. Bu bilgiye ilaveten ER reseptörlerinin merkezi sinir sisteminde işeme ile ilgili birçok bölgede izole edildiği görülmüştür.

Kapsaisin, vanilloid reseptör tip 1'e (VR-1), bağlanır ve bu reseptörün visseral ağrı gelişiminde ve duyarlılığında önemli role sahip olduğuna inanılır. ERa knock-out farelerde kapsaisine yanıtızlık östrojen tarafından VR-1 fonksiyonundaki değişikliğe ve böylelikle ağrının devamına neden olduğu bilinir. Buradan interstisyel sistit gibi ağrılı mesane sendromlarının kadınlarda neden daha sık olarak saptandığını ve bu ağrıların menstrüel siklus sürecinde şiddetinin değiştiği anlaşılabilir.

Kaynaklar

1. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, van Kerrebroeck P, Victor A, Wein A;

- Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn*. 2002;21(2):167-78.
- Hashim H¹, Abrams P. J Urol. Is the bladder a reliable witness for predicting detrusor overactivity? 2006 Jan;175(1):191-4; discussion 194-5.
 - Khastgir J¹, Drake MJ, Abrams P. Recognition and effective management of autonomic dysreflexia in spinal cord injuries. *Expert Opin Pharmacother*. 2007 May;8(7):945-56.
 - de Groat WC (1997) A neurologic basis for the overactive bladder. *Urology* 50(6A Suppl):36-52; discussion 53-56
 - Brading AF (1997) A myogenic basis for the overactive bladder. *Urology* 50(6A Suppl):57-67; discussion 68-73
 - Brading AF, Turner WH (1994) The unstable bladder: towards a common mechanism. *Br J Urol* 3(1):3-8
 - Drake MJ, Mills IW, Gillespie JI (2001) Model of peripheral autonomous modules and myovesical plexus in normal and overactive bladder function. *Lancet* 358(9279):401-403
 - Drake M et al (2006) Muscarinic stimulation of the rat isolated whole bladder: pathophysiological models of detrusor overactivity. *Auton Autacoid Pharmacol* 26(3):261-266
 - Coolsaet BL et al (1993) New concepts in relation to urge and detrusor activity. *Neurourol Urodyn* 12(5):463-471
 - Drake MJ, Harvey IJ, Gillespie JI (2003a) Autonomous activity in the isolated guinea pig bladder. *Exp Physiol* 88(1):19-30
 - Drake MJ et al (2003b) Partial outlet obstruction enhances modular autonomous activity in the isolated rat bladder. *J Urol* 170(1):276-279
 - Buckner SA et al (2002) Spontaneous phasic activity of the pig urinary bladder smooth muscle: characteristics and sensitivity to potassium channel modulators. *Br J Pharmacol* 135(3):639-648
 - Gillespie JI (2005) A developing view of the origins of urgency: the importance of animal models. *BJU Int* 96(suppl 1):22-28
 - Hau J (2008) Animal models for human disease. In: Conn PM (ed) *Sourcebook of models for biomedical research*. Humana, New Jersey
 - Inoue R, Brading AF (1991) Human, pig and guinea-pig bladder smooth muscle cells generate similar inward currents in response to purinoceptor activation. *Br J Pharmacol* 103(4):1840-1841
 - Sjogren C et al (1982) Atropine resistance of transmurally stimulated isolated human bladder muscle. *J Urol* 128(6):1368-1371
 - McMurray G, Casey JH, Naylor AM (2006) Animal models in urological disease and sexual dysfunction. *Br J Pharmacol* 147(suppl 2):S62-S79
 - Wang P, Luthin GR, Ruggieri MR (1995) Muscarinic acetylcholine receptor subtypes mediating urinary bladder contractility and coupling to GTP binding proteins. *J Pharmacol Exp Ther* 273(2):959-966
 - Chan AW (2004) Transgenic nonhuman primates for neurodegenerative diseases. *Reprod Biol Endocrinol* 2:39
 - Insel TR (2007) From animal models to model animals. *Biol Psychiatry* 62(12):1337-1339
 - Fowler CJ (2002) Bladder afferents and their role in the overactive bladder. *Urology* 59(5 suppl 1): 37-42
 - Wolffenbuttel KP et al (2001) Urodynamic follow-up of experimental urethral obstruction in individual guinea pigs. *Neurourol Urodyn* 20(6):699-713
 - Jin LH et al (2009) Substantial detrusor overactivity in conscious spontaneously hypertensive rats with hyperactive behaviour. *Scand J Urol Nephrol* 43(1):3-7
 - Rahman NU et al (2007) An animal model to study lower urinary tract symptoms and erectile dysfunction: the hyperlipidaemic rat. *BJU Int* 100(3):658-663
 - Morrison J, Steers WD, Brading A (2002) Neurophysiology and neuropharmacology. In: Abrams P et al (eds) *Incontinence: 2nd international consultation on incontinence*. Plymbridge, Plymouth, pp 85-161
 - Yokoyama O et al (1998a) Change in bladder contractility associated with bladder overactivity in rats with cerebral infarction. *J Urol* 159(2):577-580
 - de Groat WC, Yoshimura N (2001) Pharmacology of the lower urinary tract. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41:691-721
 - Yoshimura N et al (1993) The dopamine D1 receptor agonist SKF 38393 suppresses detrusor hyperreflexia in the monkey with parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP). *Neuropharmacology* 32(4):315-321
 - Andersson KE, Pehrson R (2003) CNS involvement in overactive bladder: pathophysiology and opportunities for pharmacological intervention. *Drugs* 63(23):2595-2611
 - Petry KG et al (2000) Experimental allergic encephalomyelitis animal models for analyzing features of multiple sclerosis. *Pathol Biol* 48(1):47-53
 - Matsui M et al (2002) Mice lacking M2 and M3 muscarinic acetylcholine receptors are devoid of cholinergic smooth muscle contractions but still viable. *J Neurosci* 22(24):10627-10632
 - Burnett AL et al (1997) Urinary bladder-urethral sphincter dysfunction in mice with targeted disruption of neuronal nitric oxide synthase models

- idiopathic voiding disorders in humans. *Nat Med* 3(5):571–574
33. Masuda H et al (2007) Effects of anaesthesia on the nitrergic pathway during the micturition reflex in rats. *BJU Int* 100(1):175–180
 34. Hu P et al (2002) Role of membrane proteins in permeability barrier function: uroplakin ablation elevates urothelial permeability. *Am J Physiol Renal Physiol* 283(6):F1200–F1207
 35. Aboushwareb T et al (2009) Alterations in bladder function associated with urothelial defects in uroplakin II and IIIa knockout mice. *Neurourol Urodyn* 28(8):1028–1033
 36. Schussler B (1990) Comparison of the mode of action of prostaglandin E2 (PGE2) and sulprostone, a PGE2-derivative, on the lower urinary tract in healthy women. A urodynamic study. *Urol Res* 18(5):349–352
 37. McCafferty GP et al (2008) Enhanced bladder capacity and reduced prostaglandin E2-mediated bladder hyperactivity in EP3 receptor knockout mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 295(2): F507–F514
 38. Sun Y et al (2001) Augmented stretch activated adenosine triphosphate release from bladder uroepithelial cells in patients with interstitial cystitis. *J Urol* 166(5):1951–1956
 39. Pandita RK, Andersson KE (2002) Intravesical adenosine triphosphate stimulates the micturition reflex in awake, freely moving rats. *J Urol* 168(3):1230–1234
 40. Iosif CS, Bekassy Z (1984) Prevalence of genito-urinary symptoms in the late menopause. *Acta Obstet Gynecol Scand* 63(3):257–260
 41. Makela S et al (2000) Differential expression of estrogen receptors alpha and beta in adult rat accessory sex glands and lower urinary tract. *Mol Cell Endocrinol* 170(1–2):219–229
 42. Schroder A et al (2003) Estrogen receptor subtypes and afferent signaling in the bladder. *J Urol* 170(3):1013–1016
 43. VanderHorst VG et al (1997) Estrogen receptor-immunoreactive neurons in the lumbosacral cord projecting to the periaqueductal gray in the ovariectomized female cat. *Neurosci Lett* 236(1): 25–28
 44. Caterina MJ et al (1997) The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389(6653):816–824
 45. Wang ZY et al (2008) Lack of TRPV1 inhibits cystitis-induced increased mechanical sensitivity in mice. *Pain* 139(1):158–167

Nörojenik Alt Üriner Sistem Disfonksiyonu 24

Osman ÖZDEMİR, Mithat EKŞİ, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

GİRİŞ

Nörojenik alt üriner sistem disfonksiyonu (NA-ÜSD) çeşitli nörojenik hastalıklara veya yaralanmalara bağlı olarak gelişebilir. Bunların arasında parkinson, diyabet, serebrovasküler hasar, spinal kord hasarı gibi patolojiler yer almaktadır. Ürodinamik çalışmalarda ise bu patolojilere bağlı olarak değişik tipte sonuçlar karşımıza çıkmakta ve bu sonuçlara göre de farklı tedaviler düzenlenmektedir.

Laboratuvar hayvanı olarak fare, sıçan, kedi, köpek, gine domuzu, tavşan, hamster gibi birçok hayvan kullanılmıştır. Ancak biyolojik olarak insana benzemeleri, çevresel faktörlerin kolaylıkla kontrol edilebilmesi gibi nedenler yüzünden deney hayvanlarının yaklaşık %90'ını fare ve sıçan gibi kemirgenler oluşturur.

Nörojen mesane yukarıda da bahsedildiği gibi parkinson, diyabet, spinal kord hasarı, pelvik cerrahi, beyin tümörü gibi nedenlerle ortaya çıkabilir ve bu hastalıklar nöronlar ile işeme fonksiyonunda görevli detrusor kası, sfinkter gibi organlar arası koordinasyonu bozarak işeme disfonksiyonuna neden olurlar.

Bu ve benzer nedenlerle ortaya çıkan nörojen mesane, lezyonun yeri göz önüne alınarak

temel olarak üç farklı şekilde karşımıza çıkmaktadır: Suprapontin lezyonlar, İnfrapontin suprasakral lezyonlar ve infrasakral lezyonlar. Suprapontin lezyonlarda ön planda depolama semptomları karşımıza çıkarken işeme genellikle normal olup, detrusör aşırı aktivitesi görülür. İnfrapontin suprasakral lezyonlarda hem depolama hem işeme semptomları ile karşılaşmakta ve ürodinamik olarak detrusör aşırı aktivitesi ile detrusör sfinkter dissinerjisi (DSD) izlenir. İnfrasakral lezyonlarda ise işeme semptomları ön plandadır, postmiksyonel rezidü (PMR) yüksektir ve detrusör kontraktilesi azalmış ya da atonik olarak karşımıza çıkar.

İşeme disfonksiyonları, hastalığın tipine göre medikal ya da cerrahi seçeneklerle tedavi edilebilirler. Medikal tedavilerde antikolinerjikler, trisiklik antidepressanlar, kalsiyum kanal blokerleri gibi ilaçların yer almakta olup ilaçların klinik olarak kullanımına başlanmadan önce hayvan modelleri üzerinde denenmesi gerektiği belirtilmiştir.

HAYVAN MODELLERİ

Hayvan modellerinde yukarıda bahsettiğimiz suprapontin, infrapontin ya da infrasakral

lezyonları değerlendirmek ve nörojenik AÜS disfonksiyonunu canlandırmak için ise en sık olarak deserebrasyon, serebral infarkt ve spinal kord hasarı oluşturma yöntemleri kullanılmaktadır. Bu bölümünde, nörojenik alt üriner sistem disfonksiyonunda hayvan modelleri konusu irdelenecektir.

Deserebrasyon

Deserebrasyon ilk olarak her iki karotis arterinin ligasyonu yapılarak denenmiş ancak bu mekanik deserebrasyon işlemi şok ve masif kanama gibi durumlarla sonuçlanmıştır. Daha sonraları Yoshizawa tarafından farklı bir metot denenmiştir. Halotan anestezisi sonrasında internal ve eksternal karotis arterler bağlanmıştır. Daha sonra kranyumda midkolikular seviyeden ön beyin çıkarılmış ve posterior sirküler arter bağlanmıştır.

2011'de Nakanishi ve Whelan, bir farenin entübe edildikten sonra her iki taraftan karotislerin bağlandığını, bu esnada anlık olarak EKG ve vücut sıcaklık ölçümü yapıldığını ve hemen ardından deserebrasyon prosedürüne geçtiklerini belirtmişlerdir. Deserebrasyon işlemi için pariyetal ve frontal kemiklerin açılarak kraniotominin yapıldığını, sonrasında yaklaşık 45 derecelik bir açı ile kaudal korteksten kranyum tabanına doğru prekolikular, premamillar bir deserebrasyon insizyonu yaptıklarını belirtmişlerdir. Açılan kaviteye iki küçük parça jel köpük koyduklarını ve doku kurumasını azaltmak için de mineral yağı eklediklerini ifade etmişlerdir.

Son olarak 2017'de ise Meehan ve arkadaşları spinal kord çalışmaları için deserebre fare modeli ile ilgili multisentrik bir çalışma yapmış ve protokol yayımlamışlardır.

Deserebrasyon işlemi yapılan neredeyse tüm farelerin birkaç saat içinde ölmesi nedeniyle, yapılacak olan çalışmanın çok çabuk bir şekilde yapılması gerekmektedir. Mekanik deserebrasyonun, işlemin zor olması, deneğin

çok kısa sürede ölmesi ve düşük başarı oranları olması gibi negatif yanları bulunmaktadır.

Mekanik deserebrasyonun bu negatif yönlerinden uzaklaşmak için yeni yöntemler denenmiş ve serebral kan akışını bozmak için embolizasyon denenmiştir. Embolizasyon ile deserebrasyon işleminde Wills poligonundaki kan akışı engellenmiştir. Sentetik trombüs, lateks, polivinil asetat, polivinilsiloksan gibi maddeler embolizasyon işlemi için kullanılabilirlerdir.

Haloksan anestezisi verilen deneğe, beyin ödemi azaltmak için steroid veya mannitol enjekte edildikten sonra karotis arteri disseke edilir ve bir miktar polivinilsiloksan enjekte edilir. Deneysel hayvanı anesteziden uyanırken rijidite kontrol edilir ve deserebrasyon rijiditesi sağlandıysa işlem başarılı olarak kabul edilir.

Serebral infarkt Oluşturulması

Hayvan modelinde serebral infarkt oluşturmak için, insan patofizyolojisine en benzer olması nedeniyle fare uygun bir seçenektir.

Hayvan modelinde serebral damarlarda trombüs oluşmak için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Cerrahi oklüzyon, elektrokoter ile oklüzyon, trombüs ile blok, orta serebral arterin (MCA) fotokimyasal oklüzyonu gibi seçenekler bunlardan bazılarıdır.

Trombüs ile serebral infarkt iki şekilde etki etmektedir. Birisinde trombüs parçaları frontal, pariyetal ve oksipital lobu da kapsayacak şekilde geniş bir alanda infarkta neden olurken diğerinde ise küçük bir trombüs parçası sadece MCA oklüzyonu sağlamaktadır. Deneysel hayvanında işleme disfonksiyonu sağlamak için çoğu araştırmacılar MCA oklüzyonunu tercih etmektedir.

Orta serebral arter oklüzyonunu sağlamak için uygulanan intraluminal monofilaman modeli, eksternal karotis arterine cerrahi bir filament konulmasını ve bu filamentin ucunun MCA'nın başlangıcını tıkayana kadar internal karotis ar-

tere doğru ittirilmesi ile gerçekleştirilir. Bu da MCA'nın beslediği bölgede kan akışının kesilmesine ve enfarktüse neden olur. Öte yandan bu tekniğin uygulanmasında nöroşirurjik bir cerrahi olan kraniotomi gerekmemektedir. Chi-an ve arkadaşları, fare modelinde orta serebral arter oklüzyonu ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, deney esnasında hayvanın vücut sıcaklığını stabil tutmanın son derece önemli olduğundan bahsetmişlerdir. Hipoterminin infarkt alanını azaltırken, hiperterminin ise artıracağını belirtmiş, bu nedenle de deney sonuçlarının homojen olamayacağını ifade etmişlerdir. Öte yandan bu işlem için ana karotis arteri ve eksternal karotis arteri disseke ederken, bu damarlara komşu olan vagus sinirini ve trakeayı yaralamamaya özen gösterilmesi gerektiğini, çünkü bunların da enfarkt boyutunu değiştirebileceğini ve dolayısıyla araştırmanın gücünü azaltabileceğini belirtmişlerdir.

Spinal Kord Hasarı Oluşturmak

Deney hayvanlarında spinal kord hasarı oluşturmak ilk olarak 1911'de Allen tarafından denenmiştir. Bu metod basit bir mantığa dayanmaktadır. Belli ağırlıktaki bir cisim, sabit bir yükseklikten düştüğünde, herhangi bir durumda ortaya çıkabilecek olan etkiyi meydana getirecek ve spinal kord hasarına yol açabilecektir. Allen'in 'weight-drop' metodu, deney hayvanlarında spinal kord hasarı oluşturmak için genel metod olarak bilinmektedir. Spinal kord hasarının temel mekanizması, kord ve dokuların hızlı bir etkiye maruz kalması ve sonuç olarak da omurgada kırık veya dislokasyon gelişmesidir.

Ancak Allen'in metodu kesin klinik sonuçlar sağlayamayabilmektedir. Bazen, hasar görmüş spinal kord dokusu parsiyel olarak da olsa kendisini yenileyip iyileştirebilmektedir. Bu nedenle de kesin sonuçlar alınamayabilmekte ve mükemmel bir hayvan modeli olmaktan uzaklaşmaktadır. Bergman ise bunun üzerine, spinal

kordun bir bölümün tamamen eksizyonunu içeren bir metod geliştirmiştir. Haloksan anestezi sonrası laminektomi yapılarak bu yöntem uygulanmaktadır.

Spinal kord hasarının oluşturulduğu segmentlere göre farklı sonuçlar alınmaktadır. Bunun için üst motor nöron lezyon modeli ve alt motor nöron lezyon modeli kullanılabilir. Supralumbosakral bir lezyon oluşturulmak için (üst motor nöron lezyonu) T11 seviyesinin üzerinde bir spinal kord hasarı meydana getirilmelidir. Böyle bir lezyon olduğu zaman, mesane ve üretra fonksiyonunun kontrolünü sağlayan üst merkezlerden inen nöronlar modülasyon kesintiye uğrar ve bu durum mesaneyi arefleksik kılar. Bu durum transeksiyondan yaklaşık 2 hafta sonra ortaya çıkacak olan spinal kord ile mesane arası reflekse kadar devam eder. DSD ile de kombine olan bu arefeksi durumu, mesane ve böbreklere de zarar verecek olan üriner retansiyon ve hipertrofiye neden olur. Spinal korddaki nöral bağlantıların tekrar oluşmaya başlaması ile işeme fonksiyonunun parsiyel iyileşmesi sonrasında, nörojenik ve miyojenik aşırı aktif mesane durumu bu modelde ortaya çıkar.

Öte yandan, alt motor nöron lezyonu oluşturmak için ise L3 ve altı düzeyinden bir spinal kord hasarı ortaya çıkarmak gerekmektedir. Böyle bir hasar meydana geldiğinde ise mesane ile sfinkter, taşma inkontinansına neden olacak şekilde desantralize ve arefleksik olur ve bu durumda ne hipertrofi, ne de intrinsik mesane aşırı aktivitesi görülür.

Sonuç olarak bakacak olursak nörojenik mesaneyi çalışmak için hayvan modelleri oluşturmak istendiğinde temel olarak deserebrasyon, serebral enfarktüs ve spinal kord hasarı oluşturmak gibi yöntemler kullanılmaktadır. Her bir yöntemin artıları ve eksileri olmakla birlikte burada çalışılması ve incelenmesi planlanmakta olan mesane disfonksiyonu göz önünde bulundurularak bu yöntemlerden uygun olanı tercih edilmelidir.

Kaynaklar

- Bugos O, Bhide M, Zilka N. Beyond the rat models of human neurodegenerative disorders. *Cell Mol Neurobiol* 2009;29:859-69
- Wein AJ. Lower urinary tract dysfunction in neurologic injury and disease. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA editors. *Campbell-Walsh urology*. Philadelphia: Saunders. 2007:2011-45
- You KH, Lee SJ. Experimental Animal Models of Neurogenic Bladder Dysfunction. *Int Neurouro J*. 2010 Apr; 14(1): 1–6.
- Sherrington CS. Decerebrate Rigidity, and Reflex Coordination of Movements. *J Physiol* 1898;22: 319-32
- Yoshiyama M, Roppolo JR, de Groat WC. Effects of LY215490, a competitive alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid (AMPA) receptor antagonist, on the micturition reflex in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1997;280:894-904
- Nakanishi S.T, Whelan P.J. A decerebrate adult mouse model for examining the sensorimotor control of locomotion. *J Neurophysiol* 107: 500–515, 2012
- Meehan C.F, Mayr K.A, Manuel M. et al. Decerebrate mouse model for studies of the spinal cord circuits. *Nat Protoc*. 2017 Apr;12(4):732-747.
- Fouad K, Bennett DJ. Decerebration by global ischemic stroke in rats. *J Neurosci Methods* 1998;84: 131-7
- Overgaard K. Thrombolytic therapy in experimental embolic stroke. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 1994; 6:257-86
- Slivka A, Murphy E, Horrocks L. Cerebral edema after temporary and permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke* 1995;26:1061-5
- Kuge Y, Minematsu K, Yamaguchi T, Miyake Y. Nylon monofilament for intraluminal middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 1995;26:1655-7
- Lin W, Venkatesan R, Gurleyik K, He YY, Powers WJ, Hsu CY. An absolute measurement of brain water content using magnetic resonance imaging in two focal cerebral ischemic rat models. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20:37-44
- Nakayama H, Dietrich WD, Watson BD, Busto R, Ginsberg MD. Photothrombotic occlusion of rat middle cerebral artery: histopathological and hemodynamic sequelae of acute recanalization. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988;8:357-66
- Krueger K, Busch E. Protocol of a thromboembolic stroke model in the rat: review of the experimental procedure and comparison of models. *Invest Radiol* 2002;37:600-8
- Longa EZ. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20:84–91
- Hudgins WR, Garcia JH. The effect of electrocautery, atmospheric exposure, and surgical retraction on the permeability of the blood-brain-barrier. *Stroke*. 1970;1:375–380
- Chiang T, Messing R.O, Chou W.H. Mouse Model of Middle Cerebral Artery Occlusion. *J Vis Exp*. 2011; (48): 2761
- K.M. Vijayaprakash, N. Sridharan. An experimental spinal cord injury rat model using customized impact device: A cost-effective approach. *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 Jul-Sep; 4(3): 211–213.
- Allen AR. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of spinal column: A preliminary report. *Jour AMA* 1911;57:878-80
- Bregman BS. Spinal cord transplants permit the growth of serotonergic axons across the site of neonatal spinal cord transection. *Brain Res* 1987;431: 265-79
- Jacob JE, Pniak A, Weaver LC, et al. Autonomic dysreflexia in a mouse model of spinal cord injury. *Neuroscience*. 108(687):2001
- de Groat WC, Kawatani M, Hisamitsu T, et al. Mechanisms underlying the recovery of urinary bladder function following spinal cord injury. *J Auton Nerv Syst*. 1990; 30(Suppl):S71. [PubMed: 2212495]
- de Groat WC, Kruse MN, Vizzard MA, et al. Modification of urinary bladder function after spinal cord injury. *Adv Neurol*. 72(347):1997.
- Hoang TX, Havton LA. Novel repair strategies to restore bladder function following cauda equina/conus medullaris injuries. *Prog Brain Res*. 2006; 152:195

Detrusor Yetersizliği

25

Kamil Gökhan ŞEKER, Joshgun HUSEYNOV, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

GİRİŞ

Uluslararası Kontinans Derneđi (ICS) detrüör underaktivitesini (UD) uzamıő mesane boşalması ve/ veya normal zaman dilimi iğerisinde tam mesane boşalmamasına yol ačan, düőük güç ve süreye sahip detrüör kasılması olarak tanımlamıőtır.

Chapple ve arkadaşları ise yetersiz aktif mesaneyi (YAM) (UAB: underactive bladder), DU'ni düşündüren bir semptom kompleksi olarak ve inkomplet mesane boşaltma hissi olsun ya da olmasın, genellikle duraksama, mesane dolusunda duyumun azalması ve azalmış üriner akım hızı özellikleri ile tanımlamışlardır.

YAM, her iki cinsi de etkileyen ve rahatsız edici alt üriner sistem semptomlarına (AÜSS) neden olan bir mesane disfonksiyonudur. YAM, AÜSS için ürodinami ile değerlendirilen erkeklerin %48'inde, kadınların ise %45'inde bildirilen yaygın bir tanıdır.

YAM idiyopatik, miyojenik ve nörojenik nedenlere bağlı olabilir. Yaşlanma, mesane çıkım obstrüksiyonu (MÇO), diyabetes mellitus (DM), nörolojik bozukluklar (Örn. Parkinson, Multiple Skleroz, Herpes Zoster, AIDS) ve omurilikte sinir hasarına neden olan patolojiler (Örn. Spinal stenoz, Pelvik kırıklar, Pelvik cerrahi, Kauda

equine ve periferel pelvik sinir hasarı) gibi çeşitli nedenlerin YAM gelişmesinden sorumlu olduğu bilinmektedir.

YAM patofizyolojisi tam olarak aydınlatılmamakla beraber, temel olarak iki hipotez bulunmaktadır: miyojenik ve nörojenik disfonksiyon. Klasik miyojenik hipotez (intrinsic detrüör disfonksiyonu), detrüörün yeterli derecede kasılma yeteneğine odaklanır. Nörojenik hipotez ise mesane afferent ve efferent sinir innervasyonunda, spinal ve supraspinal merkezlerde miksiyon kontrolünde veya her ikisinde meydana gelen defekte bağlı YAM gelişimine yol ağtığını açıklamaktadır.

YAM ile ilgili özellikle hayvan modellerini iğereren çalışmalar ön plana çıkmıştır. İdeal hayvan modelleri, insan patofizyolojisinin bir kısmını ve / veya fonksiyonel bir patolojiyi taklit etmelidir. Kemirgenler, düşük maliyetli oldukları, kullanımı kolay oldukları ve fizyolojilerinin kapsamlı bir Şekilde çalışıldığı için yaygın kullanılmaktadır.

HAYVAN MODELLERİ

Güncel literatüre bakacak olursak, Şimdiye kadar özellikle kemirgenlerde "uzamış işeme siresi" ve/veya "azalmış kasılma gücü" gösteren

linik YAM'yi taklit eden çeşitli hayvan modelleri bildirilmiştir. Multifaktöriyel bir hastalık olarak, DU için ise tek bir prelinik model kurmak zorlaşır. Bu nedenle farklı YAM'nin alt sınıflarını temsil eden çoklu prelinik modellerin kullanılması kabul edilebilir. Bu bölümde YAM ile ilgili tüm hayvan modelleri ana ve alt başlıklar altında ele alınacaktır.

1) Yaşlanma Modeli

İdiyopatik YAM'nin hayvan modelleri zordur, bu nedenle bir hayvanın YAM hastalarında görülenlere benzeyen sistometrik veya işeme özelliklerini eksprese ettiği fenotipik modeller kullanılır. YAM sıklıkla yaşlı hastalarda görülür. Bu nedenle, yaşlı hayvanlar YAM'yi incelemek için uygun fenotipik model olarak seçilir. Yaşlı fare veya sıçan modelleri, YAM'yi yaşa bağlı olarak azalmış mesane hacim duyarlılığı ve artmış interkontraktibilite aralıkları ile gösterebilir. "Yaşlanmanın" tanımı kemirgenlerde hala belirsizdir, ancak 12 aylıktan fazla olan hayvanlarda genellikle kullanılır. 24 aylıktan fazla olanlar ise sıklıkla araştırmalarda kullanılır. Genç ve yaşlı farelerin sistometrisine bakıldığında, detrusör kontraktilesinin korunduğunu, ancak 26 aylık hayvanlarda mesane hacminde artışa yanıtın azaldığı görülmektedir. Bu durum yaşlı sıçanlarda yaş bağımlı mesane hacim duyarlılığının, yaşlı sıçanlarda azalmış C-lif afferent aktivitesini düşürdüren intravezikal kapsaisinin azalmış yanıtı ile açıklanabilir. Yaşlı sıçanlar ayrıca pelvik sinir uyarımı sırasında ortaya çıkan maksimum mesane basıncında bir azalma sergiler. Kalsitonin gen ilişkili peptid için boyanma sonucu, lumbosakral dorsal kök ganglion nöronlarında P maddesi ve mesane tabanının hipofiz adenilat siklaz aktive edici peptid innervasyonu yoğunluğunun yaşlı sıçanlarda azaldığı tespit edilmiştir. Lluell ve arkadaşlarının, 24 aylık erkek Sprague-Dawley sıçanlarında, 6 aylık sıçanlara kıyasla rezidüel

volüm (RV)'leri artmış ve işeme hacimlerini (VV: voiding volüm) ise azalmış bulmuşlardır. Bununla birlikte, yaşlı dişi Wistar sıçanlarında (30'a karşı 10 ay) hiçbir fark bulunmamıştır. Diğer iki araştırma grubun da ise 12 aylık dişi Sprague-Dawley sıçanlarında artmış RV bildirilmiştir. Tüm bu sonuçlara bakılınca YAM için yaşlanma modeli basit ve kullanılabilir bir yöntem olarak görülmektedir.

2) Miyojenik Model

Detrusör kasının fonksiyonel ve/veya morfolojik değişiklikleri detrusör kontraktilesini azaltabilir ve bu nedenle YAM'ye katkıda bulunabilir.

YAM'de azalmış detrusör kontraktilesi, kasılma etkisinin (asetilkolin ve ATP) yokluğundan ve/veya mesane duvarındaki geri dönüşümsüz değişimlere bağlı olarak dokuya cevap vermesinden kaynaklanabilir.

3a) Mesane Hidrodistanسیون Modeli

Kim ve arkadaşları, YAM'nin hidroelektrik modelini tanımlamışlardır. Mesane distansiyonunun 120 cm H₂O'ye ulaşmasını takip eden 7 günde RV, 0.25'ten 1.43 ml'ye yükselmiş ve işeme etkinliği (VE: voiding efficiacete) %71'den %26'ya azalmıştır.

3b) Kriyoinjuri Modeli

Mesanenin kriyoinjürisinin detrusör kontraktilesini bozduğu gösterilmiştir. Somogyi ve arkadaşları mesane duvarının serozal tarafına, 30 sn boyunca kuru buz (-40 °C) üzerinde soğutulmuş bir alüminyum çubuk yerleştirmişlerdir. İzometrik gerilim kayıtları, nöral stimülasyona azalmış kontraksiyonlar göstermiş, ancak detrusör düz kasının direkt depolarizasyonu yapamamıştır. Bu nedenle, azalmış kontraktilesinin miyojenik veya sinirsel disfonksiyona bağlı olup olmadığı netleşmemiştir.

4) Mesane Çıkım Obstrüksiyonu Modeli

MÇÖ modelinde obstrüksiyonun derecesi tekniklere, hayvan türlerine ve cinsiyetlere bağlı olarak değişmektedir. İnsanlarda MÇÖ'na benzer etkiler, domuz, sıçan, kobay ve tavşan gibi çeşitli hayvan türlerinde iyi belgelenmiştir.

En tipik MÇÖ modeli, üretranın parsiyel tıkanıklığının, üretranın hemen önünü kesen veya hayvan büyüdükçe yavaş yavaş ilerleyen bir çeşit bağ kullanılarak tetiklenmesiyle yaratılır. Yetişkin dişi sıçanlarda, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu (pMÇÖ), 2 hafta ila 6 ay boyunca, 1 mm'lik bir anjiyokateter üzerinde proksimal üretra ligasyonu ile indüklenebilir. Uzamış MÇÖ, asetilkolin salınımında ve sıçan mesanesinde sinirlerin sayısında azalmaya neden olmuştur. Bu sonucun ışığında MÇÖ, YAM preklinik modeline katkıda bulunabilir.

Mesane fonksiyonu, parsiyel mesane çıkım obstrüksiyonu (pMÇÖ) sonrası üç aşamada incelenir: distansiyon fazı, kompensatuvar faz (detrüsörün hipertrofik ve hiperplastik hale geldiği) ve dekompanasyon fazı (kontraktil uyaranlara azalmış yanıt).

O'Connor ve arkadaşları sıçanlarda pMÇÖ'nunu takiben mesane fonksiyonunun zamansal değişimlerini tarif etmişlerdir. RV ameliyattan 21 gün sonra beş kattan fazla artmışken VV değişmemiş ve sham hayvanlara kıyasla maksimum intravezikal basınç artmıştır.

Sıçanlarda pMÇÖ'dan 3 ve 4 hafta sonra, farelerde pMÇÖ'dan 5 hafta benzer sonuçlar bulunmuştur.

5) İskemi ve Hiperlipidemi Modeli

İskemik modeller ile mesane disfonksiyonları üzerinde birçok çalışma yapılmıştır. Ateroskleroz modelleri yakın zamanda bildirilmiş ve daha uzun süre ateroskleroza olan hayvanlar, ideal bir YAM modeli olabilirler. Kanıtlar hem vasküler hem de nörojenik bileşenlerin olabi-

leceğini ve ateroskleroza sekonder kronik mesane iskemisinin YAM'yi indükleyebileceğini düşündürmektedir.

Ateroskleroza ilişkili iskemik hastalıklar için yaygın olarak kullanılan bir hayvan modeli miyokart enfarktüsüne eğilimli Watanabe Kalıtsal Hiperlipidemi (WHHLMI) tavşan modelidir. Bu modeldeki tavşanların sistometri sonuçlarına bakacak olursak, kontrol hayvanlarına kıyasla anlamlı derecede daha kısa işeme aralıkları, daha az işeme kontraksiyonları ile işeme hacmi ve düşük işeme basıncı göstermiştir. RV ise, kontrol tavşanlarına kıyasla WHHLMI'de belirgin bir şekilde yükselmemiştir. Detrusor düz kasının doğrudan depolarizasyonu değişmemiş; Ancak WHHLMI tavşanlarında kolinerjik ve nöral indüklenen kontraktile daha düşük saptanmıştır.

İskemik mesane disfonksiyonu için arteriyel endotelial hasarı sıçan modeli, Nomiya ve arkadaşları tarafından tarif edilmiştir. Ana iliak arterlerin balon endotel hasarı ile indüklenen mesane iskemisinin yapıldığı sıçan modelinde, aşırı aktif mesane (AAM) 'den YAM'ne kadar değişen yelpazaden mesane disfonksiyonu ile sonuçlanan durum gözlenmiştir. Bu modelde RV, kontrol hayvanlarına kıyasla anlamlı derecede yüksek saptanmamıştır.

Zhao ve ark. ise arteriyel yaralanma sonrası mesane disfonksiyonunu tarif etmişlerdir. İskemi indüksiyonundan on altı hafta sonra, hesaplanan RV sham ile karşılaştırıldığında iki katına çıkmıştır. İmmünohistokimya, yaralanma sonrası shama göre göre azalmış nöral dansite göstermiştir.

6) Sinir Hasarı Modeli

Nörojenik YAM'nin hayvan modelleri, defisitlen baskın bölgesine dayalı olarak merkezi (multipl skleroz, Parkinson) ve periferik (ventral avulsiyon, lomber kanal stenozu, pelvik sinir hasarı) sinir hasarı modellerine ayrılabilir. Omurilik

veya beyin sapı yaralanmaları sonrasında merkezi sinir modelleri geliştirilirken, mesaneye doğrudan zarar verilmesi, mesanenin periferik innervasyonu veya kan akımının hasarlanması sonrası ya da periferik sinirlerin hasarı sonucunda periferik sinir modelleri bulunmaktadır.

6a) Merkezi Sinir Hasarı Modeli

6a1) Multiple Skleroz Modeli

Multiple Skleroz (MS) hastalarının, özellikle lumbosakral omurilik etkilendiğinde %20'sinde YAM bildirilmiştir.

MS için yaygın olarak kullanılan bir hayvan modeli, hayvanların paralizi için beyin veya omurilik antijenleri ile aşılandığı deneysel otoimmün ensefalomyelit (EAE) modelidir.

Mizusawa ve arkadaşları sıçanların %54'ünde geçici detrusör arefleksisi (1-4 gün) bulmuşlardır.

6a2) Ventral avülsiyon modeli

Torakolomber omurga travmasından sonra mesane disfonksiyonu yaygındır. Torakolomber omurga travması, genellikle omuriliğin cauda equina ve lumbosakral kısmındaki yaralanmalara neden olur. Sıçanlarda tek taraflı bir L5-S2 ventral kök avülsiyon hasarı, cauda equina ve konus medullaris kısmı bir lezyonu taklit eder.

Chang ve arkadaşları. L5-S2'nin ventral köklerinin unilateral avülsiyonundan 12 hafta sonra işeme verimliliğinin azaldığını gözlemlemişlerdir. (sham-çalışılan sıçanlarda %76'ya karşılık %55 oranında). Ayrıca ameliyat sonrası maksimum intravezikal basınç 67 cm H₂O'den 38 cm H₂O'ye düşmüştür.

6a3) Lomber Kanal Stenozu Modeli

Lomber kanal stenozu (LCS) olan hastaların %80'ine varan oranlarda AÜSS ve kadınların %25'inde LCS ve AÜSS ile üriner retansiyon gelişmektedir.

Sekido ve arkadaşları, L5-L6 epidural boşluğa küçük bir parça silikon lastik yerleştirerek kauda equinianın mekanik kompresyonunu takiben DU için bir sıçan modelini tarif etmişlerdir. Mekanik kompresyon, işeme ile ilişkili hem afferent hem de efferent spinal sinirlerin dejenerasyonuna neden olur. Hayvan modeli hem azaltılmış işeme verimliliği hem de azaltılmış detrusör kontraktilesini sergiler. Yazarlar rezidü idrar miktarı ve işeme sırasındaki maksimal intravezikal basıncı değerlendirerek, sıçanlarda AÜSS değerlendirmişlerdir. Ameliyattan on dört gün sonra maksimum intravezikal basınç %60 oranında azalırken, işeme hacimleri %94 azalmıştır. RV, sham hayvanlarında 0.07 ml, LCS hayvanlarında 1.40 ml'ye çıkmıştır. Wang ve arkadaşları ise LCS sonrası 2 haftada akontraktıl mesaneyi, LCS sonrası 4 haftada ortaya çıkan küçük ampitüdü işemeye neden olmayan kasılmaları gözlemlemişlerdir.

6a4) Spinal Kord Transeksiyonu

Young ve arkadaşları sıçanlarda DU için yeni bir modeli tanımlamışlardır. Bu modelde, sıçanlar T8 seviyesinde cerrahi omurilik transeksiyonuna (SCT) maruz kalmaktadır. SCT sıçanlarından izole edilen düz kas şeritleri, sham kontrollerinden daha uzun süre ve daha düşük frekansta otonom kontraksiyon sergilemiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, DU'ya sahip olan SCT sıçanlarındaki otonom detrusör kasılmalarının genliği, kontrol farelerinden alınanlarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalmamıştır. Ayrıca, izole detrusör şeritlerinin TRPV4 agonisti GSK1016790A'ya inotropik tepkileri, SCT ve sham grubundaki sıçanlar arasında karşılaştırılabilir sonuçlar vermiştir. Bu da SCT sıçanlarında mesane kasılmasının korunduğunu düşündürmüştür. Bu verilerden yazarlar, DU'da (en azından nörojenik modelinde) kasılma mekanizmasının işlevinin korunduğu sonucuna varmışlardır.

6b) Periferik Sinir Hasarı Modeli

6b1) Pelvik Sinir Hasarı

Pelvik sinirler detrusörün preganglionik parasempatik sinirlerini ve detrusörün afferent duysal sinir liflerini içerir.

İyatrojenik YAM sıklıkla pelvik organ cerrahisinin neden olduğu pelvik sinir hasarı (PNI) ile ilişkilidir. Hayvan modellerinde düz bir mosquito klemp ile yetişkin dişi sıçanlarda iki taraflı pelvik sinir ezmesi gerçekleştirilerek YAM modeli oluşturulabilir. Klemp, her iki pelvik siniri 30 saniye süreyle ezmek için kullanılır. Her pelvik sinirin ana pelvik gangliyonuna girişi proksimal olarak ezilir. Pelvik sinir yaralanması modelinde, sinir hasarından 1 hafta sonra yapılan sistometride mesane kapasitesinde önemli artışlara neden olmuştur. Model artmış RV ve sistometride maksimum işeme basıncı ve işeme verimliliğinde azalmaya neden olmaktadır.

Castiglione ve arkadaşları bilateral PNI takiben hayvanların %73'ünde yaralanmadan 10 gün sonra taşma inkontinansı sergileyen mesane disfonksiyonunu gözlemlemiştir.

Ayrıca pudendal sinir hasarında benzer sonuçlar verebilir. Her ne kadar bilateral pudendal sinir hasarı tipik olarak stres üriner inkontinans için bir hayvan modeliyse de, çoklu çalışmalar pudendal sinir hasarını takiben azalmış VV ve kasılma amplitüdleriyle birlikte daha yüksek RV bildirmektedir.

6b2) Tibial Sinir Hasarı

Yakın zamanda hayvanlarda yeni bir YAM modeli bildirilmiştir. Kedilerde, tibial sinirde somatik afferent aksonların yoğun ve uzamış uyarımı ile YAM indüklenmiştir. A-kloraloz anestezisi altında yedi kedi, 30 dakikalık sürede 4-6 kat eşik yoğunluğunda tekrar tekrar (3-8 kez) tibial sinir uyarımı yapılmıştır. Uzamış (1.5-4 saat) ve yoğun (4-6T) tibial sinir uyarımı sonrası, işeme refleksinde tam süpresyon altı kedide meydana

gelmiştir. Bir kedide ise mesane kapasitesinde %150 artış ve işeme kasılması amplitüdünde %50'ye varan azalma saptanmıştır. Sonuç olarak, tibial sinirdeki somatik afferent aksonların uzun süreli ve yoğun aktivasyonunun, miksiyonu kontrol eden merkezi refleks mekanizmalarını baskılayabildiğini ve YAM modeli olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

6b3) Diyabetik Mesane Disfonksiyonu (DBD) ve YAM Modelleri

Diyabetik mesane disfonksiyonunun etiyolojisi fonksiyonel olarak çok yönlüdür. Bu modelde mesanenin hem detrusör hem de nörojenik bileşenlerinde morfolometrik değişiklikler bulunur. Ayrıca uretra ve ürotelyumun bozulması da tanımlanmaktadır.

Diyabetik mesane disfonksiyonu hem tip I hem de II DM'da azalmış duyu ve artan mesane kapasitesi gibi hem depolama hem de işeme problemlerini içerir. Streptozotosin (STZ) enjeksiyonu DM'nin uyarılması için klasik bir modeldir. STZ sonrası hayvanlar başlangıçta sistometride detrusör aşırı aktivitesine benzer değişiklikler gösterir ve bu değişiklikler zamana bağlı olarak farklılaşmaktadır. Bu modelde 12 haftada dekompanse edilen evre uzun süreli hiperglisemi ile ilişkili oksidatif stres ve poliüri sonucu YAM'nin özelliklerini göstermektedir. STZ kaynaklı diyabetik mesane disfonksiyonu artmış mesane ağırlığı ve RV ile ilişkilidir ki buda mesanenin azalmış boşalmasını göstermektedir. STZ sıçanları, STZ indüksiyonundan sonra normal hayvanlara (0,01 ml) kıyasla 6 haftada (0,11 ml) ve 12 haftada (0,22 ml) artmış RV göstermektedir. VV, normal hayvanlarda 6 haftada %98'den %93'e ve STZ indüksiyonundan sonra 12 haftada %88'e düşmüştür.

Genetik olarak tasarlanmış fare modelleri de diyabetik mesane disfonksiyonu modelinde YAM ile ilgili özellikleri göstermiştir. İnsülin re-

septör substrat 1 (IRS1) ve IRS2'nin karaciğere spesifik delesyonu, 5 haftalık yaşam süresi boyunca hiperglisemiye yol açar ve tip II diyabetes mellituslu insanlarda patolojik değişiklikler yapan mesane disfonksiyonu gelişimi neden olur. IRS1 / IRS2 çift devre dışı bırakma modeli, genç farelerde mesane AAM'ni, ancak daha yaşlı hayvanlarda YAM'ni gösterir.

YAM, Yaşlı diyabetik farelerden alınan kas şeritlerinde yaş uyumlu kontrollere kıyasla, elektrik alan stimülasyonu, karbakol ve KCl aracılı depolarizasyona yanıt olarak, azaltılmış kuvvet kasılması oluşturma ile karakterize edilmiştir.

6b4) Diyabetin İndüklediği Üretral Disfonksiyon

Üretral disfonksiyon diyabetin bir sonucudur. Üretranın nitrik oksit aracılı gevşemesinin diyabette bozulduğu düşünülmektedir.

7. Transgenik Modeller

Genetik mühendisliği tekniklerindeki ilerlemeler, araştırma için genetik olarak değiştirilmiş organizmaların kullanımının artmasına yol açmıştır. Birkaç transgenik fare modeli ürotelyumdaki moleküler değişikliklerin, periferel innervasyonun ve düz kasın işeme fonksiyonunda önemli değişikliklere yol açtığını göstermiştir.

YAM'nin patofizyolojisini belirlemek için insan çalışmaları etik kaygılar göz önüne alındığında, klinisyenleri hayvan modelleri kullanımına yönlendirmektedir. Fakat günümüzde halen YAM için uygun bir hayvan modeli oluşturulmamıştır, çünkü YAM multifaktöriyel mekanizmaları barındırır ve patofizyolojisi henüz net olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca, hayvanlar ve insanlar arasındaki tür farklılıkları dikkate alınmalıdır. Patofizyolojik anlayışı iletmek ve YAM için farmakoterapi dahil tıbbi müdahale-

ler geliştirmek için çeşitli hayvan modellerinin daha da geliştirilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: report from the Standardisation Subcommittee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn.* 2002;21(2):167-78.
2. Chapple CR, Osman NI, Birder L, van Koeveeringe GA, Oelke M, Nitti VW, et al. The underactive bladder: a new clinical concept?. *Eur Urol.* 2015;68(3):351-3.
3. Jeong SJ, Kim HJ, Lee YJ, Lee JK, Lee BK, Choo YM, et al. Prevalence and clinical features of detrusor underactivity among elderly with lower urinary tract symptoms: a comparison between men and women. *Korean J Urol* 2012;53:342e8.
4. Aizawa N, Igawa Y. Pathophysiology of the underactive bladder. *Investig Clin Urol.* 2017;58(Suppl 2):S82-S89.
5. Tyagi P, Smith PP, Kuchel GA, de Groat WC, Birder LA, Chermansky CJ, et al. Pathophysiology and animal modeling of underactive bladder. *Int Urol Nephrol.* 2014;46 Suppl 1:S11-21.
6. Zimmern P, Litman HJ, Nager CW, Lemack GE, Richter HE, Sirls L, et al. Effect of aging on storage and voiding function in women with stress predominant urinary incontinence. *J Urol.* 2014;192(2):464-8.
7. Lai HH, Boone TB, Thompson TC, Smith CP, Somogyi GT. Using caveolin-1 knockout mouse to study impaired detrusor contractility and disrupted muscarinic activity in the aging bladder. *Urology.* 2007;69(2):407-11.
8. Smith PP, DeAngelis A, Kuchel GA. Detrusor expulsive strength is preserved, but responsiveness to bladder filling and urinary sensitivity is diminished in the aging mouse. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;1;302(5):R577-86.
9. Chai TC, Andersson KE, Tuttle JB, Steers WD. Altered neural control of micturition in the aged F344 rat. *Urol Res.* 2000;28(5):348-54.
10. Hotta H, Morrison JF, Sato A, Uchida S. The effects of aging on the rat bladder and its innervation. *Jpn J Physiol.* 1995;45(5):823-36.
11. Hotta H, Uchida S. Aging of the autonomic nervous system and possible improvements in autonomic activity using somatic afferent stimulation. *Geriatr Gerontol Int.* 2010;10 Suppl 1:S127-36.
12. Mohammed HA, Santer RM. Distribution and changes with age of calcitonin gene related peptide- and substance P-immunoreactive nerves of the rat urinary bladder and lumbosacral sensory neurons. *Eur J Morphol.* 2002;40(5):293-301.

13. Lluel P, Deplanne V, Heudes D, Bruneval P, Palea S. Age-related changes in urethrovesical coordination in male rats: relationship with bladder instability?. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003;284(5):R1287-95.
14. Lluel P, Palea S, Barras M, Grandadam F, Heudes D, Bruneval P, et al. Functional and morphological modifications of the urinary bladder in aging female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;278(4):R964-R972.
15. Mori K, Noguchi M, Tobu S, Sato F, Mimata H, Tyagi P, et al. Age-related changes in bladder function with altered angiotensin II receptor mechanisms in rats. *Neurourol Urodyn*. 2016;35(8):908-913.
16. Oshiro T, Miyazato M, Saito S. Relationship between connexin43-derived gap junction proteins in the bladder and age-related detrusor underactivity in rats. *Life Sci*. 2014;22;116(1):37-42.
17. Yoshida M, Miyamae K, Iwashita H, Otani M, Inadome A. Management of detrusor dysfunction in the elderly: changes in acetylcholine and adenosine triphosphate release during aging. *Urology*. 2004;63(3 Suppl 1):17-23.
18. Kim DK, Kaufman J, Guan Z, Tyagi P, Yoshimura N, Killinger KA, et al. Cystometric changes in pressure-guided acute distension rat model of the underactive bladder™. *Tzu Chi Med J* 2009;21(2):136-139.
19. Somogyi GT, Yokoyama T, Szell EA, Smith CP, de Groat WC, Huard J, et al. Effect of cryoinjury on the contractile parameters of bladder strips: a model of impaired detrusor contractility. *Brain Res Bull*. 2002;15;59(1):23-8.
20. Murakami S, Yoshida M, Masunaga K, Maeda Y, Ueda S. Change in acetylcholine release from rat bladder with partial outlet obstruction. *BJU Int*. 200;101(5):633-9.
21. Osman NI, Chapple CR. Contemporary concepts in the aetiopathogenesis of detrusor underactivity. *Nat Rev Urol* 2014;11(11):639-648.
22. O'Connor LT Jr, Vaughan ED Jr, Felsen D. In vivo cystometric evaluation of progressive bladder outlet obstruction in rats. *J Urol*. 1997;158(2):631-5.
23. Liu F, Yao L, Yuan J, Liu H, Yang X, Qin W, et al. Protective effects of inosine on urinary bladder function in rats with partial bladder outlet obstruction. *Urology* 2009;73(6):1417-1422.
24. Yazaki J, Aikawa K, Shishido K, Yanagida T, Nomiya M, Ishibashi K, et al. Alpha1-adrenoceptor antagonists improve bladder storage function through reduction of afferent activity in rats with bladder outlet obstruction. *Neurourol Urodyn* 2011;30(3):461-467.
25. Pandita RK, Fujiwara M, Alm P, Andersson KE. Cystometric evaluation of bladder function in non-anesthetized mice with and without bladder outlet obstruction. *J Urol* 200;164(4):1385-1389.
26. Fu LW, Longhurst JC. Role of 5 HT3 receptors in activation of abdominal sympathetic C fibre afferents during ischaemia in cats. *J Physiol*. 1998;15;509 (Pt 3):729-40.
27. Yoshida M, Masunaga K, Nagata T, Satoji Y, Shiomi M. The effects of chronic hyperlipidemia on bladder function in Myocardial infarction prone Watanabe heritable hyperlipidemic (WHHLMI) rabbits. *Neurourol Urodyn*. 2010;29(7):1350-4.
28. Gammie A, Kaper M, Dorrepaal C, Kos T, Abrams P. Signs and symptoms of detrusor underactivity: an analysis of clinical presentation and urodynamic tests from a large group of patients undergoing pressure flow studies. *Eur Urol*. 2016;69(2):361-9.
29. Mix E, Meyer-Rienecker H, Hartung HP, Zetzl UK. Animal models of multiple sclerosis-potentials and limitations. *Prog Neurobiol*. 2010;92(3):386-404.
30. Mizusawa H, Igawa Y, Nishizawa O, Ichikawa M, Ito M, Andersson KE. A rat model for investigation of bladder dysfunction associated with demyelinating disease resembling multiple sclerosis. *Neurourol Urodyn*. 2000;19(6):689-99.
31. Chang HH, Havton LA. Serotonergic 5-HT(1A) receptor agonist (8-OH-DPAT) ameliorates impaired micturition reflexes in a chronic ventral root avulsion model of incomplete cauda equina/conus medullaris injury. *Exp Neurol* 2013;239:210-217.
32. Sekido N, Jyoraku A, Okada H, Wakamatsu D, Matsuya H, Nishiyama H. A novel animal model of underactive bladder: analysis of lower urinary tract function in a rat lumbar canal stenosis model. *Neurourol Urodyn* 2012;31(7):1190-1196.
33. Wang HJ, Tyagi P, Chuang YC, Yoshimura N, Huang CC, Chancellor MB. Pharmacologic and molecular characterization of underactive bladder induced by lumbar canal stenosis. *Urology* 2015;85(6):1284-1290.
34. Young JS, Johnston L, Soubrane C, McCloskey KD, McMurray G, Eccles R, et al. The passive and active contractile properties of the neurogenic, underactive bladder. *BJU Int*. 2013;111(2):355-61.
35. Fowler CJ, Griffiths D, de Groat WC. The neural control of micturition. *Nat Rev Neurosci* 2008;9(6):453-466.
36. Castiglione F, Hedlund P, Van der Aa F, Bivalacqua TJ, Rigatti P, Van Poppel H, et al. Intratunical injection of human adipose tissue-derived stem cells prevents fibrosis and is associated with improved erectile function in a rat model of Peyronie's disease. *Eur Urol* 2013;63(3):551-560.
37. Chen SC, Cheng CL, Fan WJ, Chen JJ, Lai CH, Peng CW. Effect of a 5-HT1A receptor agonist (8-OH-DPAT) on external urethral sphincter activity in a rat model of pudendal nerve injury. *Am J Physiol Regul Integr Comput Physiol* 2011;301(1):R225- R235.

38. Peng CW, Chen JJ, Chang HY, de Groat WC, Cheng CL. External urethral sphincter activity in a rat model of pudendal nerve injury. *Neurourol Urodyn* 2006;25(4):388–396.
39. Daneshgari F, Liu G, Birder L, Hanna-Mitchell AT, Chacko S. Diabetic bladder dysfunction: current translational knowledge. *J Urol* 2009;182(6 Suppl):S18–S26.
40. Goins WF, Yoshimura N, Phelan MW, Yokoyama T, Fraser MO, Ozawa H, et al. Herpes simplex virus mediated nerve growth factor expression in bladder and afferent neurons: potential treatment for diabetic bladder dysfunction. *J Urol*. 2001;165(5):174–54.
41. Gray MA, Wang CC, Sacks MS, Yoshimura N, Chancellor MB, Nagatomi J. Time dependent alterations of select genes in streptozotocin-induced diabetic rat bladder. *Urology*. 2008;71(6):1214–9.
42. Sasaki K, Chancellor MB, Goins WF, Phelan MW, Glorioso JC, de Groat WC, et al. Gene therapy using replication-defective herpes simplex virus vectors expressing nerve growth factor in a rat model of diabetic cystopathy. *Diabetes* 2004;53(10):2723–2730.
43. Sasaki K, Chancellor MB, Phelan MW, Yokoyama T, Fraser MO, Seki S, et al. Diabetic cystopathy correlates with a long-term decrease in nerve growth factor levels in the bladder and lumbosacral dorsal root ganglia. *J Urol* 2002;168(3):1259–1264.
44. Sasaki K, Yoshimura N, Chancellor MB. Implications of diabetes mellitus in urology. *Urol Clin North Am* 2003;30(1):1–12.
45. Dong XC, Copps KD, Guo S, Li Y, Kollipara R, DePinho RA, et al. Inactivation of hepatic Foxo1 by insulin signaling is required for adaptive nutrient homeostasis and endocrine growth regulation. *Cell Metab* 2008;8(1):65–76.
46. Cheng Z, Guo S, Copps K, Dong X, Kollipara R, Rodgers JT, et al. Foxo1 integrates insulin signaling with mitochondrial function in the liver. *Nat Med* 2009;15(11):1307–1311.
47. Wang Z, Cheng Z, Cristofaro V, Li J, Xiao X, Gomez P, et al. Inhibition of TNF-alpha improves the bladder dysfunction that is associated with type 2 diabetes. *Diabetes* 2012;61(8):2134–2145.
48. Yang Z, Dolber PC, Fraser MO. Differential vulnerabilities of urethral afferents in diabetes and discovery of a novel urethra-urethra reflex. *Am J Physiol Renal Physiol* 298(1):F118–F124.
49. Torimoto K, Fraser MO, Hirao Y, De Groat WC, Chancellor MB, Yoshimura N. Urethral dysfunction in diabetic rats. *J Urol* 2004;171(5):1959–1964.
50. Torimoto K, Hirao Y, Matsuyoshi H, de Groat WC, Chancellor MB, Yoshimura N. alpha1-Adrenergic mechanism in diabetic urethral dysfunction in rats. *J Urol* 2005;173(3):1027–1032.

Stres Üriner İnkontinans

26

Deniz Noyan ÖZLÜ, Emre ŞAM, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

GİRİŞ

Üriner inkontinans (Üİ), Uluslararası Kontinans Derneği'nin tanımına göre idrarın istemsiz kaybı olarak tanımlanır ve stres üriner inkontinans (SÜİ), urge üriner inkontinans ve mikst üriner inkontinans olarak sınıflandırılır. Üİ kadınlar arasında önemli bir sağlık sorunudur ve inkontinansın tanımına ve yaşa göre prevalansı %3-55 arasında değişir.

SÜİ, efor, öksürme ve hapşırma gibi intraabdominal basıncın artmasının bir sonucu olarak idrar kaçırma olarak tanımlanır. Detrüsor kontraksiyonunun yokluğunda intraabdominal basıncın aniden artmasından kaynaklanır ve hem intrensek sfinkter disfonksiyonu hem de üretral hipermobilité ile ilişkilidir. SÜİ, sosyal hayat ve çalışma hayatı üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. SÜİ için risk faktörleri; ileri yaş, beyaz ırk, sigara, diyabet, ileri yaşta gebelik ve multiparite, obezite, östrojen eksikliği, vajinal doğum, enstrümental doğum, kollajen hastalığı, nöropatiler, histerektomi ve intraabdominal basınç artışıyla ilişkili durumlardır.

Hiçbir hayvan modeli, SÜİ için insan fizyolojisini ve çok faktörlü temelini tamamen simüle edemez. Bununla birlikte, SÜİ patofizyolojisini daha iyi anlamak ve potansiyel tedavilerin kli-

nik öncesi test edilmesini sağlamak için hayvan modelleri kullanılabilir. Ayrıca SÜİ'nin risk faktörlerinin mekanizmalarını değerlendirmemizi ve daha iyi yönetim stratejileri geliştirmemizi sağlar. Hayvan modellerinde SÜİ belirleme ve karakterize etmek için birkaç yöntem son on yılda oluşturulmuş ve geliştirilmiştir.

HAYVAN MODELLERİ

SÜİ için geliştirilmiş hayvan modellerini vajinal distansiyon (VD), pudendal sinir hasarı, üretrolizis, periüretral koterizasyon, üretral sfinkterotomi, puboüretral ligament (PUL) hasarı ve pudendal sinir transeksiyonu olarak sınıflayabiliriz.

Vajinal Distansiyon (VD)

Doğum yaralanmalarını simüle etmek için kullanılan VD yöntemi Lin ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir ve tanımlandığı günden beri doğum eylemine bağlı olarak yaralanma ve doku iyileşme mekanizmalarını incelemek için en çok kullanılan model haline gelmiştir. Bu yöntemde, foley kateter, anestezi altında sıçanın vajinasına yerleştirilip şişirildikten sonra, belirli bir süre boyunca bekletilir. VD sağlandıktan sonra üretral

direnç azalır ve bu azalma hapşırma testi, leak point pressure (LPP) testi ve üretral kapanma basıncı testi ile teyit edilir. Üretral dirençte azalma balonun vajende bırakıldığı süreyle korele olarak birkaç haftada iyileşir.

Birçok araştırmacı, farklı boyuttaki kateter veya balonları kullanarak veya distansiyon süresini değiştirerek VD yöntemini değiştirmiştir. Bununla birlikte, üretral dirençte azalma, üretral disfonksiyon, pelvik kaslarda kontinans ile ilişkili yapılarda nöromüsküler hasar ve ödem gibi sonuçlar hep benzer olmuştur. Kateter büyüklüğü ve balon hacmi seçimi, sıçanın yaşı, ağırlığı ve üreme durumu veya belirli bir çalışma için istenen hasar seviyesine bağlı olmalıdır.

Örneğin bu yöntemin ilk geliştiricisi olan Lin ve ark. başlangıçta, sıçanlarda 12Fr Foley kateteri 2 cc şişirmiş ve 4 saat boyunca bırakmışlardır. Sievert ve ark. ise 22Fr kateteri 5cc şişirerek 3 saat boyunca distansiyon uygulamışlardır. Buna ek olarak, sıçanı masanın kenarında prone pozisyonda yerleştirip, simfizisi hemen masanın ucunda kalacak şekilde, 130 gr ağırlığındaki VD kateterini vajinal doğum sırasında dokuların gerilmesini simüle etmek için yerleştirmişlerdir.

Çalışmalarda virgin veya postpartum dönemdeki sıçanlar kullanılabilir. Her ne kadar iki yöntem arasında bir karşılaştırma yapılmamış olsa da; sonuçlar, VD sonrası üretral dirençte öngörülebilir bir azalmanın her iki yöntemde de benzer olduğunu göstermektedir.

VD uygulandığında kontinanstaki sorumlu kaslar ve sinirler, dilate balon ile pelvis özellikle simfizis pubis arasında sıkışarak zarar görürler. VD'den yaklaşık 24 saat sonra levator kasında ödem geliştiği, vajen ve üretra arasındaki düz kasların da zarar görüp incelendiğini gözlemek mümkündür. Üretraya giden kan akımı azalır ve böylece üretra, vajina ve mesanede hipoksi gelişir, ki bu hipoksik yaralanmanın SÜİ'nin gerçekleşmesini sağlayan mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir.

Kadınlarda SÜİ etiolojisinde doğum travması en büyük risk faktörlerinden biri olduğundan, doğumdaki anne yaralanmalarını simüle eden VD şu anda üretral yaralanma ve iyileşme mekanizmalarının yanı sıra patofizyolojisini incelemek için en iyi modeli sunmaktadır. Bu model ayrıca, SÜİ'nin fonksiyonel iyileşmesini hızlandırmak için potansiyel tedavileri araştırmamıza ve geliştirmemize olanak tanır, çünkü diğer yaralanmalarla birlikte vajinal doğum yaralanmasından sonra yetersiz iyileşme SÜİ'nin daha sonraki gelişimi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Bununla birlikte, bu modelin önemli bir kısıtlaması, VD'ye bağlı bozuklukların kısa süreli olmasıdır. VD süresine bağlı olarak 10 gün ile 6 haftaya kadar iyileşir. Bu yüzden, VD ile 6 haftadan sonra SÜİ tedavilerinin etkinliğini test etmek zordur.

Pudental Sinir Yaralanması

Pudental sinir, kontinans sırasında tonik aktivite de dahil olmak üzere eksternal üretral sfinkter (EUS) aktivitesini kontrol eder ve idrar kontrol mekanizmasını güçlendirir. Alcock kanalında iskiorektal fossada, özellikle sakrospinöz ligament ve sakrotuberöz ligament arasında ilerlerken vajinal doğum sırasında sıkışabilir ve yaralanabilir.

Kerns ve arkadaşları, bu hasarı simüle eden bir hayvan modeli geliştirmiştir. Pudental sinir ezilmesi (PSE) yönteminde, pudental sinire dorsal yaklaşımla erişilir ve daha sonra bilateral olarak iskiorektal fossada pelvise yeniden girdiği yerde ezilir. Doğum yaralanmasını taklit için pudental sinirlerin üç dalı ezilir: duyu dalı, EUS motor dalı ve eksternal anal sfinkterin motor dalı.

Damaser ve arkadaşları dişi sıçanlarda bilateral PSE modelini uygulamışlardır. 2 haftaya kadar LPP'nin azaldığını, fakat aynı zamanda ikinci haftada rejenerasyon bulgularının olduğunu belirlemişlerdir. Altı hafta sonra pudental sinir ve eksternal üretral sfinkterde nörorejene-

rasyon gözlenmiştir, LPP tekrardan yükselme eğilimde olup, sinir fonksiyonları iyileşmekte ve üretrada kompensatuar değişiklikler meydana gelmektedir.

Dişi sıçandaki PSE ve SÜİ fare modeli, eksternal üretral sfinkterde rejenerasyon ve iyileşmenin takip ettiği bir periferel nörojenik ve fonkiyonel defisit ile sonuçlanır. Pudental siniri ve eksternal üretral sfinkterdeki nöromüsküler iyileşmeyi gözlemlememizi sağlar ve nöromüsküler iyileşme mekanizmalarını araştırmak, nörodejeneratif ajanları veya diğer potansiyel tedavileri test etmek için yararlıdır. Ayrıca, diyabet, yaşlanma, obezite veya genetik manipülasyon gibi diğer patolojilerle birlikte, SÜİ için artmış risk altındaki popülasyonlarda yaralanma ve iyileşme mekanizmasını değerlendirmek için de kullanılabilir. Bu yöntemin kısıtlaması VD'de olduğu gibi kısa etki süresidir.

Vajinal Distansiyon ve Pudental Sinir Ezilmesi: Kombinasyon Modeli

Doğum travması sırasında hem kaslar hem de sinirler yaralanabilir. Bu iki yaralanma, pelvik tabandaki yaralanmalarla birlikte, geç dönemde SÜİ gelişimi ile kuvvetle ilişkilidir. Bu nedenle, doğum yaralanmasından sonra SÜİ mekanizmasını daha iyi anlamak için, hem VD hem de PSE, SÜİ için farklı risk faktörleri arasındaki etkileşimi araştırmak üzere birbirleriyle kombinasyon halinde uygulanmıştır. Bu kombinasyon vajinal doğum nedeniyle oluşan yaralanmaları en iyi şekilde taklit edebilir. Eksternal üretral sfinkterde EMG ve pudental sinir motor dalı potansiyelinin hem LPP testi hem de işeme ile kaydedilen fonksiyonel iyileşmesi, PSE + VD sonrası, tek başına PSE veya VD'ye göre daha yavaş gerçekleşir.

VD ayrıca, etkileşimlerini incelemek için diyabetes mellitus veya ooferektomi gibi diğer patofizyolojiler ile birleştirilmiştir.

Üretrolizis

Rodriguez ve arkadaşları tarafından 2005 yılında sıçanlarda geliştirilen üretrolizis yöntemi alt abdominal orta hat insizyonu ile yapılır. Mesane ve üretra belirlendikten sonra, proksimal üretra endopelvik fasya insizyonu ile çevresel olarak ayrılır. Kalan üretra daha sonra anterior vajina ve pubis'ten ayrılır. Bu da işlemde 24 hafta sonrasına kadar hem LPP'de hem de retrograd üretral perfüzyon basıncında (RUPP) belirgin bir düşüş oluşturur. Pauwels ve arkadaşları bu prosedürü, üretral transpozisyonla, yani üretra ve vajinayı, abdomen cildinden cerrahi olarak serbestleştirerek daha da geliştirmiştir. Skaff ve arkadaşları tavşanlarda üretrolizis ile SÜİ'nin dayanıklı bir hayvan modelini üretmişlerdir. Bu da LPP'de belirgin bir düşüş ve histolojik analize göre 12 haftaya kadar düz kas yoğunluğunda %22 azalma ile sonuçlanmıştır.

Üretrolizis modeli, üretral intrinsik sfinkter yetmezliği veya yaşa bağlı kaslarda gerçekleşen apoptozis ile ilişkili SÜİ'yi taklit edebilir. Üretrolizis bağ dokusu hasarına ve anatomik desteğin belirgin bir şekilde azalmasına neden olur ve böylece inkontinansa karşı üretra direncinde uzun süreli veya kalıcı bir düşüşe neden olur. Üretral hiper mobilitesi olan SÜİ'de patogenezin ve tedavinin araştırılması için uygun olabilir ve sling prosedürlerinin, enjeksiyon tedavilerinin ve diğer potansiyel tedavilerin klinik öncesi değerlendirilmesi için kullanılabilir.

Puboüretral Ligaman (PUL) Yaralanması

Puboüretral ligamanın transeksiyonu ile yaratılan hayvan modelinde, üretranın yapısal desteği yok edilir. Kefer ve arkadaşları dişi sıçanlarda PUL'in transeksiyonu ile yeni bir SÜİ modeli tanımladılar. Sıçanın PUL'unu orta üretra ile simfizisin arkası arasından kestiler ve dorsal insizyonla bilateral iskiorektal açıklıkta pudental siniri

kestiler. LPP, suprapubik PUL transeksiyonundan sonra kısa vadede (10 gün) ve uzun vadede (28 gün) önemli ölçüde azalma tespit etmiştir.

PUL ile üretrolizis modelinin benzerlikleri vardır, her ikisinde üretral mobilite ile sonuçlanır, her iki modelde de ligamanların transeksiyonu vasküler, sinir ve muhtemelen kas yapılarına zarar verebilir.

Üretranın hipermobilitasını tedavi etmeye yönelik uygulamalar açısından bu model faydalı olabilir.

Pudental Sinir Transeksiyonu (PST)

PST nispeten hızlı bir şekilde iyileştiğinden, pudental sinire kalıcı hasar vermek için bilateral pudental sinir transeksiyonu kullanılmıştır. 2003'de Kamo ve ark, bilateral pudental sinirleri, iliokoksigeus ve pubokoksigeus kaslarının sinirlerini transekte edip (pelvik sinirlerin ve hipogastrik sinirlerin viseral dallarının korumuşlardır), orta üretra seviyesindeki kas cevabında %80 azalma oluşturarak bir SÜİ modeli geliştirmişlerdir. Pudental sinirin ezilmesi yerine transeksiyonu dışında, prosedür PSE ile aynıdır. Nörorejenerasyonun önlenmesi için transeksiyon bölgesinden yaklaşık 2 mm uzunluğunda bir sinir çıkarılır.

Peng ve ark. sıçanlarda unilateral ve bilateral PST'nin etkilerini inceledikleri çalışmalarında 6 hafta sonra, tek taraflı PST uygulanan sıçanlarda LPP ve çizgili kas atrofisinde belirgin bir azalma gözlemlenildi. Bilateral PNT grubunda işeme etkinliğine dayalı olarak bu azalma daha da belirgin olmuştur.

Kediler, köpekler ve daha yakın zamanda primatlar üzerinde de SÜİ hayvan modelleri geliştirilmiştir.

Bu model, radikal prostat cerrahisinde veya üretral denervasyonda ve/veya vajinal doğum sırasında meydana gelebilecek pudental sinirde ve kas hasarında ortaya çıkan nörojenik hasarı temsil etme avantajını sunmaktadır.

Periüretral Koterizasyon

Koterizasyon ile de üretrolizis gibi SÜİ yaratılabilir, ancak fiziksel yıkım yerine ısı kullanılır. Chermansky ve arkadaşları tarafından 2004 yılında tanımlanan bu yöntemde transüretral kateter ile transabdominal yolla sıçanın mesane boynundan simfisiz pubisin üst yüzüne 1 cm'lik periüretral bölgeye yüksek ısı ile (1204° C) 30 sn boyunca koter uygulanır. İşlemden 2 hafta sonra LPP'de düşme gerçekleşir ve 16 haftalık bir etkinlik sağlanır. Özellikle ciddi ve/veya komplike SÜİ tedavisinde amaçlanan potansiyel müdahalelerin araştırılması için yararlıdır. Aynı zamanda bu yöntem erkeklerde prostatektomi sırasında veya kadınlarda üretra ve anterior vajinaya yaklaşan herhangi bir prosedürde olduğu gibi, cerrahi işlem sırasında yanlılıkla meydana gelebilecek olan üretral sfinkter hasarını taklit eder. Bu yüzden cerrahi sonrası SÜİ ile ilgili yapılacak çalışmalarda bu yöntem kullanılabilir.

Üretral Sfinkterektomi

Üretral sfinkterektomi, sfinkterde geri dönüşü olmayan hasarın yaratılmasının amaçlandığı, Eberli ve ark. tarafından geliştirilmiş bir köpek modelidir. Aşağı yerleşimli bir orta hat abdominal insizyondan hem düz hem de çizgili kasları içeren çevresel sfinkter kasının yaklaşık dörtte biri çıkarılır. Böylece LPP'de cerrahi sonrası 7 aya kadar süren azalma gerçekleşmiş ve idrar kaçırmaya karşı üretral direnç belirgin azalmış olur.

Bu model, SÜİ'nin çok yönlü etiolojisini temsil etmez, ancak radikal prostatektominin majör postoperatif komplikasyonunun, üretra çevresindeki kas, sinir, kan damarlarının zedelenmesi olduğu da bilinmelidir. Vajinal doğum da çeşitli derecelerde nöromüsküler hasara neden olur.

Bu yöntemde sfinkter kasını mikrocerrahi olarak çıkarılmasının; uzun süreli hasar oluşması, nispeten basit ve tekrarlanabilir olması gibi avantajları vardır.

Kaynaklar

- Haylen BT, de Ridder D, Freeman RM, Swift SE, Bergmans B, Lee J, et al. An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. *Int Urogynecol J*. 2010;21(1):5-26.
- Thom D. Variation in estimates of urinary incontinence prevalence in the community: effects of differences in definition, population characteristics, and study type. *J Am Geriatr Soc*. 1998;46(4):473-480.
- Capobianco G, Madonia M, Morelli S, Dessole F, De Vita D, Cherchi PL, et al. Management of female stress urinary incontinence: A care pathway and update. *Maturitas*. 2018;109:32-38.
- McGuire EJ. Pathophysiology of stress urinary incontinence. *Rev Urol*. 2004;6 Suppl 5:S11-7.
- Hunskar S, Burgio K, Diokno A, Herzog AR, Hjälmås K, Lapitan MC. Epidemiology and natural history of urinary incontinence in women. *Urology*. 2003;62(4 Suppl 1):16-23.
- Jiang HH, Pan HQ, Gustilo-Ashby MA, Gill B, Glaab J, Zaszczurynski P et al. Dual simulated childbirth injuries result in slowed recovery of pudendal nerve and urethral function. *Neurourol Urodyn* 2009;28:229-235.
- Jiang HH, Gustilo-Ashby AM, Salcedo LB, Pan HQ, Sybert DF, Butler RS et al. Electrophysiological function during voiding after simulated childbirth injuries. *Exp Neurol* 2009;215:342-348.
- Thomaz RP, Colla C, Darski C, Paiva LL. Influence of pelvic floor muscle fatigue on stress urinary incontinence: a systematic review. *Int Urogynecol J*. 2018;29(2):197-204.
- Kim JH, Huang X, Liu G, Moore C, Bena J, Damaser MS et al. Diabetes slows the recovery from urinary incontinence due to simulated childbirth in female rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2009;293:R950-R955.
- Pan HQ, Kerns JM, Lin DL, Sybert D, Steward J, Hoover CR et al. Dual simulated childbirth injury delays anatomic recovery. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F277-F283.
- Jiang HH, Damaser MS. Animal models of stress urinary incontinence. *Handb Exp Pharmacol*. 2011;(202):45-67.
- Hijaz A, Daneshgari F, Sievert KD, Damaser MS. Animal models of female stress urinary incontinence. *J Urol*. 2008;179(6):2103-2110.
- Gill BC, Damaser MS, Vasavada SP, Goldman HB. Stress incontinence in the era of regenerative medicine: reviewing the importance of the pudendal nerve. *J Urol*. 2013;190(1):22-28.
- Koike Y, Furuta A, Suzuki Y, Honda M, Naruoka T, Asano K, et al. Pathophysiology of urinary incontinence in murine models. *Int J Urol*. 2013;20(1):64-71.
- Sajadi KP, Gill BC, Damaser MS. Neurogenic aspects of stress urinary incontinence. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2010;22(5):425-429.
- Herrera-Imbroda B, Lara MF, Izeta A, Sievert KD, Hart ML. Stress urinary incontinence animal models as a tool to study cell-based regenerative therapies targeting the urethral sphincter. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015;82-83:106-116.
- Lin AS, Carrier S, Morgan DM, Lue TF. Effect of simulated birth trauma on the urinary continence mechanism in the rat. *Urology*. 1998;52(1):143-151.
- Kamo I, Kaiho Y, Canon TW, Chancellor MB, de Groat WC, Prantil RL, et al. Functional analysis of active urethral closure mechanisms under sneeze induced stress condition in a rat model of birth trauma. *J Urol*. 2006;176(6 Pt 1):2711-2715.
- Pan HQ, Kerns JM, Lin DL, Liu S, Esparza N, Damaser MS. Increased duration of simulated childbirth injuries results in increased time to recovery. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;292(4):R1738-1744.
- Phull HS, Pan HQ, Butler RS, Hansel DE, Damaser MS. Vulnerability of continence structures to injury by simulated childbirth. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011;301(3):F641-649.
- Petros PE. The pubourethral ligaments—an anatomical and histological study in the live patient. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 1998;9:154-157.
- Prantil RL, Jankowski RJ, Kaiho Y, de Groat WC, Chancellor MB, Yoshimura N, et al. Ex vivo biomechanical properties of the female urethra in a rat model of birth trauma. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292(4):F1229-1237.
- Prantil-Baun R, de Groat WC, Miyazato M, Chancellor MB, Yoshimura N, Vorp DA. Ex vivo biomechanical, functional, and immunohistochemical alterations of adrenergic responses in the female urethra in a rat model of birth trauma. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;299(2):F316-324.
- Vricella GJ, Tao M, Altuntas CZ, Liu G, Kavran M, Daneshgari F, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein 3 following simulated birth trauma in a murine model of obesity. *Urology*. 2010;76(6):1517.e12-7.
- Boncher N, Vricella G, Kavran M, Xiao N, Hijaz A. Setting a new standard: updating the vaginal distention translational model for stress urinary incontinence. *Neurourol Urodyn*. 2012;31(1):190-194.
- Sievert KD, Emre Bakircioglu M, Tsai T, Dahms SE, Nunes L, Lue TF. The effect of simulated birth trauma and/or ovariectomy on rodent continence mechanism. Part I: functional and structural change. *J Urol*. 2001;166(1):311-317.
- Sievert KD, Bakircioglu ME, Tsai T, Nunes L, Lue TF. The effect of labor and/or ovariectomy on rodent continence mechanism—the neuronal changes. *World J Urol*. 2004;22(4):244-250.
- Lin G, Shindel AW, Banie L, Deng D, Wang G, Hayashi N, et al. Molecular mechanisms related to parturi-

- tion-induced stress urinary incontinence. *Eur Urol*. 2009;55(5):1213-1222.
29. Hong SH, Piao S, Kim IG, Lee JY, Cho HJ, Kim SW, Hwang TK, Lee JY. Comparison of three types of stress urinary incontinence rat models: electrocauterization, pudendal denervation, and vaginal distension, *Urology* 2013;81:465 (e1-6).
 30. Park JM, Bloom DA, McGuire EJ. The guarding reflex revisited. *Br J Urol* 1997;80:940-945.
 31. Snooks SJ, Swash M, Mathers SE, Henry MM. Effect of vaginal delivery on the pelvic floor: a 5-year follow-up. *Br J Surg*. 1990;77(12):1358-1360.
 32. Woo LL, Hijaz A, Pan HQ, Kuang M, Rackley RR, Damaser MS. Simulated childbirth injuries in an inbred rat strain. *Neurourol Urodyn*. 2009;28(4):356-361.
 33. Snooks SJ, Swash M, Henry MM, Setchell M. Risk factors in childbirth causing damage to the pelvic floor innervation. *Int J Colorectal Dis*. 1986;1(1):20-24.
 34. Hijaz A, Daneshgari F, Cannon T, Damaser M(2004) Efficacy of a vaginal sling procedure in a rat model of stress urinary incontinence. *J Urol* 172(5 Pt 1):2065-2068.
 35. Kamo I, Torimoto K, Chancellor MB, de Groat WC, Yoshimura N. Urethral closure mechanisms under sneeze-induced stress condition in rats: a new animal model for evaluation of stress urinary incontinence. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003;285:R356-R365.
 36. Kerns JM, Damaser MS, Kane JM, Sakamoto K, Benson JT, Shott S, et al. Effects of pudendal nerve injury in the female rat. *Neurourol Urodyn*. 2000;19(1):53-69.
 37. Ahn H, Lin DL, Esparza N, Damaser MS. Short-term timecourse of bilateral pudendal nerve injury on leak-point pressure in female rats. *J Rehabil Res Dev*. 2005;42(1):109-114.
 38. Bernabe J, Julia-Guilloteau V, Denys P, Chartier-Kastler E, Alexandre L, Peeters M et al. Peripheral neural lesion-induced stress urinary incontinence in anaesthetized female cats. *BJU Int* 2008;102:1162-1167.
 39. Conway DA, Kamo I, Yoshimura N, Chancellor MB, Cannon TW. Comparison of leak point pressure methods in an animal model of stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct* 2005;16:359-363.
 40. Damaser MS, Samplaski MK, Parikh M, Lin DL, Rao S, Kerns JM. Time course of neuroanatomical and functional recovery after bilateral pudendal nerve injury in female rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293(5):F1614-1621.
 41. Damaser MS, Whitbeck C, Chichester P, Levin RM. Effect of vaginal distension on blood flow and hypoxia of urogenital organs of the female rat. *J Appl Physiol* 2005;98:1884-1890
 42. Peng CW, Chen JJ, Chang HY, de Groat WC, Cheng CL. External urethral sphincter activity in a rat model of pudendal nerve injury. *Neurourol Urodyn* 2006;25:388-396.
 43. Rodriguez LV, Chen S, Jack GS, de Almeida F, Lee KW, Zhang R. New objective measures to quantify stress urinary incontinence in a novel durable animal model of intrinsic sphincter deficiency. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288(5):R1332-1338.
 44. Pauwels E, De Wachter S, Wyndaele JJ. Evaluation of different techniques to create chronic urinary incontinence in the rat. *BJU Int*. 2009;103(6):782-785; discussion 785-786.
 45. Skaff M, Pinto E, Leite KR, Almeida FG. Development of a rabbit's urethral sphincter deficiency animal model for anatomical-functional evaluation. *Int Braz J Urol*. 2012;38(1):17-24.
 46. Clobes A, DeLancey JO, Morgan DM. Urethral circular smooth muscle in young and old women. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198(5):587.e1-5.
 47. Strasser H, Tiefenthaler M, Steinlechner M, Bartsch G, Konwalinka G. Urinary incontinence in the elderly and age-dependent apoptosis of rhabdosphincter cells. *Lancet*. 1999;354(9182):918-919.
 48. Strasser H, Berjukow S, Marksteiner R, Margreiter E, Hering S, Bartsch G, et al. Stem cell therapy for urinary stress incontinence. *Exp Gerontol*. 2004;39(9):1259-1265.
 49. Perucchini D, Fink D. Urinary stress incontinence in the female: comparison of incontinence theories and new tension-free surgical procedures. *Gynakol Geburtshilfliche Rundsch*. 2002;42(3):133-140.
 50. Walz J, Graefen M, Huland H. Basic principles of anatomy for optimal surgical treatment of prostate cancer. *World J Urol*. 2007;25:31-38.
 51. Klauer A, Frauscher F, Strasser H, Helweg G, Kölle D, Strohmeier D, et al. Age-related rhabdosphincter function in female urinary stress incontinence: assessment of intraurethral sonography. *J Ultrasound Med*. 2004;23(5):631-637; quiz 638-639.
 52. Kefer JC, Liu G, Daneshgari F. Pubo-urethral ligament transection causes stress urinary incontinence in the female rat: a novel animal model of stress urinary incontinence. *J Urol*. 2008;179(2):775-778.
 53. Kefer JC, Liu G, Daneshgari F. Pubo-urethral ligament injury causes long-term stress urinary incontinence in female rats: an animal model of the integral theory. *J Urol*. 2009;181(1):397-400.
 54. Chermansky CJ, Cannon TW, Torimoto K, Fraser MO, Yoshimura N, de Groat WC, et al. A model of intrinsic sphincteric deficiency in the rat: electrocauterization. *Neurourol Urodyn*. 2004;23(2):166-171.
 55. Djovic J. The nerve sparing radical prostatectomy—a step to better quality of lifesurgical aspects, *Acta Chir. Iugosl*. 2005;52:63-67.
 56. Eberli D, Andersson KE, Yoo JJ, Atala A. A canine model of irreversible urethral sphincter insufficiency. *BJU Int* 2009;103:248-253.

Yusuf ARIKAN, Yunus ÇOLAKOĞLU, Abdulmuttalip ŞİMŞEK

Giriş

Ürodinamik çalışmalar üretra ve mesane patolojilerinin tanısında ve tanımlanmasında büyük önem taşımaktadır. Uluslararası Kontinans Derneği (ICS), ürodinamik incelemeyi "alt üriner sistemin fizyolojisi ve idrar yollarının hidrodinamiği" olarak tanımlar.

Sıçanlar idrar yolundaki çeşitli ilaçların etkisini anlamanın yanı sıra, işeme bozukluğu çalışmalarının fizyopatolojisinde kullanılan temel deney hayvanlarıdır. Ratlarda ürodinami modelleri diğer deneysel hayvanlara göre daha sonraları oluşturulmaya başlanmıştır ve özellikle 2000'li yıllarından itibaren bu modeller kullanılarak çalışmalarda artış olduğu görülmüştür.

İnsanlarda geliştirilen kataterler sayesinde çok da invaziv olarak görülmeyen bu değerlendirmeye, ratlarda mesane katerizasyonunun zorluğundan dolayı invaziv bir işlem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Hayvan Modelleri ve Ürodinami

In vitro çalışmalarda rat mesanesi ile insan mesanesi karşılaştırıldığında bazı önemli morfolojik ve fonksiyonel farklılıklar gözlenmiştir. Örneğin, rat mesane duvarı intramural gangli-

yondan yoksundur. Ayrıca hem in vitro hem de in vivo olarak normal rat mesane kasılmasının ana kısmı, insanlarda olduğu gibi asetilkolin değil, adenozin trifosfat (ATP) aracılığı ile gerçekleştirilir.

Streng ve arkadaşları, ratlarda ATP'nin işeme sırasındaki kasılmada ilk kullanılan ve en önemli molekül olduğunu, asetilkolinin ise ikincil olarak önemli olduğunu göstermiştir.

Ürodinami modellerinde hem erkek hem de dişi sıçanlar kullanılır. Transüretal sistometri için dişiler genellikle üretral yoldan kateterizasyonun kolay olması nedeniyle tercih edilir. Ayrıca, mesane çıkım veya üretral disfonksiyon ile ilişkili patolojik modeller (örneğin, mesane çıkım tıkanıklığı (BOO), omurilik yaralanması (SCI), valsalva ile indüklenen stres üriner inkontinans) kullanan çalışmalarda, sıklıkla dişi kemirgenler kullanılır. Bununla birlikte, hayvan çalışmalarını planlayan araştırmacılar, erkek ve dişi sıçan miksiyonu arasında küçük farklılıklar olduğunu düşünmektedir.

Kobayların mesanesi de in vitro araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır ve bunların morfolojisi, elektrofizyolojisi ve kontraksiyon mekanizmaları kapsamlı olarak çalışılmıştır. Mesane duvarı gangliyon içerir ve sıçanlarda ve

farelerde olduğu gibi, kontraksiyonların büyük bir kısmına ATP aracılık eder.

Miksiyon Aşamaları

Tüm kemirgenlerde proksimal üretranın (rabdosfinkter) çizgili kasları, işeme sürecinde önemli bir rol oynar. Transvezikal sistometre ile ölçüldüğü üzere, erkek ve dişi ratlarda işeme fazı dört evreye ayrılır. (Şekil 1)

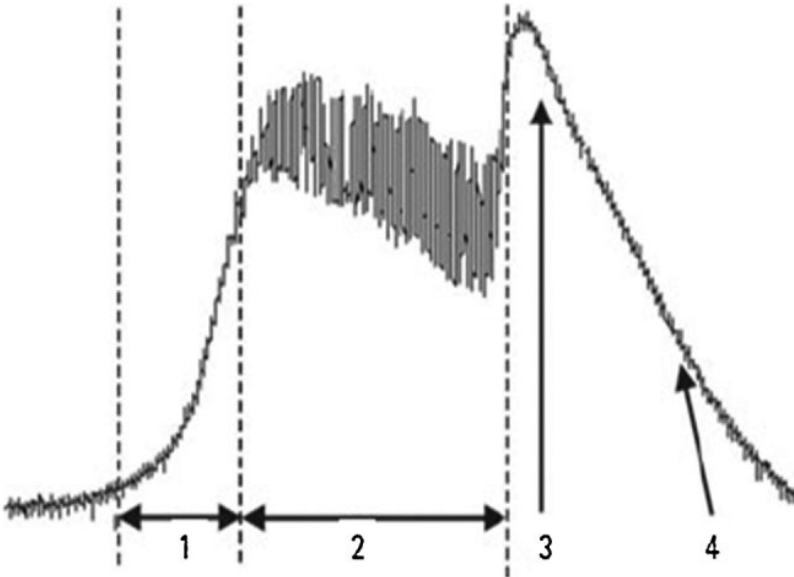
İntravezikal basınçta (faz 1) başlangıçta bir artış olur, bunu intraluminal basınç yüksek frekanslı osilasyonlar (IPHFOs, faz 2) ve idrarın pulsatil akışı izler. Üçüncü fazda, pulsatil akış sona erdiğinde intravezikal basınçta bir rebound artışı vardır. Dördüncü aşamada, işeme kasılmasından önce görülen düşük seviyeye hızlı bir basınç düşüşü vardır. (Şekil 1)

IPHFOs üretranın kontraksiyon hareketini yarattığına inanılan bir dizi üretral açıklık ve

kapanıştan oluşur. Bu durum, insanlarda görüldüğünden çok farklıdır. IPHFOs olmadan mesane etkili bir şekilde boşalmaz. IPHFOs, örneğin erkek ve dişi sıçanlarda, idrarda pulsatil akış ile ilişkili olduğu ve rabdosfinkter kasılmalarından kaynaklandığı ve mesaneye giden bir basınç etkisi ile yayıldığı düşünülmektedir.

Mesane Katerizasyonu

Kateter üretral yoldan veya suprapubik olarak mesaneye yerleştirilebilir. Suprapubik katerizasyonda kateterin dış ucu bir pimle kapatılır veya sızıntıyı ve enfeksiyonu önlemek için deneye kadar kapalı tutulur. Mesane kateterleri olarak kullanım için, polietilen boru uygun uzunlukta kesilir. En uygun kateteri seçerken, araştırmacı hayvanın büyüklüğü, kateter direnci, tıkanma ve kontraksiyon olasılığı gibi bazı faktörleri dikkate almalıdır. Küçük boyutlu



Şekil 1. Rat miksiyonu sırasındaki işeme fazları ve intravezikal değişim grafiği

Faz 1: İntravezikal basınç artışı

Faz 2: Yüksek frekanslı osilasyonların olduğu intraluminal basınç (IPHFOs)

Faz 3: İntravezikal basıncın rebound artışı (Pulsatil akım sonu)

Faz 4: Basıncın miksiyon öncesi haline hızlı düşüşü

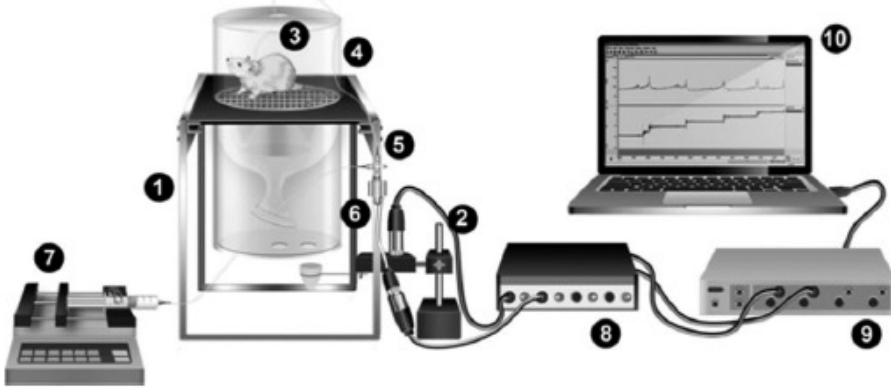
hayvanlar için daha düşük çaplı kateterler kullanılması daha az direnç ve daha az tıkanmaya sebep olur. Öte yandan, daha kalın kateterler küçük mesanelerde irritasyona neden olabilir, ancak deney hayvanının ısırma ve buna bağlı yaratacağı tıkanıklığa sekonder hasara karşı daha dirençlidir.

2004 yılında yapılan deneysel bir çalışmada, dişi sıçanlarda, çapları 0,85 mm olan iki kateter ile üretral tıkanıklık oluşmuştur ve bu da 1,7 mm'lik bir üretral açıklığa yol açmıştır. Bu çap, orta şiddette bir tıkanıklık olarak kabul edilirken, 1,90 mm'lik bir üretral obstrüksiyon ciddi bir tıkanıklık olarak değerlendirilmiştir. Böylece, bir tüpün uzunluğu ve çapı ile direncini ilişkilendiren Laplace yasasını göz önünde bulundurarak, direncin boy ile doğru orantılı ve çapla ters orantılı olduğu düşünülmüştür. Kullanılan

kateterin çapı arttıkça üretral dirençte artacaktır. Böylece, mesane boşalımının engellenmesi nedeniyle kasılma süresi daha uzun olacaktır.

Ekipman

Gönderilen sıvı bir huni vasıtasıyla hacminin ölçülmesi için transdüserle bağlanmış bir kaba toplanır. Mesane kateteri T tüpü veya üç yollu bir stopcock vasıtasıyla bir basınç transdüserine ve bir infüzyon pompasına bağlanır. Bütün sistem salin ile doldurulur. Her iki transdüser başka bir transdüser amplifikatörüne bağlanır. Transdüser ise, bir veri edinim sistemine bağlanır, tüm sistem ise, miksiyon parametrelerinin takip edildiği, depolandığı ve spesifik yazılımlar kullanılarak daha ayrıntılı analiz edildiği bir bilgisayara bağlanır (Şekil 2).



Şekil 2. Ekipman ve sistometri aşamalarının şematize edilmesi

1. Deney hayvanının yerleştirildiği metabolik kap,
2. İdrarın toplandığı huni (Transdüser aracılığıyla),
3. Mesane katarizasyonu,
4. Kateterin bağlı olduğu tüp,
5. 3 yollu Stopcock,
6. Transdüser,
7. İnfüzyon pompası,
8. Her bir transdüserin bağlandığı amplifikatör,
9. Dataların toplandığı sistem,
10. Bilgisayar

Mesane basıncı ve idrar hacmi sürekli ve senkron olarak kaydedilir. Her bir araştırmaya başlamadan önce hem basınç hem de hacim kalibre edilmeli ve transdüserin yerleştirildiği seviye (mesane seviyesi) kontrol edilmelidir. Hem basınç hem de akışın aynı anda kaydedilmesi önerilir. Sistometrenin başlangıcında mesane, katerizasyonla veya manuel kompresyonlar ile boşaltılır. Mesane kateteri sisteme bağlanır ve sürekli fizyolojik salin infüzyonu başlatılır. Kemirgen ürodinamisi için farklı infüzyon oranları tanımlanmıştır: fareler için 1.5-3 ml/sa, sıçanlar için 2.4-11 ml/sa olarak bildirilen çalışmalar vardır. Sistometrelerin sessiz bir ortamda yapılması önemlidir, bu durum istemsiz motor aktiviteleri azaltacak ve sonuçta oluşan basınç değişim kayıtları daha güvenilir olacaktır.

Parametreler

Ürodinamik çalışmalarda, bazı sistometrik parametreler ölçülebilir (Şekil 3). Ürodinamik parametreleri etkileyen birçok faktör olduğundan dolayı deney hayvanlarında normal bir aralık oluşturmak zordur. Farklı parametrelerden için bir karşılaştırma tabanının oluşturulması amacıyla, yaş ve cinsiyetlerin eşleştirildiği sağlıklı ve hastalıklı hayvanların olduğu kontrol grupları oluşturularak çalışmalar yapılmıştır.

1) Basınç parametreleri: Sistometrik basınç parametrelerini tanımlamak için birçok farklı kısaltma tanımlanmıştır. Basınç sürekli P ile kısaltılmış ve içeriği belirtilmiş (Örneğin P_{ves} : intravezikal basınç) karışıklıklar ortadan giderilebilir.

a) Bazal basınç: Genellikle BP veya P_{base} olarak kısaltılır. İki miksiyon arasındaki minimum basınç olarak tanımlanmıştır. Yüksek bazal basınçlar; kateter tıkanıklığı, mesane taşları, mesane pıhtısı veya ekipman sorunları gibi teknik sorunların göstergesi olabilir. BP genellikle 10

mgH₂O seviyesindedir ve 20 mgH₂O'yu geçmez.

b) İntermiksiyonel basınç: Genellikle IMP veya P_{im} olarak kısaltılır. İki miksiyon arasındaki ortalama basıncı tanımlar. IMP, non-voiding kontraksiyonların (NVCs) oluşumu ile ilişkilidir. Yüksek amplitüde sahip ve yüksek frekanslı NVCs'ler yüksek IMP ile ilişkilidir.

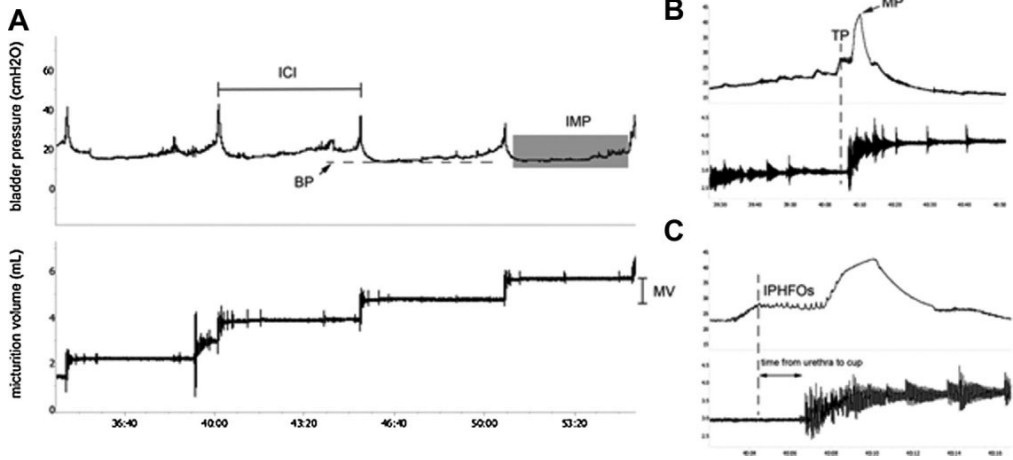
c) Eşik Basıncı: Genellikle TP veya P_{thres} olarak kısaltılır. Miksiyondan hemen önceki intravezikal basıncı tanımlar. IPHFOs ve idrar akışının başlangıcı ile yakın ilişkilidir. Bu basınç Yaksh ve ark. tanımladığı 'mesane açılma basıncına' yakın bir terimdir ancak tam olarak tanımlanamaz.

d) Maksimum Basınç: Genellikle MP veya P_{max} olarak kısaltılır. Miksiyon döngüsü sırasındaki maksimum basıncı tanımlar. Pik basınç, maksimum voiding basınç ve maksimum intravezikal basınç olarak da adlandırılır.

e) Spontan Aktivite: Genellikle SA veya P_{mio} olarak kısaltılır. İntermiksiyon basıncı ile bazal basınç arasındaki farktır. Miksiyon aralarında spontan mesane kontraksiyonların yaklaşık bir indeksi-dir. Miksiyon arasında sık NVCs ler varsa, P_{mio} artar.

f) Non-Voiding Kontraksiyonlar (NVCs): Sistometri sırasında sıvı infüzyonu ile ilişkili olmayan intravezikal basınç artışları olarak tanımlanır. Bazen detrusör aşırı aktivitesi olan hastalarda dolom sırasında ortaya çıkabilen istemsiz kontraksiyonlar içinde kullanılabilir. İki miksiyon arasındaki NVCs lerin sıklığı ve amplitüdü belirlenebilir ancak frekans ve amplitüdü için belirlenmiş olan herhangi bir kestirim değeri tanımlanmamıştır.

- g) Abdomen Basıncı:** Genellikle AP veya Pabd olarak kısaltılır. İçi sıvı dolu balon kateter intraabdominal olarak yerleştirilir. Pves, Pabd ve işeme hacmi eş zamanlı kaydedilir. Böylece Pdet hesaplanabilir. Pdet, Pves'den Pabd'nin arasındaki farktır.
- 2) Miksiyon Sıklığı (MF):** Saat başına olan işeme sayısını ifade eder.
- 3) Mesane Kapasitesi (BC):** Rezidüel idrar olmaması durumunda maksimum infüzyonun ardından miksiyon sonrası hacme bakarak ölçülür.
- 4) Volüm parametreleri**
- a) Miksiyon Volümü (MV):** Miksiyon öncesi volümden miksiyon sonrası kalan rezidü idrarın çıkartılması ile bulunur
- b) Rezidüel Volüm (RV):** İşeme sonrası mesanede kalan idrar miktarını ifade eder.
- 5) Mesane Kompliyansı (Bcom):** Mesane hacim değişikliği ile detrüsör basıncındaki değişim arasındaki ilişkidir.
- 6) Eksternal Üretral Sfinkter Elektromyografi:** Eksternal üretral sfinktere elektrodlar yerleştirilir ve mesane dolum ve miksiyon sırasında elektromyografi kaydedilir.
- 7) Üretral Perfüzyon Basıncı:** Genellikle UPP veya Pup olarak kısaltılır. Üretra uzunluğu boyunca bir basınç sensörünün (kateter) geri çekilmesi ile elde edilen ölçümdür.
- 8) Kaçırma Noktası Basıncı:** Genellikle LPP veya Plp olarak kısaltılır. Anestezi verilmiş hayvan supin pozisyonunda iken mesane oda sıcaklığında salin ile doldurulur. Plp, sıvıyı olana kadar abdomen basıncın artması ile test edilir ve bu süre zarfında eksternal abdomen basıncı hızla çıkartılır. Maksimum mesane basıncı Plp olarak alınır. Farklı şekilde olarak Plp, yarı dolu mesanede de test



Şekil 3. Sistometrik Parametreler

A) Sistometri sırasında mesane basıncı ve miksiyon volümü grafiğinde; Kontraksiyonlar arası interval (ICI), Bazal basınç (BP), İntermiksiyonel basınç (IMP), Miksiyon volümü gösterilmiştir.

B) 50'lik büyütmede Miksiyon kontraksiyonları, Eşik basınç (TP) ve Maksimum basınç (MP) grafikte gösterilmiştir.

C) 10'luk büyütmede miksiyon kontraksiyonları, IPHFOs gösterilmiştir. Eşik basınç (TP), IPHFOs başladıktan sonra oluşmaya başlamıştır.

edilebilir. Alternatif olarak, basınç transdüserine bağlı bir kateter rektuma bağlanır ve bu şekilde Pabd ve abdomen kaçırma noktası basıncı ölçülebilir.

TERMİNOLOJİ

Kemirgenler için yaygın olarak kullanılan sürekli infüzyon sistometrisi, insan ürodinamik çalışmaları için uygulanmamaktadır. Kemirgenlerde, eşik basıncı, ara basınç, spontan aktivite ve işeme sıklığı gibi çeşitli ölçümleri de genellikle insanlarda yapılan sistometrilere kullanılmaktadır.

Bazı terimler hem sıçan hem de insan araştırmaları için kullanılsa bile, farklı durumları yansıtabilir. Örneğin detrüsr aşırı aktivitesi, Uluslararası Kontinans Derneği (ICS) tarafından, kendiliğinden veya provoke edilebilen dolum fazı sırasında istemsiz detrüsr kasılmaları ile karakterize olan bir ürodinamik gözlem olarak tanımlanmaktadır. Detrüsr kasılmalarının istemli olup olmadığı kemirgenlerde belirlenemediğinden, örneğin, frekans arttığında ve NVC'ler kaydedildiğinde, kemirgen sistometreleri için mesane hiperaktivitesi terimi kullanılabilir. Bu nedenle, insanlarda istemsiz detrüsr kasılmaları, NVC'lere eşit değildir, çünkü hastanın sistometri sırasında işemeyi bastırmaya çalışması beklenmektedir.

Kemirgenlerde işeme IPHFO'ların görünümü ile başladığından ve kemirgen maksimum basıncı sıklıkla idrar akışının sona ermesinden sonra ortaya çıktığından, insanlarda işeme basıncı kemirgen işeme döngüsündeki maksimum basınca karşılık gelmez (bkz. Şekil 1).

Bazal basınç, maksimum basınç ve abdominal basınç kayıtları gibi bazı intravezikal basınç ölçümleri insan ve sıçanlarda karşılaştırılabilir olmalıdır. Sistometrik mesane kapasitesi; ICS de dolum sistometrogramının sonundaki mesane kapasitesi olarak tanımlanır. Açıkçası, kemirgenlere boşaltma izni vermek mümkün de-

ğildir. Mesane kompliyansı insan ve kemirgen sistometrisinde aynı şekilde hesaplanır.

TEKNİK

Ratlarda uygulanan sistometri çalışmaları 2 şekilde yapılır. Bazı modellerde ratlar uyutulmuş halde iken sistometri çalışması yapılırken, bazı araştırmacılar buna karşı çıkmaktadır ve uyur halde yapılan sistometrinin gerçeği yansıtmadığını ve uyanırken yapılması gerektiğini savunmaktadır.

Üretan (etil karbamat), ürodinami modellerinde kullanılan anestetik maddedir, merkezi sinir sisteminde depresyona neden olan hipnotik bir etkiye sahip olan alifatik alkollerin bir türevidir. Bu madde, refleks inhibisyonunun yanında mesane fonksiyonlarına olan etkisi minimaldir. Daha önceki yapılan bir çalışmada, üretan, sistometri değerlendirmesi ve bilinçli veya anestezi altında normal dişi sıçanlarda idrar basıncı kaybı deneylerinde ketaminden daha fazla fizyolojik olarak kabul edilmiştir.

İlk modelde ratlar ketamin anestezisi (50 mg/kg i.m.) altındayken, dişi ratlara, genelde görülebildiği için direk üretradan, erkek ratlara orta hat kesisi yaparak mesaneye ulaştıktan sonra 22G kateterin konulmasıyla kateterizasyon yapılır. Daha sonra bu kateterler polietilen tüple basınç ölçen ürodinamik bir cihaza bağlanabilir. Sıcaklık değişimlerine çok hassas olan ratlarda mutlaka 37 derecelik izotonik solüsyon kullanılması çok önemlidir. Alışlagelen ve ratlara zarar vermeyecek normal dolum mekanizmasına en uygun olan dolum hızı dakikada 0.1 ml'dir. Bu düşük dolum hızı ancak infüzyon pompaları yardımıyla ayarlanabilir. Çalışma sırasında boş mesanenin basıncı, başlangıç basıncı, ilk kaçırma anındaki basınç, açılma basıncı, işeme esnasındaki en yüksek basınç da tepe basıncı olarak ölçülüp kaydedilir. Ayrıca maksimum mesane basıncı da ölçülebilir. Mesane kompliyansı (ml/cm H₂O); maksimum

mesane hacmi/ açılma basıncı – başlangıç basıncı formülüyle hesaplanır. Bir diğer uygulama da ratlar uyanık iken yapılan ürodinamik çalışmalardır. Uygulamada zorluklar taşıyan bu yöntem, birçok araştırmacıya göre gerçek ürodinamik değerlendirmeyi gösteren tek yöntemdir. Bu yöntem için, ratlar ketamin anestezisi altında iken (50 mg/kg i.m.) orta hattan yapılan insizyonla mesaneye ulaşıp polietilen kateter (PE-50), mesane kubbe kısmından konularak 6/0 prolene suture ile sabitlenir. Kateterin ucu, cilt altından ilerletilerek ratın boyun kısmına kadar çıkarılıp burada cilt altında bırakılır. Açıkta bırakılan kateterler kafeste bulunan diğer ratların yapacağı yaralamalara ve deformasyonlara açık olacağından cilt altında kalması uygundur. Bu işlemden yaklaşık 1 hafta sonra kateterin ucu açığa çıkarılarak bir infüzyon pompası ve ürodinamik ölçüm cihazına bağlanır. Bu sırada rat uyanık olacağından normal fizyolojiye yakın bir ölçüm gerçekleştirilebilir. Bazı araştırmacılar işlem sırasında altı tel bir kafes kullanılırsa ratın kaçırdığı idrarın toplanıp ölçüm yapılabileceğini belirtmektedirler. Normal fizyolojiyi yansıtmaması bakımından infüzyonun pompa yardımıyla dakikada 175 µl olarak yapılması önerilmektedir. Bu şekilde, sistometri 30-90 dakikalık bir sürede ölçülebilir.

Kaynaklar

- Abrams P, Cardozo L, Fall M, Griffiths D, Rosier P, Ulmsten U, Van Kerrebroeck P, Victor A, Wiein A. The standardisation of terminology in to lower urinary tract function: report from the standardisation subcommittee of the International Continence Society. *Urology*. 2003;61:37-49.
- Tek M, Ballı E, Çimen B, Efesoy O, Oğuz İ, Çayan S. The Effect of Testosterone Replacement Therapy on Bladder Functions and Histology in orchietomized Mature Male Rats. *Urology*;75:4; 886-890.
- Uvelius B, Gabella G. Intramural neurones appear in the urinary bladder wall following excision of the pelvic ganglion in the rat. *Neuroreport* 1995;6:2213-6.
- Brading AF, Williams JH. Contractile responses of smooth muscle strips from rat and guinea-pig urinary bladder to transmural stimulation: Effects of atropine and alpha,beta-methylene ATP. *Br J Pharmacol* 1990;99:493-8.
- Streng T, Talo A, Andersson KE. Transmitters contributing to the voiding contraction in female rats. *BJU Int* 2004;94:910-4.
- Andersson KE, Arner A. Urinary bladder contraction and relaxation: Physiology pathophysiology. *Physiol Rev* 2004;84:935-86.
- Brading AF, Mostwin JL. Electrical and mechanical responses of guinea-pig bladder muscle to nerve stimulation. *Br J Pharmacol* 1989;98:1083-90.
- Biers SM, Reynard JM, Doore T, et al. The functional effects of a c-kit tyrosine inhibitor on guinea-pig and human detrusor. *BJU Int* 2006;97:612-6.
- Gomez-Pinilla PJ, Gomez MF, Hedlund P, et al. Effect of melatonin on age associated changes in Guinea pig bladder function. *J Urol* 2007;177: 1558-61.
- Kubota Y, Hashitani H, Shirasawa N, et al. Altered distribution of interstitial cells in the guinea pig bladder following bladder outlet obstruction. *Neurourol Urodyn* 2008;27:330-40.
- Streng T, Santti R, Andersson KE, et al. The role of the rhabdosphincter in female rat voiding. *BJU Int* 2004;94:138-42
- Streng T, Santti R, Talo A. Possible action of the proximal rhabdosphincter muscle in micturition of the adult male rat. *Neurourol Urodyn* 2001;20:197-210; discussion 3.
- Streng T, Talo A, Andersson KE. Transmitters contributing to the voiding contraction in female rats. *BJU Int* 2004;94:910-4.
- Streng T, Santti R, Talo A. Similarities and differences in female and male rat voiding. *Neurourol Urodyn* 2002;21:136-41.
- Gonçalves MA. Experimental model of partial obstruction of distal urethra in female rats. Ribeirão Preto: São Paulo, 2004. 73 p. Master Dissertation - Department of Surgery and Anatomy – Medicine College of Ribeirão Preto -University of São Paulo.
- Saito M, Wein AJ, Levin RM. Effect of partial outlet obstruction on contractility: comparison between severe and mild obstruction. *Neurourol Urodyn*.1993;12:573-83.
- Starling EH. The regulation of the heart beat. *J Physiol*. 1914;48:465-8.
- Morikawa K, Kakiuchi M, Fukuoka M, et al. Effects of various drugs on bladder function in conscious restrained-denervated rats placed in a restraining cage and produced by transection of the hypogastric nerve. *Jpn J Pharmacol* 1990;52:405-11.
- Schroder A, Newgreen D, Andersson KE. Detrusor responses to prostaglandin E2 and bladder outlet obstruction in wild-type and Ep1 receptor knockout mice. *J Urol* 2004;172:1166-70.

20. Shieh CC, Brune ME, Buckner SA, et al. Characterization of a novel ATPsensitive K_5 channel opener, A-251179, on urinary bladder relaxation and cystometric parameters. *Br J Pharmacol* 2007;151:467–75.
21. Pandita RK, Fujiwara M, Alm P, et al. Cystometric evaluation of bladder function in non-anesthetized mice with and without bladder outlet obstruction. *J Urol* 2000;164:1385–9.
22. Cannon TW, Damaser MS. Effects of anesthesia on cystometry and leak point pressure of the female rat. *Life Sci* 2001;69:1193–202.
23. Yaksh TL, Durant PA, Brent CR. Micturition in rats: A chronic model for study of bladder function and effect of anesthetics. *Am J Physiol* 1986;251:R1177–85.
24. Chang HY, Havton LA. Differential effects of urethane and isoflurane on external urethral sphincter electromyography and cystometry in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;295:F1248–53.
25. Wang CC, Nagatomi J, Toosi KK, et al. Diabetes-induced alternations in biomechanical properties of urinary bladder wall in rats. *Urology* 2009;73: 911–5.
26. Jung SY, Fraser MO, Ozawa H, et al. Urethral afferent nerve activity affects the micturition reflex; implication for the relationship between stress incontinence and detrusor instability. *J Urol* 1999;162:204–12.
27. Torimoto K, Fraser MO, Hirao Y, et al. Urethral dysfunction in diabetic rats. *J Urol* 2004;171:1959–64.
28. Cannon TW, Wojcik EM, Ferguson CL, et al. Effects of vaginal distension on urethral anatomy and function. *BJU Int* 2002;90:403–7.
29. Rodriguez LV, Chen S, Jack GS, et al. New objective measures to quantify stress urinary incontinence in a novel durable animal model of intrinsic sphincter deficiency. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;288:R1332–8.
30. Abrams P, Cardozo L, Fall M, et al. The standardisation of terminology of lower urinary tract function: Report from the Standardisation Sub-committee of the International Continence Society. *Neurourol Urodyn* 2002;21:167–78.
31. Yokoyama, Yoshiyama M, Namiki, Groat WC. Influence of anesthesia on bladder hyperactivity induced by middle cerebral arterial occlusion in the rat. *Am J Physiol*. 1997;273(6 Pt 2):R1900-7.
32. Herrera GM, Meredith AL. Diurnal variation in urodynamics of rat. *PLOS One*; 5:8; e12298, 2010.
33. Jin LH, Andersson KE, Kumon YH, Yoon SM, Lee T. Selection of a control rat for conscious spontaneous hypertensive rats in studies of detrusor overactivity on the basis of measurement of intraabdominal pressures. *Neurology and Urodynamics* 29:1338-1343.

Mesane Ağrısı Sendromu

28

Fatih TARHAN

GİRİŞ

Mesane ağrısı sendromu'nun (MAS) özelliği, organların veya ilişkili sinirlerin gösterilebilen patolojisinin yokluğunda var olan ağrıdır. Bu durum mesane dolumu ile ilişkili olan suprapubik ağrı ile karakterizedir ve sürekli, güçlü idrara çıkma isteği, sık idrara çıkma ve noktüri ile birlikte olabilir. Etiyolojisi ve patogenezini hakkında bir fikir birliği ve semptomları ortadan kaldıracak etkili tedaviler yoktur (1-3).

MAS'ın özelliklerini gösterdiği iddia edilen birçok hayvan modeli vardır (1, 2, 4). Çoğu model, mesanenin hasara akut yanıtlarını değerlendirmektedir (5). Hayvanlarda yapılan çalışmalar, insanlarda yapılması uygun olmayan kronik ağrı durumlarının bazı boyutlarının kontrollü olarak araştırılmasına izin verir (2). İlk modeller, hidroklorik asit, terebentin, protamin sülfat, aseton, akrolein, hardal yağı veya kroton yağı gibi kimyasal iritanların intravezikal uygulanması ile mesanedeki enflamatuar koşulları indükleyerek hazırlanmıştır (4-9). Daha sonraki MAS hayvan modelleri bakteriyel lipopolisakarit (LPS) enjeksiyonu, sistemik siklofosamid (CYP) uygulanması, psödorabies virüsü (PRV) enfeksiyonu veya otoimmünitenin sistemik

olarak oluşturulması ile oluşturulmuştur (2,5, 10-14). En ilginç olanı, insanlarda bulunan klinik semptomların ve histolojik mesane değişikliklerinin çoğunu gösteren, kedilerde doğal olarak oluşan MAS modelidir (2).

Bununla birlikte, MAS'ın karmaşık doğası nedeniyle, tek bir hayvan modeli tarafından modellenmesi geçerli bir yöntem olarak düşünülemez. Bu nedenle, insan durumunun bilinen ve iyi karakterize edilmiş bileşenlerini yansıtan bir model paneli faydalı olabilir (1, 2, 4, 5). Bu hayvan modellerinin kısıtlılıkları da vardır (5, 14). Kullanılan zararlı uyarıların MAS'a özgü yanıtlardan ziyade nonspesifik yanıtlara neden olabileceği düşünülmektedir (2, 5). Bu modellerin kronik ağrı sendromları ile ilişkisi güçlü olmayabilir (5). Ayrıca, kemirgenlerde görülen mesane değişikliklerinin derecesi değişkendir ve günler içinde geçebilir (2). MAS hastalarında etiyojisinin belirlenmesi, özgül bir patojenez veya patognomonik semptom kompleksi saptananana kadar, hayvan modellerinin önemi sadece mesane hasarı ve buna vücudun tepkisi bağlamında değerlendirilebilir (5).

MAS hayvan modelleri en azından pelvik/mesane ağrısının algılanması ve/veya işeme disfonksiyonunu oluşturmak zorundadır. Sa-

dece histopatoloji veya biyokimyasal bulguları (örneğin, üriner belirteçler) özetleyen modeller, ağrının algılanması ya da işeme bağıntısının yokluğundan dolayı yetersizdir. Ayrıca, von Frey filamentleri uygulanması ve dokusal alodininin ölçülmesi, sistometri, işeme kafesleri veya kurutma kağıtları ile alt üriner sistem işlevlerinin değerlendirilmesi gereklidir.

Hayvan modelleri nedenlerin ipuçlarını sağlasa da, tüm teoriler sonuçta insanlarda hastalık ile test edilmelidir. Hayvan modelleri ile elde edilen bulguların olasılıklarının denenmesi için karşılaştırmalı ve translasyonel çalışmalara ihtiyacı vardır (15).

B. MODELLER

a. Doğal Model

Bazı evcil kedilerde artmış idrar sıklığı, sıkışma ve hematüri ile karakterize mesane hastalığı geliştiği uzun zamandır bilinmektedir (16). Buffington ve ark kedilerdeki bu bozukluğun insanlarda MAS'a benzer olduğunu ileri sürmüşlerdir (17). Daha sonraki çalışmalarda insanlardaki MAS ile kedi spontan (interstisyel)

sistiti arasındaki benzerlikler kapsamlı olarak gösterilmiştir (5, 17-22). Kedilerdeki bu durum kedi interstisyel sistiti (FIC) olarak bilinmektedir (18).

FIC, insanlardaki interstisyel sistitin nonülseratif formuna benzemektedir, ancak kedilerde bazen ülserasyon ve inflamatuvar infiltratlar da gözlenmiştir (23). Kedilerde insanlarda olduğu gibi lokal mesane faktörleri, afferent nöronlar, merkezi sinir sistemi ve efferent nöronların anormallikleri ortaya çıkmaktadır (24). FIC olan kediler, normalden daha az miktarda üriner glikozaminoglikan salgırlar (19, 25). En önemlisi, klinik semptomlar kedilerde de ve insanlardaki gibi alevlenme ve sönme seyri izler ve çevresel stres faktörleri tarafından alevlendirilir (26, 27). İnsanlarda olduğu gibi, FIC'li kediler de ayrıca çeşitli sistemik anormallikler de bulunur (5, 28).

FIC, mesaneye eksojen maddeler verilmeden oluşma avantajına sahiptir (15). Sağlıklı hayvanlarda hiçbir mesane hasarı modeli şu anda kedilerde doğal olarak meydana gelen interstisyel sistitin birçok özelliğini gösterememektedir (5). Yine de FIC de bazı kısıtlılıkla-

Tablo 1. MAS oluşturmak için kullanılan hayvan modelleri (15).

İnflamasyonun Nedeni	Türler	Avantajlar	Dezavantajlar
Spontan	Kedi	Kendiliğinden gelişiyor	Etiyoloji bilinmiyor
Nörojenik	Fare, Sıçan, Kobay	Mesaneye müdahale yapılmadan inflamasyon gelişiyor	İnflamasyonun sadece sınırlardan kaynaklandığını saptamak güç
Otoimmünite	Fare, Sıçan, Kobay	MAS hastalarında immünite ile ilişkili hastalıklar sık	Mesane immün yanıtın hedefleri bilinmiyor
İrritanların intravezikal verilmesi veya idrarla atılması	Fare, Sıçan	İnflamasyonun şiddeti ve süresi kontrol edilebilir	Glikozaminoglikan tabakası, ürotelyum ve mesanenin duvarına olan hasarın birden fazla mekanizması ayırdedilemez
Bakteriyel ürünlerin intravezikal verilmesi	Fare, Sıçan	İnsanlarda bakteriyel enfeksiyon doğal olarak meydana gelir	Mesane yanıtını etkileyen genetik ve çevresel faktörleri oluşturmak zor

rı olan bir modelidir (5). Etkilenen hayvanların azlığı ve kedilerde kullanımı güvenli reaktiflerin sınırlılığının yanısıra kedigillerin genetik ve epigenetiklerin nispeten yüzeysel bilinmesi başlıcalarıdır (2). FIC'in insanlardaki MAS'ın analogu olup olmadığı hala net değildir çünkü MAS ile sonuçlanan altta yatan nedenler ve mekanizmalar tanımlanmamıştır (4, 15). Kedilerin incelenmesi, insanlarda MAS'ye neden olan veya buna neden olan süreçlere ilişkin ipucu verebilir ancak bu model insanlarda MAS'ın tüm yönlerini gösteremeyebilir (15).

b. Antijen ile Oluşturulan Model

Kobayların ovalbümine sistemik duyarılılaşmasını takiben bu antijenin intravezikal instilasyonu ile deneysel sistit oluşturulması tanımlanmıştır (29-31). Tip I hipersensitivite cevabına bağlı olduğundan, mast hücreleri sistit gelişiminde önemli bir rol oynar. Ovalbüminin, sistemik duyarılılaştırılmamış kobaylara intravezikal uygulanmasının hiçbir etkisi olmamıştır. Bu model farelere de uyarlanmıştır ve antijenin intravezikal verilmesinin sistite neden olduğu, ancak genetik olarak mast hücrelerinden yoksun farelerde olmadığı gösterilmiştir (32, 33). Fonksiyonel NK-1 reseptörleri bulunmayan farelerde antijen ile sistit oluşmaması, nörojenik inflamasyonun bu sistit modelinde önemli bir rol oynadığına dair güçlü kanıt sağlamaktadır (34).

Antijenlere karşı hassasiyet, MAS özelliklerini tekrarlar ve transgenik farelerde URO-OVA (sistit) modeli, genel mesane inflamatuvar mekanizmaları hakkında bilgi verebilir. Fabpl-OVA, (kolit) ve URO/Fabpl-OVA (sistit-kolit) modelleri ile birlikte kullanıldığında visseral organ (barsak-mesane) çapraz iletişimine ilişkin daha fazla bilgi sağlayabilir (35).

MCP-1'i aşırı eksprese eden transgenik URO-MCP-1 farelere intravezikal lipopolisakkarit verilmesi ile de MAS özellikleri oluşturulmuştur (36).

Antijen ile oluşturulan sistitin avantajları, enfeksiyöz veya zararlı maddelerin sistemik veya intravezikal olarak verilmemesi ve mesane inflamasyonunun gelişmesinin altında yatan mekanizmaların, intrinsik immün ve nörolojik yanıtları gerektirdiği gerçeği ile ilgilidir. Bununla birlikte, bu modelin dezavantajları, esas olarak, MAS'lı hastalarda benzer bir patogenez için açık kanıt eksikliğinden kaynaklanmaktadır (15).

c. Otoimmün Sistit Modeli

Mesaneye karşı yönlendirilen oto-antikorların MAS'ın nedeni olabileceği ileri sürülmüştür (37). Farelerde (38-41) ve sıçanlarda (41) singenetik kemirgenlerden elde edilen homojenize mesane dokusunun adjuvanla birlikte enjeksiyonu ile otoimmün sistit oluşturulmuştur (38-41). Bu deneysel otoimmün sistit murin modelinin, MAS'lı insanlardaki değişikliklere benzer birtakım fonksiyonel ve histolojik mesane değişiklikleri sergilediği gösterilmiştir (40,41). İlginç bir şekilde sistit, hassas fareler (38) ve sıçanlardan (41) elde edilen dalak ve lenf düğümleri homojenat süspansiyonlarının naif farelere intraperitoneal enjeksiyonu yoluyla da transfer edilebilmiştir. Transfer yoluyla sistitin oluşturulması, bağışıklık hücrelerinin kapasitesinin normal mesane dokusunu tanıması ve buna yanıt vermesi olduğunu ortaya koymaktadır (15).

Otoimmün sistit, uroplakin II gen promoteri tarafından farenin gen dizilimine OVA gen dizisinin sokulması sonucunda ürotelyumun ovalbümin (OVA) eksprese ettiği transgenik farelerde de oluşturulmuştur (42, 35). Transgenik farelerde (Tg-OVA), spontan olarak sistit oluşmamış, fakat invitro olarak OVA peptidi ile inkübe edilmiş Tg-OVA farelerinden elde edilen CD8 + T hücrelerinin intravenöz enjeksiyonu ile sistit ile meydana gelmiştir. OVA'ya cevap veren CD8 + T hücrelerini eksprese eden çift transgenik Tg-OVA farelerde ise spontan olarak sistit gelişmiştir.

Üroplakinler (UPK) ürotelyumun bir integral membran proteinleri ailesini içerir ve mesane dokusunda yüksek oranda eksprese edilir (10). UPK2 ile immünizasyonun, mesane spesifik otoimmün yanıtı ve farelerde yeterli mesane enflamasyonu oluşturduğu gösterilmiştir (10). Bununla birlikte, UPK2 tarafından oluşturulan hayvan modeli, MAS'ın ana semptomlarından biri olan kronik ağrıyı gösterememiştir. Ancak, UPK3A ile immünizasyonun, von Frey filamanlarıyla stimülasyona karşı artmış pelvik ağrı yanıtları da dahil olmak üzere, tüm baskın MAS fenotipik özelliklerini oluşturduğunu göstermiştir (14). UPK ile immünize edilen fareler artmış idrar sıklığı, ürotelyal bariyer kaybı, inflamatuvar reaksiyon ve fibroz doku stimülasyonu göstermiştir (10,14). Bu sonuçlar dikkate alındığında, UPK3A bir MAS hayvan modeli oluşturmak için kullanılabilir (43).

DeneySEL otoimmün sistit modeli, nonülseratif interstisyel sistite benzer bir tablo oluşturur (41, 44). Ancak, ağrı ile ilgili davranışlara dair bir kanıt bildirilmemiştir. Pek çok özellik nonspesifiktir. Bununla birlikte, nonülseratif interstisyel sistitte görülen inflamatuvar infiltrat yokluğunda, artmış idrar sıklığı ve vasküler konjesyonun immünite ile ilişkili potansiyel mekanizmaların araştırılması yararlı olabilir.

d. İntravezikal İrritanlarla Oluşturulan Modeller

Birçok araştırmacı intravezikal olarak uygulanan toksinlerin mesane üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Terebentin, hardal yağı veya krotton yağının intravezikal instilasyonunun sistit oluşturduğu bildirilmiştir (8). Sistit ayrıca sıçanlarda ve farelerde hidroklorik (45,46) veya asetik (47,48) asitin intravezikal uygulamasıyla da oluşturulmuştur. Ayrıca sistit oluşturmak için sıçanlarda, (49) tavşanlarda (7) ve maymunlarda (50) aseton kullanılmıştır. Yine bu amaçla dişi beyaz Yeni Zelanda tavşanlarının

mesanelerine asidik fosfat uygulamıştır (6). İntravezikal asit verilerek oluşturulan modelde, insanlarda görülen, epitelyal denudasyon, inflamasyonda anormal artış, nöral hücre aktivasyonu ve anjiyogenez gibi birçok bulgular gösterilmiştir (51).

Çalışmalar, MAS'ın, mesane enfeksiyonu tarafından başlatılabileceğini ve enfeksiyon iyileştikten sonra kronik mesane ağrısıyla karakterize olan, enfeksiyon sonrası mesane duyarlılığına yol açabileceğini göstermektedir. E. coli LPS, sistit başlatmak için mesaneye yerleştirilen en sık bakteriyel üründür (52). Sıçanlarda, sistit oluşturmak için LPS infüzyonundan önce glikozaminoglikan tabakasını yok etmek için mesaneye protamin sülfat uygulanmaktadır (53-56). Tek bir üropatojenik E.coli suşunun, O-antijen ekspresyonuna bağlı olarak ağrı fenotipi sergileyebileceği gösterilmiştir (57). Ayrıca, farelerde, substans P ve Escherichia coli LPS verilmesi inflamatuvar yanıt oluşturmaktadır (58). Üriner enfeksiyon modeli, periferik sensitizasyon gösteren ve daha sonra merkezi duyarlılığa ilerleyen modellerdendir (57)

Zayıflatılmış bir Mycobacterium bovis suşundan hazırlanan Bacillus Calmette-Gueirin'in, farelerin mesanelerine verilmesinin şiddetli inflamasyonu uyardığı bildirilmiştir (59). Bir pilot çalışmada, intravezikal olarak sentetik bir antiproliferatif faktör kullanan bir fare modelinde insan biyopsi örneklerinin bulgularına benzer şekilde histopatolojik değişiklikler oluşturmuştur (60). Ayrıca, fare mesanesine vasküler endotelyal büyüme faktörü verilmesi, periferik sinir yoğunluğunda, mesane fonksiyonu ve visceral duyarlılıkta değişikliklerle önemli bir artış sağlamıştır (61).

Eksojen irritan modellerin avantajı, zamanlamanın, sürenin ve inflamasyonunun şiddetinin kontrolüne izin vermeleridir. Ne yazık ki, bu sonuçlar, muayene ve tedavi sırasında inflamasyon oluşan hastalara uygulanabilir olmayabilir. Bu modellerin dezavantajları, birincil

olarak, mesane ve sinir sisteminin bu bileşiklere tepkisinin altında yatan mekanizmaların sistitli hastalarda enflamasyon ve ağrıyla ilgili olup olmadığına ilişkindir (15). Yalnızca sağlıklı mesanenin zararlı ajanlara tepkisine odaklanan modeller, mesaneye verilen hasar aralığını anlamamızı geliştirmelerine rağmen, interstisyel sistitin geçerli modelleri olamaz (5).

e. Sistemik İrritanlar ile Oluşturulan Modeller

Sistit oluşturmak için kemirgenlerin CYP ile sistemik tedavisi en az 40 yıldır kullanılan ve mesane inflamasyonu oluşturmak için kullanılan en yaygın hayvan modellerinden birisidir (62-66). Siklofosamid karaciğer tarafından akroleine metabolize edilir ve mesanenin içindeki akrolein varlığının, sistitin nedeni olduğu düşünülmektedir (3, 67-71). Akroleinin mesaneye doğrudan uygulanmasının sistit oluşturduğu gösterilmiştir (9, 72-74). Sıçanlar ve farelerde, CYP modelleri ile mesane işlevinde, somatik duyumda ve mesanenin inflamatuvar ortamında değişiklikler gösterilmiştir (12). MAS'ın anahar nosiseptif ve idrar yapma fenotiplerini (örn. Mesanenin gerilme ağrısı, dokunsal allodini, spontan ağrılı davranışlar ve idrar sıklığı) ve mast hücreleri aktivasyonu, mesane-bağırsak çapraz ilişkisi ve yüksek ürener "nerve growth factor" seviyeleri gibi diğer özelliklerini tekrarlar (75). CYP modeli, periferik sensitizasyon gösterip daha sonra merkezi duyarlılığa ilerler (63). CYP modeli, MAS'ın bazı belirtilerini ve semptomlarını yansıtan bir mesane enflamasyonu modelidir (3, 76).

E. coli LPS'nin sistemik olarak (intraperitoneal veya intravenöz) uygulanması, sıçanlarda ve farelerde mast hücrelerinin aktivasyonu, sitokinlerin üretimi ve lökositlerin mesane mukozaya yüzeyinde birikmesi gibi bir inflamatuvar yanıtı uyardığı bildirilmiştir (11, 53, 58, 77).

Farelerde PRV'nin kuyruğa enjeksiyonu, omurilikte inflamatuvar değişikliklerin yanısıra, pelvik ağrı ve MAS'ın bazı özelliklerine benzer bir mesane inflamasyonu gelişmesine neden olur (13, 14, 78-82). PRV modeli, pelvik özgüllüğün ve organ çapraz ilişkisinin yanı sıra mast hücreleri artışı ve ürotelyal patolojik bulguları gösteren nörojenik bir inflamasyondur (83). Psödorabies virüsünün enjeksiyonu, virüs enjeksiyonundan sonraki 5 gün içinde mesane kontraktürüne neden olabilir ve bu nedenle bu model insan MAS'ını doğru olarak yansıtmıyor olabilir (14). Bir eğreltiotu toksininin, idrarın mesaneye ulaşmasının engellenmesi durumunda bile hemorajik sistite neden olduğu gösterilmiştir (84). Charrua ve arkadaşları, dişi sıçanlara deri altına fenilefrin vererek bir kronik adrenerjik stimülasyona bağlı sistit modeli geliştirmişlerdir (85).

f. Stres modelleri

Kronik stres modelleri (anne yoksunluğu, sosyal stres, immobilizasyon, soğuk, sabit aydınlatma, su yoksunluk stresi ve elektrikli ayak şoku) mesanede morfolojik değişiklikler, ürotelyal bariyer bozulması, inflamasyon ve ayrıca viseral hiperaljeziye neden olabilir (86-96). Sıçanların su yoksunluk stresi veya tekrarlanan değişken stres'e maruz kalması ile yüksek anksiyete, artmış mesane ağrının algılanması (artmış visseromotor yanıt-VMR), (86) taktıl allodini, (96) ve artmış idrar sıklığı (96, 97) ile karakterize MAS semptomlarını taklit eden bir fenotip oluşturmuştur. Bu stres modellerinin dezavantajı, spesifik sıçan suşları için görünen sınırlamalarıdır (75). Tanımlanan yanıtlar genellikle mesaneye özgü değildir ve uyaran kaldırıldığında sağlıklı hayvanlar normale döner (90).

g. Pelvik Organ Çapraz İlişkisi

MAS'lu hastalarda, bağırsak komorbiditesi ve diyete bağlı mesane semptomlarının alevlen-

mesi, hayvan modellerinde iyi karakterize edilmiş bir durum olan pelvik organlar arasında çapraz ilişki olduğunu düşündürmektedir.

MAS komorbiditelerinin doğası, pelvik organlar arasındaki çapraz ilişkinin enflamatuvar mekanizmalara doğru uzandığını göstermektedir. Berkley ve ark. tarafından yapılan araştırmalar, kimyasal veya endometriozis modelinde oluşturulan uterus inflamasyonunun, aynı zamanda sıçanlarda mesane ve kolon inflamasyonunu indüklediğini ve bu inflamatuvar çapraz ilişkinin hipogastrik sinir rezeksiyonu ile bloke edildiğini göstermiştir (98). Benzer şekilde, kimyasal veya mekanik uyarılar tarafından oluşturulan kolon hasarı, mast hücre aktivasyonu ile birlikte olan mesane enflamasyonuna yol açmıştır (99). Akut kolit ve akut sistit sıçan modelinde, mesane ve kolonun birbirini çapraz olarak duyarlılaştırabildiği gösterilmiştir (100).

Murin nörojenik sistit modelinde yapılan çalışmalar, pelvik çapraz ilişkinin ağrıya doğru uzandığını göstermektedir. Pseudorabies virüsü ile infekte edilmiş fareler, pelvik bölgeye özgü olan dokusal aşırı duyarlılık ya da allodini göstermiştir (83). Distal kolona lidokain uygulandığında pelvik ağrı azalmış ve bu mesane ve bağırsak arasındaki çapraz ilişki ağrı davranışı düzeyinde de ortaya çıkmıştır (83).

C. MODELLERDE DEĞERLENDİRME YÖNTEMLERİ

Ağrının algılanmasının değerlendirilmesi

Ağrı, hayvan modellerinde ölçülmesi gereken öznel bir duygudur. Çok sayıda ağrı testi yöntemleri mevcuttur (101). Ağrının algılanması, mesane distansiyonuna karşı VMR ve alt karına von Frey filamentleri uygulanarak (dokusal allodini) değerlendirilebilir (75). Diğer deneysel metodlar, insanlarda sıklıkla kronik ağrı ile ilişkili olan anksiyete ile ilgili viseral hipersensitiviteyi ve göreceli durumlarını ölçebilir (102, 103).

Abdominal VMR ile ağrının algılanmasının nicel değerlendirmesi.

MAS hastaları, mesanenin dolumu ile artan ağrı bildirmektedirler. Kemirgenlerde, bu mesane distansiyonu ve VMR ile incelenmektedir (63). VMR, mesane distansiyonu ile uyarılan ağrının algılanmasının ölçümü için kullanılmaktadır. Bu test ile visseral hipersensitivite değerlendirilmektedir (63). Mesane distansiyonu sırasında, abdominal VMR veya elektromiyografik sinyallerin artması, hayvanın mesane gerilmesinden ağrı duyduğu zaman, artan koruma ve abdominal çekilmeye karşılık gelir. VMR, MAS hastalarında gözlemlenen mesane distansiyonuna karşı olan hipersensitiviteyi (hiperaljezi) taklit eden mesane distansiyon basıncı ile bir doz-yanıt ilişkisini gösterir (63, 104) VMR, enflamasyon ile kolaylaştırılır ve analjezikler tarafından inhibe edilir (105).

Von Frey filamentleri ile ağrının algılanmasının ve dokusal allodininin ölçülmesi.

Viseral bir organdan kaynaklanan ağrı, tipik olarak, visseral organ ile spinal innervasyonu paylaşan deri üzerine karşılık gelen bir dermatoma yansır (64). MAS'da en çok bildirilen ağrı bölgesi suprapubik alandır (106). MAS hastaları ayrıca, kantitatif duyuşal testler sırasında suprapubik alanda mekanik stimülasyona karşı aşırı duyarlılık gösterirler (107). Mesaneden yayılan visseral ağrı, mekanik allodini ile ölçülebilen kutanöz aşırı duyarlılık olarak kendini gösterebilir (108). Hayvanlarda pelvik ağrının algılanmasının değerlendirmek için, kalibre edilmiş naylon von Frey filamentleri ile uygulanan kuvvete yanıt olarak alt abdominal bölgenin dokusal allodini ölçülmektedir (83, 109). von Frey allodini cevabı analjezikler tarafından inhibe edilmiştir (83). von Frey filamentleri ile yapılan testler, izole pelvik ağrı ile global ağrı (pelvis ve arka pençe) arasında farklılaşmaya izin verir (109).

Üriner Sıklığın Değerlendirilmesi

İşeme aktivitesi, işeme kafesleri veya kurutma pedi deneyleri kullanılarak ve ürodinami ile değerlendirilebilir.

İşeme kafeslerini kullanarak serbest işeme aktivitelerini ölçmek.

Fareler, işeme kafeslerine yerleştirilip idrar sıklığı, işeme hacimleri, toplam idrar çıkışı ve genel aktivite, gerçek zamanlı olarak kaydedilir (110).

İdrar lekeleme paternlerini kullanarak serbest işeme aktivitelerinin belirlenmesi.

Kemirgenlerin serbest işeme aktivitesi, bir pet lekelemesi analizi yoluyla yarı kantitatif olarak belirlenebilir. Bu yaklaşımda, kemirgen altına bir ped serilerek bir kafesin içine konulur ve işeme olayları, ultraviyole ışığı altında görümlenen veya metilen mavisi ile boyanan ve bilinen su hacimlerine göre kalibre edilen idrar damlaları olarak tanımlanır. Yirmidört saat içindeki idrar sıklığı, işeme hacimleri ve toplam işeme hacmi, ölçülür (65).

Ürodinami

Mesane fonksiyonu ve ürodinami sırasında mesane dolumuna yanıt olarak idrar sıklığı da serbest işeme verilerini tamamlamak için kemirgenlerde standartlaştırılmış metodoloji kullanılarak ölçülebilir (111). Sistometri detrusor basıncı, kontraktilite, uyum, inter-kontraktıl aralıklar ve işemesiz mesane kasılmalarının varlığı ya da yokluğunu ölçülebilmektedir (75).

SONUÇ

Yapılan çalışmalarda tüm modellerde değerlendirme yöntemleri ile saptanan bulgular standart ve sabit değildir. CYP ve stres modellerinde, mesane distansiyonuna nosisepsiyon, pelvik nosisepsiyon ve artmış idrar sıklığı olduğu saptanmıştır (75). Sistometri bulguları ise liposakkarit ve üroplakin modellerinde 2 hafta

süreyle devamlılık göstermiştir (43). Histolojik analizlerde, özellikle üroplakin modelinde mesanelerde mast hücrelerinin belirgin bir şekilde artmış olduğu ve artmış doku fibrozisinin meydana geldiği gösterilmiştir (43).

Kaynaklar

1. Fry CH, Daneshgari F, Thor K, Drake M, Eccles R, Kanai AJ, et al. Animal models and their use in understanding lower urinary tract dysfunction. *Neurourol Urodyn*. 2010; 29 (4):603–8.
2. Birder LA, Hanna-Mitchell AT, Mayer E, Buffington CA. Cystitis, co-morbid disorders and associated epithelial dysfunction. *Neurourol Urodyn*. 2011; 30(5):668–72.
3. Girard BM, Tooke K, Vizzard MA. PACAP/Receptor system in urinary bladder dysfunction and pelvic pain following urinary bladder inflammation or stress. *Front Syst Neurosci*. 2017; 4;11:9. doi: 10.3389/fnsys.2017.00090
4. Andersson KE. Animal in vivo models of lower urinary tract dysfunction: translational value. *J Urol*. 2013;189(5):1622-3.
5. Westropp JL, Buffington CA. In vivo models of interstitial cystitis. *J Urol*. 2002;167(2 Pt 1), 694–702.
6. Elgebaly SA, Allam ME, Walzak MP Jr, Oselinsky D, Gillies C, Yamase H. Urinary neutrophil chemotactic factors in interstitial cystitis patients and a rabbit model of bladder inflammation. *J Urol* 1992;147(5):1382-7.
7. Kato K, Kitada S, Longhurst PA, Wein AJ, Levin RM. Time-course of alterations of bladder function following acetone-induced cystitis. *J Urol* 1990;144 (1):1272-6.
8. McMahon SB, Abel C. A model for the study of visceral pain states: chronic inflammation of the chronic decerebrate rat urinary bladder by irritant chemicals. *Pain* 1987;28(1):109-27.
9. Sakata T, Smith RA, Garland EM, Cohen SM. Rat urinary bladder epithelial lesions induced by acrolein. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1989;9 (1):159-69.
10. Altuntas CZ, Daneshgari F, Sakalar C, Goksoy E, Gulen MF, Kavran M, et al. Autoimmunity to uroplakin II causes cystitis in mice: a novel model of interstitial cystitis. *Eur Urol* 2012;61(1):193-200.
11. Tambaro S, Casu MA, Mastinu A, Lazzari P. Evaluation of selective cannabinoid CB(1) and CB(2) receptor agonists in a mouse model of lipopolysaccharide-induced interstitial cystitis. *Eur J Pharmacol* 2014;729 (1):67-74.
12. Golubeva AV, Zhdanov AV, Mallel G, Dinan TG, Cryan JF. The mouse cyclophosphamide model of bladder pain syndrome: tissue characterizati-

- on, immune profiling, and relationship to metabotropic glutamate receptors. *Physiol Rep* 2014;2(3):e00260.
13. Jasmin L, Janni G, Ohara PT, Rabkin SD. CNS induced neurogenic cystitis is associated with bladder mast cell degranulation in the rat. *J Urol* 2000;164(3 Pt 1):852-5.
 14. Izgi K, Altuntas CZ, Bicer F, Ozer A, Sakalar C, Li X, et al. Uroplakin peptide-specific autoimmunity initiates interstitial cystitis/painful bladder syndrome in mice. *PLoS One* 2013;8(8):e72067.
 15. Bjorling DE, Wang ZY, Bushman W. Models of inflammation of the lower urinary tract. *NeuroUrol Urodyn* 2011;30(5):673-82.
 16. Osbaldiston GW, Taussig. Clinical report on 46 cases of feline urological syndrome. *Vet Med Small Anim Clinician*. 1970; 65(5):461-468.
 17. Gao X, Buffington CA, Au JL. Effect of interstitial cystitis on drug absorption from urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994; 271(2):818-823.
 18. Buffington CA, Chew DJ, DiBartola SP. Interstitial cystitis in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996;26(2):317-26.
 19. Buffington CA, Blaisdell JL, Binns SP Jr, Woodworth BE. Decreased urine glycosaminoglycan excretion in cats with interstitial cystitis. *J Urol* 1996;155(5):1801-4.
 20. Lavelle JP, Meyers SA, Ruiz WG, et al. Urothelial pathophysiological changes in feline interstitial cystitis: a human model. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278(4):F540-53.
 21. Birder LA, Barrick SR, Roppolo JR, Kanai AJ, de Groat WC, Kiss S, Buffington CA. Feline interstitial cystitis results in mechanical hypersensitivity and altered ATP release from bladder urothelium. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285(3):F423-9.
 22. Birder LA, Wolf-Johnston A, Buffington CA, Roppolo JR, de Groat WC, Kanai AJ. Altered inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in the bladder of cats with feline interstitial cystitis. *J Urol* 2005;173(2):625-9.
 23. Piche T, Barbara G, Aubert P, Bruley des Varannes S, Dainese R, Nano JL, et al. Impaired intestinal barrier integrity in the colon of patients with irritable bowel syndrome: involvement of soluble mediators. *Gut*. 2009; 58(2):196-201.
 24. Buffington CA. Visceral pain in humans, lessons from animals. *Curr Pain Headache Rep*. 2001; 5(1): 44-51.
 25. Byrne DS, Sedor JF, Estojak J, Fitzpatrick KJ, Chiura AN, Mulholland SG. The urinary glycoprotein GP51 as a clinical marker for interstitial cystitis. *J Urol*. 1999;161(6):1786-90.
 26. Whitmore K. Self-care regimens for patients with interstitial cystitis. *Urol Clin North Am*.1994; 21(1): 121-30.
 27. Jones B, Sanson RL, Morris RS. Elucidating the risk factors of feline urologic syndrome. *New Zeal Vet J*.1997; 45(3): 100-8.
 28. Stella JL, Lord LK, Buffington CAT. Sickness behaviors in response to unusual external events in healthy cats and cats with feline interstitial cystitis. *J Amer Vet Med Assoc*. 2011; 238(1):67-73.
 29. Saban R, Christensen M, Keith I, Graziano FM, Udem BJ, Aagaard J, et al. Experimental model for the study of bladder mast cell degranulation and smooth muscle contraction. *Semin Urol*. 1991; 9(2):88-101.
 30. Christensen MM, Keith I, Rhodes PR, Graziano FM, Madsen PO, Bruskewitz RC, et al. A guinea pig model for study of bladder mast cell function: histamine release and smooth muscle contraction. *J Urol* 1990;144(5):1293-300.
 31. Kim YS, Levin RM, Wein AJ, Longhurst PA. Effects of sensitization on the permeability of urothelium in guinea pig urinary bladder. *J Urol* 1992;147(1): 270-3.
 32. Saban R, Saban MR, Nguyen NB, Hammond TG, Wershil BK. Mast cell regulation of inflammation and gene expression during antigen-induced bladder inflammation in mice. *Physiol Genomics*. 2001; 7(1):35-43.
 33. Ahluwalia A, Giuliani S, Scotland R, Maggi CA. Ovalbumin-induced neurogenic inflammation in the bladder of sensitized rats. *Br J Pharmacol* 1998; 124(1):190-6.
 34. Saban R, Saban MR, Nguyen NB, Lu B, Gerard C, Gerard NP et al. Neurokinin-1(NK-1) receptor is required in antigen-induced cystitis. *Am J Pathol*. 2000; 156(3):775-780.
 35. Liu W, Evanoff DP, Chen X, Luo Y. Urinary bladder epithelium antigen induces CD8+ T cell tolerance, activation, and autoimmune response. *J Immunol*. 2007; 178(1):539-46.
 36. Xu S, Wang X, Wang Y, Lutgendorf S, Bradley C, Schrepf A, et al. Transgenic mice expressing MCP-1 by the urothelium demonstrate bladder hypersensitivity, pelvic pain and voiding dysfunction: A multidisciplinary approach to the study of chronic pelvic pain research network animal model study. *PLoS One*. 2016 29;11(9):e0163829.
 37. Silk MR. Bladder antibodies in interstitial cystitis. *J Urol*. 1970; 103(3):307-309.
 38. Bullock AD, Becich MJ, Klutke CG, Ratliff TL. Experimental autoimmune cystitis: a potential murine model for ulcerative interstitial cystitis. *J Urol*. 1992; 148(6):1951-1956.
 39. Phull H, Salkini M, Purves T, Funk J, Copeland D, Comiter CV. Angiotensin II plays a role in acute murine experimental autoimmune cystitis. *BJU Int*. 2007; 100(3):664-667.

40. Lin YH, Liu G, Kavran M, Altuntas CZ, Gasbarro G, Tuohy VK, et al. Lower urinary tract phenotype of experimental autoimmune cystitis in mouse: a potential animal model for interstitial cystitis. *BJU Int*. 2008; 102 (11):1724–1730.
41. Lubner-Narod J, Austin-Ritchie T, Banner B, Hollins C 3rd, Maramba C, Price H, et al. Experimental autoimmune cystitis in the Lewis rat: a potential animal model for interstitial cystitis. *Urol Res*. 1996; 24(6):367–373.
42. Liu W, Deyoung BR, Chen X, Evanoff DP, Luo Y. RDP58 inhibits T cell-mediated bladder inflammation in an autoimmune cystitis model. *J Autoimmun*. 2008; 30(4):257–265.
43. Song PH, Chun SY, Chung JW, Kim YY, Lee HJ, Lee JN, et al. Comparison of 5 Different Rat Models to Establish a Standard Animal Model for Research Into Interstitial Cystitis. *Int Neurourol J*. 2017; 21(3):163–170.
44. Mitra S, Dagher A, Kage R, Dagher RK, Lubner-Narod J. Experimental autoimmune cystitis: further characterization and serum autoantibodies. *Urol Res*. 1999;27(5):351–6.
45. Rivas DA, Chancellor MB, Shupp-Byrne S, Shenot PJ, McHugh K, McCue P. Molecular marker for development of interstitial cystitis in rat model: isoactin gene expression. *J Urol*. 1997;157(5):1937–1940.
46. Hauser PJ, Bueth DA, Califano J, Sofinowski TM, Culkin DJ, Hurst RE. Restoring barrier function to acid damaged bladder by intravesical chondroitin sulfate. *J Urol*. 2009; 182(5):2477–2482.
47. Fraser MO, Chuang YC, Tyagi P, Yokoyama T, Yoshimura N, Huang L, et al. Intravesical liposome administration—a novel treatment for hyperactive bladder in the rat. *Urology*. 2003; 61(3):656–663.
48. Birdler LA, Nakamura Y, Kiss S, Nealen ML, Barrick S, Kanai AJ, et al. Altered urinary bladder function in mice lacking the vanilloid receptor TRPV1. *Nat Neurosci*. 2002; 5(9):856–860.
49. Shimizu I, Kawashima K, Hosoki K. Urodynamics in acetone-induced cystitis of anesthetized rats. *Neurourol Urodyn*. 1999;18(2):115–27.
50. Ghoniem GM, Shaaban AM, Clarke MR. Irritable bladder syndrome in an animal model: a continuous monitoring study. *Neurourol Urodyn* 1995;14(6):657–65.
51. Song M, Lim J, Yu HY, Park J, Chun JY, Jeong J, et al. Mesenchymal stem cell therapy alleviates interstitial cystitis by activating Wnt signaling pathway. *Stem Cells Dev* 2015;24(14):1648–57.
52. Jerde TJ, Bjorling DE, Steinberg H, Warner T, Saban R. Determination of mouse bladder inflammatory response to *E. coli* lipopolysaccharide. *Urol Res*. 2000; 28(4):269–273.
53. Olsson LE, Wheeler MA, Sessa WC, Weiss RM. Bladder instillation and intraperitoneal injection of *Escherichia coli* lipopolysaccharide up-regulate cytokines and iNOS in rat urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998; 284(3):1203–1208.
54. Stein PC, Pham H, Ito T, Parsons CL. Bladder injury model induced in rats by exposure to protamine sulfate followed by bacterial endotoxin. *J Urol*. 1996; 155(3):1133–1138.
55. Meyer-Siegler KL, Ordorica RC, Vera PL. Macrophage migration inhibitory factor is upregulated in an endotoxin-induced model of bladder inflammation in rats. *J Interferon Cytokine Res*. 2004;24(1):55–63.
56. Weng TI, Chen WJ, Liu SH. Bladder instillation of *Escherichia coli* lipopolysaccharide alters the muscle contractions in rat urinary bladder via a protein kinase C-related pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005; 208(2):163–169.
57. Rudick CN, Jiang M, Yaggie RE, Pavlov VI, Done J, Heckman CJ, et al. O-antigen modulates infection-induced pain states. *PLoS ONE*. 2012; 7(8):e41273.
58. Bjorling DE, Jerde TJ, Zine MJ, Busser BW, Saban MR, Saban R. Mast cells mediate the severity of experimental cystitis in mice. *J Urol* 1999;162(1):231–6.
59. Saban MR, Simpson C, Davis C, Wallis G, Knowlton N, Frank MB, et al. Discriminators of mouse bladder response to intravesical *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG). *BMC Immunol*. 2007 8:6. doi:10.1186/1471-2172-8-6.
60. Keay S, Leitzell S, Ochrczin A, Clements G, Zhan M, Johnson D. A mouse model for interstitial cystitis/painful bladder syndrome based on APF inhibition of bladder epithelial repair: a pilot study. *BMC Urol*. 2012;12:17. doi:10.1186/1471-2490-12-17.
61. Malykhina AP, Lei Q, Erickson CS, Epstein ML, Saban MR, Davis CA, et al. VEGF induces sensory and motor peripheral plasticity, alters bladder function, and promotes visceral sensitivity. *BMC Physiol* 2012;12:15. doi: 10.1186/1472-6793-12-15.
62. Locher GW, Cooper EH. Repair of rat urinary bladder epithelium following injury by cyclophosphamide. *Invest Urol*. 1970; 8(1):116–123.
63. Lai HH, Qiu CS, Crock LW, Morales ME, Ness TJ, Gereau RW 4th. Activation of spinal extracellular signal-regulated kinases (ERK) 1/2 is associated with the development of visceral hyperalgesia of the bladder. *Pain*. 2011; 152(9):2117–24.
64. Bielefeldt K, Lamb K, Gebhart GF. Convergence of sensory pathways in the development of somatic and visceral hypersensitivity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006; 291(4):G658–65.
65. Boudes M, Uvin P, Kerselaers S, Vennekens R, Voets T, De Ridder D. Functional characterization of

- a chronic cyclophosphamide-induced overactive bladder model in mice. *NeuroUrol Urodyn*. 2011; 30(8):1659–65.
66. Bon K, Lichtensteiger CA, Wilson SG, Mogil JS. Characterization of cyclophosphamide cystitis, a model of visceral and referred pain, in the mouse: species and strain differences. *J Urol*. 2003; 170(3):1008–12.
67. Cox PJ. Cyclophosphamide cystitis – identification of acrolein as the causative agent. *Biochem Pharmacol*. 1979; 28(24):2045–2049.
68. Lanteri-Minet M, Bon K, de Pommery J, Michiels JF, Menetrey D. Cyclophosphamide cystitis as a model of visceral pain in rats: model elaboration and spinal structures involved as revealed by the expression of c-Fos and Krox-24 proteins. *Exp Brain Res*. 1995; 105(2):220–232.
69. Eichel L, Scheidweiler K, Kost J, Shojaie J, Schwarz E, Messing E, Wood R. Assessment of murine bladder permeability with fluorescein: validation with cyclophosphamide and protamine. *Urology*. 2001; 58(1):113–8.
70. Batista CK, Brito GA, Souza ML, Leitão BT, Cunha FQ, Ribeiro RA. A model of hemorrhagic cystitis induced with acrolein in mice. *Braz J Med Biol Res*. 2006; 39(11):1475–81.
71. Wantuch C, Piesla M, Leventhal L. Pharmacological validation of a model of cystitis pain in the mouse. *Neurosci Lett*. 2007; 29;421(3):250–2.
72. Kalota SJ, Stein PC, Parsons CL. Prevention of acrolein-induced bladder injury by pentosan polysulfate. *J Urol*. 1992; 148(1):163–166.
73. Fraiser L, Kehrer JP. Murine strain differences in metabolism and bladder toxicity of cyclophosphamide. *Toxicology*. 1992; 75(3):257–272.
74. Bjorling DE, Elkahwaji JE, Bushman W, Janda LM, Boldon K, Hopkins WJ, et al. Acute acrolein-induced cystitis in mice. *BJU Int*. 2007; 99(6):1523–1529.
75. Lai H, Gereau RW 4th, Luo Y, O'Donnell M, Rudick CN, Pontari M, et al. Animal models of urologic chronic pelvic pain syndromes: Findings from the multidisciplinary approach to the study of chronic pelvic pain research network. *Urology*. 2015; 85(6):1454–65.
76. Rosen JM, Klumpp DJ. Mechanisms of pain from urinary tract infection. *Int J Urol*. 2014; 21 (Suppl 1):26–32.
77. Wille PR, Vitor R, Gabilan NH, Nicolau M. Plasma extravasation mediated by lipopolysaccharide-induced of kinin B1 receptors in rat tissues. *Mediators Inflamm*. 2001; 10(3):163–167.
78. Rudick CN, Schaeffer AJ, Klumpp DJ. Pharmacologic attenuation of pelvic pain in a murine model of interstitial cystitis. *BMC Urol*. 2009; 9:16. doi:10.1186/1471-2490-9-16.
79. Jasmin L, Janni G, Manz HJ, Rabkin SD. Activation of CNS circuits producing a neurogenic cystitis: evidence for centrally induced peripheral inflammation. *J Neurosci*. 1998; 18(23):10016–29.
80. Doggweiler R, Jasmin L, Schmidt RA. Neurogenically mediated cystitis in rats: an animal model. *J Urol*. 1998; 160(4):1551–6.
81. Yang W, Rudick CN, Hoxha E, Allsop SA, Dimitrakoff JD, Klumpp DJ. Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II is associated with pelvic pain of neurogenic cystitis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012; 303(3):F350–6.
82. Rudick CN, Pavlov VI, Chen MC, Klumpp DJ. Gender specific pelvic pain severity in neurogenic cystitis. *J Urol*. 2012; 187(2):715–24.
83. Rudick CN, Chen MC, Mongiu AK, Klumpp DJ. Organ cross talk modulates pelvic pain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007; 293(3):R1191–8.
84. Yoshida M, Saito T. Non-urotoxic induction of hemorrhagic cystitis by braxin C, a bracken toxin, in guinea pigs. *J Toxicol Sci*. 1994; 19(2):55–9.
85. Charrua A, Pinto R, Taylor A, Canelas A, Ribeiro-da-Silva A, Cruz CD, et al. Can the adrenergic system be implicated in the pathophysiology of bladder pain syndrome/interstitial cystitis? A clinical and experimental study. *NeuroUrol Urodyn*. 2015; 34(5):489–96.
86. Robbins M, DeBerry J, Ness TJ. Chronic psychological stress enhances nociceptive processing in the urinary bladder in high-anxiety rats. *Physiol Behav*. 2007; 91(5):544–50.
87. O'Mahony SM, Hyland NP, Dinan TG, Cryan JF. Maternal separation as a model of brain-gut axis dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011; 214(1):71–88.
88. Bradesi S, Schwetz I, Ennes HS, et al. Repeated exposure to water avoidance stress in rats: a new model for sustained visceral hyperalgesia. *AJP Gastro Liver Physiol*. 2005; 289(1):G42–53.
89. Spanos C, Pang X, Ligris K, Letourneau R, Alferes L, Alexacos N, et al. Stress-induced bladder mast cell activation: implications for interstitial cystitis. *J Urol*. 1997; 157(2):669–72.
90. Ercan F, San T, Cavdar S. The effects of cold-restraint stress on urinary bladder wall compared with interstitial cystitis morphology. *Urol Res*. 1999; 27(6):454–61.
91. Dalal E, Medalia O, Harari O, Aronson M. Moderate stress protects female mice against bacterial infection of the bladder by eliciting uroepithelial shedding. *Infect Immun*. 1994; 62(12):5505–10.
92. Jezernik K, Medalia O, Aronson M. A comparative study of the desquamation of urothelial cells during gestation and in adults mice following mo-

- derate stress or endotoxin treatment. *Cell Biol Int*. 1995;19(11):887-93.
93. Lee UJ, Ackerman AL, Wu A, Zhang R, Leung J, Bra-desi S, et al. Chronic psychological stress in high-anxiety rats induces sustained bladder hyperalgesia. *Physiol Behav* 2015;139:541-8.
94. Cetinel S, Ercan F, Cikler E, Contuk G, Sener G. Protective effect of melatonin on water avoidance stress induced degeneration of the bladder. *J Urol* 2005;173(1):267-270.
95. Alexacos N, Pang X, Boucher W, Cochrane DE, Sant GR, Theoharides TC. Neutensin mediates rat bladder mast cell degranulation triggered by acute psychological stress. *Urology* 1999;53(5):1035-40.
96. Merrill L, Malley S, Vizzard MA. Repeated variate stress in male rats induces increased voiding frequency, somatic sensitivity, and urinary bladder nerve growth factor expression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013; 305(2): R147-56.
97. Smith AL, Leung J, Kun S, Zhang R, Karagiannides I, Raz S, et al. The effects of acute and chronic psychological stress on bladder function in a rodent model. *Urology*. 2011; 78(4):967 e1-7.
98. Winnard KP, Dmitrieva N, Berkley KJ. Cross-organ interactions between reproductive, gastrointestinal, and urinary tracts: modulation by estrous stage and involvement of the hypogastric nerve. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006 ;291(6):R1592-601.
99. Ustinova EE, Gutkin DW, Pezzone MA. Sensitization of pelvic nerve afferents and mast cell infiltration in the urinary bladder following chronic colonic irritation is mediated by neuropeptides. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007 ;292(1):F123-30.
100. Pezzone MA, Liang R, Fraser MO. A model of neural cross-talk and irritation in the pelvis: implications for the overlap of chronic pelvic pain disorders. *Gastroenterology* 2005;128(7):1953-64.
101. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*. 2012; 211:39-50. doi:10.1016/j.neuroscience.2011.12.041
102. Nickel JC, Tripp DA, Pontari M, Moldwin R, Mayer R, Carr LK, et al. Interstitial cystitis/painful bladder syndrome and associated medical conditions with an emphasis on irritable bowel syndrome, fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *J Urol*. 2010; 184(4):1358-1363.
103. Feng B, La JH, Schwartz ES, Gebhart GF. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Neural and neuro-immune mechanisms of visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012; 15;302(10):G1085-98.
104. Ness TJ, Powell-Boone T, Cannon R, Lloyd LK, Fillin-gim RB. Psychophysical evidence of hypersensitivity in subjects with interstitial cystitis. *J Urol*. 2005; 173(6):1983-7.
105. Ness TJ, Elhefni H. Reliable visceromotor responses are evoked by noxious bladder distention in mice. *J Urol*. 2004; 171(4):1704-8.
106. Warren JW, Langenberg P, Greenberg P, Diggs C, Jacobs S, Wessellmann U. Sites of pain from interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *J Urol*. 2008; 180(4):1373-7.
107. Lai HH, Gardner V, Ness TJ, Gereau RW 4th. Segmental hyperalgesia to mechanical stimulus in interstitial cystitis/bladder pain syndrome: evidence of central sensitization. *J Urol*. 2014;191(5):1294-9.
108. Laird JM, Martinez-Caro L, Garcia-Nicas E, Cervero F. A new model of visceral pain and referred hyperalgesia in the mouse. *Pain*. 2001; 92(3):335-342.
109. Guerios SD, Wang ZY, Boldon K, Bushman W, Bjorling DE. Lidocaine prevents referred hyperalgesia associated with cystitis. *Neurourol Urodyn*. 2009; 28(5):455-460.
110. Wood R, Eichel L, Messing EM, Schwarz E. Automated noninvasive measurement of cyclophosphamide-induced changes in murine micturition frequency and volume and demonstration of pharmacologic sensitivity. *Urology*. 2001; 57 (6 Suppl 1):115-6.
111. Andersson KE, Soler R, Fullhase C. Rodent models for urodynamic investigation. *Neurourol Urodyn*. 2011; 30(5):636-46.

KISIM 5

ÜRİNER SİSTEM TAŞ
HASTALIĞI OLUŞUMU İLE
İLGİLİ SIK KULLANILAN
DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Kemal SARICA

Kalsiyum Oksalat Taşları

29

Ramazan KOCAASLAN

Neden insan böbreklerinde taşlar oluşur? Bu temel soruya bulunması zor bir cevabın olduğu tartışmasız bir gerçek. 1937'de Alexander Randall, papiller "plakların" oluştuğunu ileri sürdü. Kalsiyum fosfat, oluşacak taşın "nidus"unu oluşturuyor. Bu plakları "interstisyel dokuyu istila eden ve yerine geçen" oluşumlar olarak tanımladı (1,2). Taş oluşumu mekanizmasını tam olarak aydınlatamasa da Randall plaklarının Kalsiyum taşlarının oluşumunda en önemli faktörlerden biri olduğunu günümüzde kabul etmeliyiz. Ancak yine de taş oluşum mekanizmasını tüm aşamalarını açıklayacak bir fenomen olmadığını da biliyoruz. Proksimal medullo-papiller kompleksin ektopik biomineralizasyonunun, distal papillada, interstisyel Randall plakından önce ortaya çıktığı ve nihayetinde üriner taş oluşumuna doğru evirildiği teorik olarak bilinen bir gerçektir. Bu erken ektopik biyomineralizasyon sürecinin genetik ve çevresel nedenleri hakkında hala sınırlı bir bilgimiz var. Taşların şekillendirildiği bu zamansal evrimi tam olarak anlamın en iyi yolu, güvenilir, standartlaşmış bir "hayvan modeli" geliştirmek ve böylece dünyanın dört bir yanındaki

araştırmacıların verilerini paylaşmasına ve karşılaştırmasına ön ayak olmaktır. Bu amaç doğrultusunda üriner taş hastalıklarında hayvan modelleri ve özelinde kalsiyum oksalat taşları bölümünü yazma ihtiyacı doğmuştur.

Bu amaçla nefrolitiazisin mekanizmalarının anlaşılması için birçok farklı teorik modellerle beraber hayvan modelleri ve kimyasal modeller de tanımlanmıştır (3). Üriner sistem taş hastalığında hayvan modelleri üzerinde çalışmak bize anlaşılması zor bir sistemi ayırmaya ve her sistemin her bir parçasının ayrıntılı ve tek tek incelemeye olanak sağlar (4). Hayvan modellerinin en önemli özellikleri; karmaşık olmamalı, farklı iddia ve hipotezleri aynı anda test edebilmemize olanak sağlamalı ve tedaviyi değerlendirmemizi sağlamalıdır (3). Nefrolitiazis anlaşılması zor bir süreç olup, böbrek tübüllerinde kristal birikimi (nükleasyon), büyüme, agregasyon ve kristallerin durağanlaşması (retansiyon) olarak tarifleyebileceğimiz olgular dizisinin sonucu oluşur (5-9). Kristalloidler uygun koşullarda taş "nidus"unu dönüşmeye başlar ve taş büyümeğe başlar (8). Renal tübüller ve böbrekte taş oluşumunda rol oynayan her aşamayı anlamaya

yönelik hayvan modelleri vardır. Her ne kadar tavşan, domuz, köpek, fare ve hatta sirke sineği (*Drosophila*) gibi başka hayvanlar kullanılsa da ürolitiazis konusunda üzerinde en çok çalışılan hayvanlar ratlardır (4,10). Renal ve taş fizyolojisi hakkında elde ettiğimiz bilgiler genelde rat, az da olsa tavşan ve köpek deneylerinden elde edilmiştir.

Üriner taşlarının %80'i kalsiyum oksalat (CaOX) taşıdır. Genellikle kalsiyum fosfat (CaP) ile beraber bulunurlar. Bu nedenle CaOX taşları, üzerinde en çok çalışılan taşlardır. Başta ratlar olmak üzere hiperoksalürinin tetiklenmesi ile CaOX nefrolitiazisi oluşturulması sık uygulanan bir üriner taş modelidir. Model, gerçek hayatta var olan klinik durumlara yakın veri elde etmemizi sağlar ve bu durumların tekrar tekrar elde edilmesinde yardımcı olur. Bir deney modelini geliştirebilmek için modellenen "sürecin" yapısı ve oluşum mekanizmasını ayrıntılarıyla bilmek gerekmektedir. Bu nedenle hayvanlarda böbrek taşı modeli geliştirmeden önce Renal taşların yapısı ve oluşum süreçlerinin çok iyi bilinmesi gerekir. Bununla birlikte en sık kullanılan hayvan olan rat böbreğinin idrar kimyası ve anatomik yapısı çok iyi anlaşılmalıdır.

Hayvan Böbreği

İnsan böbreği ile rat, köpek ve tavşan gibi hayvanların renal üniteleri arasında önemli anatomik farklılıklar vardır (11). Özellikle rat, böbrek fizyolojisi ve anatomi çalışmalarında sık kullanılan bir hayvan olup birçok böbrek taşları ve hastalıklarının modellenmesinde tercih edilmektedir. Ratların ve insanların böbrekleri arasında bazı doğal farklılıklar vardır, bunların en büyüğü, rat böbreklerinin, insanın çoklu papiller böbreklerine kıyasla tek bir papillere sahip olmasıdır, yani daha az renal tübüle sahiptir. İnsan böbrekleri yaklaşık 170 g ağırlığında iken, 11x6x2 cm ölçülerinde ve yaklaşık 1.000.000 nefron var; Khan, ortalama 0.75-1.2

g, 1.6x1.0x0.9 cm ölçülerinde, daha az üriner tübül ve ortalama 30.000 nefron içeren, daha küçük bir toplama sistemine sahip olan rat böbreklerini bildirmiştir (12). Ayrıca ratın renal pelvisi çok daha küçüktür. Bu nedenle küçük boyutlarda pelvis taşı oluşturulabilmektedir. Bununla beraber medulla/korteks hacmi insan böbreği ile yaklaşık aynı (1:2), tavşanda ise 1:16'dır. Ancak böbrek boyutu ve pelvisindeki bu boyut farkları kendini oluşturulacak taşların boyutunda göstermektedir. Staghorn taş oluşturmak ratlarda mümkün olmamakla beraber belli boyutlarda renal pelvis taşı oluşturmak mümkündür.

Rata ait renal epitel hücreleri; gerçekleşen kristalizasyon ile birlikte birçok modülatör üretir (13). İn situ hibridizasyon ve ultrastrüktürel teknikler kullanılarak normal ve nefrolitiazisli rat böbreği hakkında ayrıntılı bilgilere ulaşılmıştır. Normal bir rat böbreğinde; 1-Tamm-Horsfall proteini ve 2-Nefrokalsin: proksimal tübül de, 3-Osteopontin (üropontin) renal kalikslerdeki papiller yüzey epitelinde 4-Kristal Matriks Proteini Distal kıvrımlı tübüllerinde ve aynı zamanda bu makromoleküllerin tamamı henle kulpunun çıkan kalın kolunda da bulunmaktadır (14,15).

Ratlarda Nefrolitiazis Modelleri

Ratlarda, CaOX taşı başta olmak üzere, ürolitiazis çok nadirdir (16). Bu nedenle taş oluşturmak amacıyla kristalizasyon inhibitörlerinin eksresyonunun önlenmesi, kristalize olabilen maddelerin üriner eksresyonunun artırılması ve üriner pH'nın manipüle edilmesi gibi yollarla hayvanlarda CaOX taşı oluşturulmaktadır.

CaOX Nefrolitiazis Modelleri

Ratlarda CaOX taşları temel olarak kronik veya akut hiperoksalüri yolu ile oluşturulur. Ratlarda hiperoksalüri için çok sayıda model tanımlan-

Tablo 1. Hiperkalsüri ve hiperoksalüri ile ilişkili rat modelleri (3)

Yaklaşım türü	Litojenik ajan, referans	Diet/uygulama	Etkiler
Melez Yetiştirme (cross-breeding)	<i>Aynı soydan çiftleştirme, Hiperkalsürik progeny6-(13,33)</i>	-Doğurgan çoklu nesil, Birden çok diyet / ajan uygulandı	-Hiperkalsüri -Hiperoksalüri -CaOX, CaP kristalleri
Eksojen indüksiyon	<i>NaOX (15-19)</i>	-10 mg / kg sodyum oksalatın intraperitoneal enjeksiyonu	-CaOX kristal birikintileri -Bellini kanallarında kristal agregasyon
	<i>Glycolic acid (20)</i>	-Toz%3 glikolik asitle su içilmesi	-hiperoksalüri -hipositratüri -CaOX kristal birikimi
	<i>Etilen Glikol (EG) (16,21-29)</i>	-Amonyum klorür, D vitamini, kalsiyum klorür içeren / içermeyen suda%0,75 EG	-CaOX kristal birikimi ve kristalüri -hiperoksalüri -renal toksisite
	<i>Hidroksi-L-prolin (HLP) (31-33)</i>	-2,5 kg / kg HLP'nin intraperitoneal enjeksiyonu -%5 HLP ile karıştırılmış	-Hiperoksalüri -CaOX kristal birikintileri -Diğer ajana kıyasla daha az toksik
Diyet manipülasyonu	<i>Potasyum oxalate supplement (34)</i>	-%5 potasyum oksalat seviyesi	-CaOX kristal birikintileri
	<i>Magnezyum (Mg) eksikliği (35)</i>	-Diyet Mg yoksunluğu	-CaP kristal birikintilerinin artışı
	<i>Vitamin B6 (piridoksin) eksikliği (36,37)</i>	-Piridoksin diyetten çıkarılması	-Hiperoksalüri -hipositratüri -CaOX kristal birikintileri
Cerrahi	<i>Bağırsak rezeksiyonu (38-40)</i>	-Terminal ileumun distal 40-45 cm rezeksiyonu -Diyette yüksek oksalat / düşük kalsiyum / yüksek lipid yağının kombinasyonu	-Hiperoksalüri -hipositratüri -CaOX, CaP, CaCO3 kristal birikintileri
	<i>Gastrik bypass ameliyatı (46)</i>	-Roux-en-Y gastrik bypass -%40 yağ ve%1,5 sodyum oksalat diyeti	-Hiperoksalüri -CaOX kristal birikintileri

mıştır; sodyum oksalat (NaOX , $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$), glikolik asit ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_3$), etilen glikol (EG) ve hidroksi-L-prolin (HLP) dahil olmak üzere litojenik malzemelerin eksojen yolla uygulanması en bilinenlerdir (17-22).

Ratlarda bu ajanların verilmesinin yolları arasında içme suyunu modifikasyonu, zenginleştirilmiş yem, oral sonda ile beslemek, intraperitoneal enjeksiyon ve hatta oksalat (OX) içeren ozmotik mini pompaların subkütan

implantasyonu da vardır (12). İlginç bir şekilde hiperoksalürik ajan ile birlikte, özellikle glikolik asit ile, vitamin D verip magnezyumdan fakir diyet vermek idrarda oksalatı artırır, sitrat miktarını azaltmaktadır. Amonyum klorür (NH_4Cl) uygulaması ile beraber idrar pH'sının düşürülüp bu maddelerin verildiği protokoller ile de taş oluşum ihtimali arttırılmaktadır.

Khan ve meslektaşları, nefronun farklı bölgelerinin, NaOX'ın intraperitoneal enjek-

Tablo 2. İçme suyuna %0,75'lik EG katılan erişkin erkek ratlardaki idrar kimyası

Gün	Kalsiyum	Oxalate	Magnezyum	Sitrat
0	6.94±0.7	1.12±0.1	17.6±0.9	29.5±2.2
7	2.704±0.3	3.83 ± 0.3	14.8 ± 1.7	18.0 ± 2.8
14	1.954 ± 0.5	4.86 ± 0.5	12.7 ± 1.3	15.4 ± 2.8
21	2.164 ± 0.8	4.20 ± 0.6	14.1 ± 1.8	11.12 ± 2.4
28	2.04 ± 0.4	4.15 ± 0.6	13.1 ± 1.2	9.9 ± 2.6
35	2.06 ± 0.4	4.11 ± 0.6	13.3 ± 1.7	9.7 ± 2.1

siyonundan sonra geçen süreye bağlı olarak, tahmin edilebilir kalsiyum oksalat kristal oluşumunu yansıttığını göstermişlerdir (17) Erkek Sprague-Dawley ratlarına uygulanan değişken (3, 5, 7, 9 ve 10 mg / kg) NaOX dozları, doza bağlı olarak kalıcı hiperoksalüri ve kristaller oluşturur (18-20). Kontrol grubuna kıyaslandığında 10 mg/kg NaOX alan ratlar 7. güne kadar %500 daha fazla CaOX idrarda ekskrete eder. Bu kristaller daha sonra toplayıcı tübüller, papillalar gibi yapıların içerisinde birikmeye başlar. Verilen NaOX miktarı; üriner sistemde oluşacak olan kristallerin sayısını, büyüklüğünü ve ekskresyon süresini doğrudan etkiler. NaOX verildikten sonra 15. dakikada ilk, 6. saatte ise maksimum ekskresyon gerçekleşir. Bu süre boyunca 3 mg OX verilen nefrolitiazisli ratların idrarında ki Na düzeyi kontrol grubundan 2 kat fazla iken; bu düzey 10 mg OX verilen ratlarda 5 kattan fazladır. OX düşük dozlarda tübüller lümende birikse de birkaç gün de temizlenir. Ancak yüksek dozlarda OX, tübüller epitel ve lamina da birikmekle birlikte interstisyuma ilerler. Bir kısım kristalloid yumakları epitele tutunamaz ve idrar ile atılır; ancak büyük kristalloidler retansiyona daha yatkındır. Böbrek epiteline tutunabilen kristalloidler ve idrara ekskrete edilemeyecek kadar büyük olan kristal adacıkları, interstisyuma ilerlerler. Kortikomedüller sınır ve distal papilla rat böbreğinde kristal agregasyonunun en fazla görüldüğü lokalizasyonlardır.

İdrardan OX ekskresyonunu artırmanın di-

ğer bir yolu ise rat'a etilen glikol (EG) vermektir. Üriner sistem taşı oluşturmak için %0,75'lik EG solüsyonunu erişkin erkek ratın tüketmesi yeterlidir (Tablo 2) (23). EG ürolitiazis oluşturma özelliği ile beraber kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve sitrat ekskresyonunu azaltır. Sonuç olarak idrar CaOX süpersatürasyonu artar. %0,75'lik EG ile amonyumklorid (AC) kombinasyonu, kristalüri zamanını 12 haftadan 3 güne kadar, saptanabilir kalsiyum oksalat nefrolitiazis süresini ise 3 haftadan 1 haftaya kadar azaltmıştır (18). EG'ün tek başına ve sürekli uygulanması ile; yaklaşık olarak 12. günde persistan kristalüri ve 3 hafta sonra rat böbreklerinde kalıcı kristalloid birikimi başlar. Kronik hiperoksalürinin başlarında kristaller renal medullada, daha sonraki zamanlarda ise renal papillaların tabanı ve ucundaki toplayıcı kanallar kristal birikiminin en sık olduğu bölgeler haline gelir (24). En başta kristallerin çoğu intraluminal kümeler halinde iken 4-6 hafta sonra tübüller epitellerin arasında, intraselüler alanda ve interstisyumda kristaller görülür. EG+AC kombinasyonu ile 1. hafta sonunda veya tek başına EG uygulamasından 8 hafta sonunda ratların renal papillalarında taşlar oluşmaya başlar. Bu taşlarda CaOX monohidrat ve dihidrat kristalleri bulunur. Bu aşamada boyutları 1000 mikrona ulaşmıştır. Bu süreç genişleyerek tüm papillaların uçlarını etkilemeye başlar. Yapılan incelemelerde bu taşların renal papilla yüzeyindeki toplayıcı kanal lümeninden kaynaklandıkları saptanmıştır (25).

Akut ve Kronik hiperoksalüri de bazı enzimlerin idrara geçişinde artış saptanmıştır. Kronik hiperoksalürinin hafif formunda rat idrarında, oluşan böbrek hasarına bağlı olarak, N-Asetil-beta-glikozaminidazın seviyesi artmasına rağmen renal kristal birikimi henüz başlamamıştır. Kristal agregasyon, hücre membran enzimleri olan lösin aminopeptidaz, gama-glutamil transpeptidaz ve alkalin fosfatazın idrar çıkışında artışı ile yakından ilişkilidir (18). Bu hücre membran enzimlerinin idrardaki varlığı nefrolitiazisli rat böbreğinin tübül epitelinde hasar olduğunu gösteren bir durumdur (16). Bariz epitel hasarı özellikle kristal birikiminin olduğu tübüllerde görülmektedir. Epitel hücrelerinde yüzey hasarının da ötesinde iskemi ve nekrozda da görülen ve oksidatif stres ve inflamatuvar prosesleri düşündüren değişiklikler (endoplazmik retikulumda dilatasyon, lizozom artışı, intra-sitoplazmik ödem, vakuolizasyon, mitokondrial distansiyon) gibi bazıları irreversibil olan dejeneratif değişiklikler oluşur.

Bazı hücreler lizise uğrar ve hücre içeriği tübül lümene boşalır. Sonuçta renal papilla yüzeylerinde ağır epitelyum hasar oluşur. Sağlam kalan epitelyal hücreler arasındaki intraselüler matriks genişler ve nükleer parçalanmalar oluşabilir. İntra-tübül kristal parçacıkları genelde hücre membran parçaları ile bulunur. Hasarlı hücre membranının degradasyonu sonucu açığa çıkan lipid parçaları kristalloidler için heterojen bir nükleus (nidusa dönüşecek taş primeri) görevi görür (26). Epitel dejenerasyonu nedeni ile üriner kristalizasyon inhibe eden faktörlerin azalması sonucu, üriner oksalat ve CaOX kristalleri artar (27).

Deneyel hayvan modelleri ile ilgili çalışmalarda genelde erkek ratlar kullanılmıştır. Maalesef elde edilen bulgulara göre, erkek ratda CaOX nefrolitiazisi indükleyen düşük konsantrasyondaki EG solüsyonları dişi ratda aynı etkiyi göstermemektedir (24). %1'lik EG solüsyonu 4

hafta süre verilmesi ile 3/13 erkek ratda CaOX nefrolitiazisine yol açarken, bu oran dişi ratlarda 0/12'ye kadar düşer. Bu yöntemle idrarın asidifikasyonu tekniği eklense bile, taş oluşma oranı dişi ratda erkek ratdaki orana yaklaşılmamaktadır (erkek 5/6 ya dişi 1/9). Cinsiyet ve seks hormonlarının ratlardaki taş modeli üzerine olan etkisini görmek amacıyla normal gonadektomi yapılan erkek ile beraber dişi ratlara %0,5 EG verilen bir çalışmada, tüm ratlarda düşük seviyede bir CaOX kristalizasyonu rapor edilmiştir. İlginç bir şekilde normal erkek ratların 5/7'sinde renal taş saptanırken, kastre edilen erkek ratların sadece 1/7'sinde renal taş saptanmıştır. Hatta dişi ratların hiçbirinde renal taşa ya da kristalloid rastlanılmamıştır (28). Benzer bir şekilde Seung ve ark. yaptığı bir çalışmada; erkek ratlarda %0,2'lik EG solüsyonunun renal CaOX taşı oluşturmak için yeterli iken, benzer sonuç için dişi ratlarda %1 veya daha fazla EG verilmesi gerektiği bildirilmiştir (4).

Diyet manipülasyonları, intraperitoneal enjeksiyonlar gibi teknikler dışında cerrahi yöntemler de deneysel CaOX taşı modelleri oluşturmak için kullanılmıştır. Onlardan biri intestinal rezeksiyon diğeri ise gastrik bypass ameliyatlarıdır.

İntestinal rezeksiyon; Connor ve ark. terminal ileumun distal 40-45 cm'sini rezeke ettiler. Distal ileumun transeksiyonu ile beraber barsak rezeksiyonu yapılmadan re-anastomoz yapılan sham kontrolleri ile karşılaştırarak takip ettiler (29). Ameliyattan sonra bu ratlara, normal olarak, yüksek oksalat (%1 sodyum oksalat) / düşük kalsiyum (%0.02) / yüksek lipid (%18) yağlı diyet kombinasyonları verildi. Ameliyattan 4, 5, 6 ve 7 ay sonra ötenazi uygulandı. 24 saatlik idrar örnekleri, yüksek oksalat / düşük kalsiyum diyetinde olan farelerin korteks, medulla ve renal papilla boyunca hiperoksalüri, hipositratüri

ve kristaller geliştirdiğini gösterdi. Bu kristaller kalsiyum oksalat, hidroksiapatit (kalsiyum fosfat) ve kalsiyum karbonat karışımından oluşuyordu. İlginçtir ki, sham grubundan hiçbiri, yüksek oksalatlı diyet alanlarda bile kristalloid gelişimi izlenmedi. Bu durum bağırsak rezeksiyonunun kristal ve taş oluşumu üzerinde etkisinin önemini anlamamızı sağladı.

Aynı şekilde epidemiyolojik çalışmalar, Roux-en-Y gastrik bypass (RYGB) geçirmiş hastalarda taş gelişimini arttığı gösterilmiştir: üriner taşı hiç olmayanlarda 4 kat, önceden taşı olanlarda ise 2 kat artış izlenmiştir (30). Çok sayıda çalışma, RYGB sonrası bu hastaların anlamlı hiperoksalüri ve hipositatüri geliştirdiğini göstermiştir (31,32). Bu artan idrar oksalatının patofizyolojik açıklaması; fazla yağ asitleri ve kalsiyuma bağlanan safra tuzları ile oluşan bir "sabunlaşma" işleminden kaynaklanır, böylece fazla bağlanmamış oksalat, enterik sistem tarafından daha kolay emilir hale gelir (33,34). RYGB cerrahisinin bu özelliği ratlarda da kullanılmaktadır (35).

Ratlarda deneysel CaOX taşı modellerini tablo 1 de topluca görebilirsiniz. En kolay çoğaltılabilen ve en dayanıklı omurgalı deney hayvanlarından olan ratların, deneysel böbrek taşı modellerinde kullanımı ile ilgili tabii ki azda olsa dezavantajları da vardır. Şöyle ki; Bir omurgalı olarak rat, hayvan deneyleri için onay gerektirmekte ve son zamanlarda ratların maliyeti artmaktadır. Ratlar da kofajikdir (kendi dışkılarını yiyorlar), bu nedenle rutin diyetlerinde zorunlu olarak hesaba katılmayan elementleri tüketebilirler. Ayrıca rat çalışmalarının çoğunluğu bir hiperoksalüri modeli üretmeye odaklanmıştır. İnsan böbrek taşı hastalarının çoğunun hiperoksalüriden muzdarip olmadığına dikkat edilmelidir, bu nedenle bu modellemenin klinik uygulanabilirliği sınırlıdır. Ancak bu limitasyon diğer hayvan modelleri için de geçerlidir.

Kaynaklar

1. A. Randall, The origin and growth of renal calculi, *Ann. Surg.* 105 (1937)1009e1027.
2. A. Randall, Papillary pathology as a precursor of primary renal calculus, *J. Urol.* 44 (1940) 580
3. David T, Kazumi T, Chi T, Stoller M. L. Animal models of urinary stone disease *Int J Surg.* 2016 Dec;36(Pt D):596-606. doi: 10.1016/j.ijssu.2016.11.018. Epub 2016 Nov 10.
4. Oh SY, Kwon JK, Lee SY, Ha MS, Kwon YW, Moon YT. A Comparative Study of Experimental Rat Models of Renal Calcium Oxalate Stone Formation. *J Endourology* 2011; 25:1057-1061. <https://doi.org/10.1089/end.2010.0386>.
5. Finlayson B, Khan SR, Hackett RL. Theoretical chemical models of urinary stone. In: (Wickham JEA, ColinBuck A eds.). In: *Renal tract stone – metabolic basis and clinical practice.* Churchill Livingstone, New York, NY, 1990; pp. 133-147
6. Fredric L. Coe, Joan H. Parks (1988) *Pathophysiology of Kidney Stones and Strategies for Treatment, Hospital Practice*, 23:3, 185-207, DOI: 10.1080/21548331.1988.11703444.
7. Finlayson B. Calcium stones: some physical and clinical aspects. In: David DS (ed) *Calcium metabolism in renal failure and nephrolithiasis.* Wiley, New York, 1977; 337-382,
8. Kok DJ, Khan SR. Calcium oxalate nephrolithiasis, a free or fixed particle disease. *Kidney Int* 1994; 46:847-854. <https://doi.org/10.1038/ki.1994.341>.
9. Pak CYC. Etiology and treatment of urolithiasis. *Am J Kidney Dis* 1991; 18: 624-637. [https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(12\)80602-0](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(12)80602-0).
10. Khan SR, Hackett RL. Calcium oxalate urolithiasis in the rat: is it a model for human stone disease? A review of recent literature. *Scanning Microsc* 1985; 2: 759-774. (PMID:3901237)
11. Rouiller C. General anatomy and histology of the kidney. In: Rouiller C, Muller AF (eds) *The kidney; morphology, biochemistry, physiology.* Academic Press, New York, 1969; 61-155
12. S.R. Khan, *Animal models of calcium oxalate kidney stone formation, in: Animal Models for the Study of Human Disease, Elsevier, 2013, pp. 483-498.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415894-8.00021-X>.
13. Coe FL, Nakagawa Y, Parks JH. Inhibitors with in the nephron. *Am J Kidney Dis* 1991; 17: 407-413. [https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(12\)80633-0](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(12)80633-0).
14. Bachmann S, Metzger R, Bunnemann B. Tamm-Horsfall protein-mRNA synthesis is localized to the thick ascending limb of Henle's loop in rat kidney. *Histochemistry* 1991; 94: 517-523. <https://doi.org/10.1007/BF00272616>.

15. Kleinman JG, Beshensky A, Worcester EM, Brown D. Expression of osteopontin, a urinary inhibitor of stone mineral crystal growth in rat kidney. *Kidney Int.* 1995;47:1585-1596. <https://doi.org/10.1038/ki.1995.222>.
16. Khan SR, Hackett RL. Urolithogenesis of mixed foreign body stones. *J Urol* 1987; 138:1321-1328. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)43592-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)43592-0).
17. S.R. Khan, B. Finlayson, R.L. Hackett. Histologic study of the early events in oxalate induced intranephronic calculosis, *Invest. Urol.* 17 (1979) 199-202. (PMID:500316)
18. S.R. Khan, P.N. Shevock, R.L. Hackett, Acute hyperoxaluria, renal injury and calcium oxalate urolithiasis, *J. Urol.* 147 (1992) 226-230. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)37202-6](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)37202-6).
19. S.R. Khan. Pathogenesis of oxalate urolithiasis: lessons from experimental studies with rats, *Am. J. Kidney Dis.* 17 (1991) 398-401. [https://doi.org/10.1016/S0272-6386\(12\)80631-7](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(12)80631-7).
20. S.R. Khan, R.L. Hackett, Hyperoxaluria, enzymuria and nephrolithiasis, *Contrib. Nephrol.* 101 (1993) 190-193. <https://doi.org/10.1159/000422130>.
21. S.R. Khan, B. Finlayson, R.L. Hackett, Experimental calcium oxalate nephrolithiasis in the rat: Role of the renal papilla, *Am. J. Pathol.* 107 (1982) 59-69. (PMID: 7065125)
22. Y. Ogawa, K. Yamaguchi, M. Morozumi, Effects of magnesium salts in preventing experimental oxalate urolithiasis in rats, *J. Urol.* 144 (1990)385-389. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)39466-1](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)39466-1).
23. Çakır, Ö. O., Yürük, E., & Binbay, M. Üriner Sistem Taş Hastalığında Deneysel Modeller. *Endoüroloji Bülteni* 2014;7:13-17 DOI: 10.5350/ENDO2014070105.
24. Khan S.R, Glenton PA. Deposition of calciumphosphate and calcium oxalate crystals in the kidneys. *J Urol* 1995;153: 811-817. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)67728-0](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)67728-0).
25. Khan SR. Calcium oxalate crystal interaction with renal tubular epithelium, mechanism of crystal adhesion and its impact on stone development. *Urol Res* 1995; 23: 71-79. <https://doi.org/10.1007/BF00307936>
26. Khan SR, Atmani F, Glenton P, Hou Z-C, Talham DR, Khurshid M. Lipids and membranes in the organic matrix of urinary calcific crystals and stones. *Calcif Tissue Int* 1996; 59: 357-365. <https://doi.org/10.1007/s002239900140>.
27. Hackett RL, Shevock PN, Khan SR. Inhibition of calcium oxalate monohydrates crystal growth is decreased in renal injury. In: Ryall R. (ed) *Urolithiasis*, vol 2. Plenum, New York, 1994; 343-344. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2556-1_121.
28. Lee YH, Huang WC, Chiang H, Chen MT, Huang JK, Chang LS. Determinant role of testosterone in the pathogenesis of urolithiasis in rats. *J Urol* 1992; 147:1134-1138. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)37502-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)37502-X).
29. R.C. O'Connor, E.M. Worcester, A.P. Evan, et al., Nephrolithiasis and nephrocalcinosis in rats with small bowel resection, *Urol. Res.* 33 (2005) 105-115. <https://doi.org/10.1007/s00240-004-0460-4>.
30. T. Chen, E. Godebu, S. Horgan, H.S. Mirheydar, R.L. Sur, The effect of restrictive bariatric surgery on urolithiasis, *J. Endourol.* 27 (2013) 242-244. <https://doi.org/10.1089/end.2012.0408>.
31. B.N. Patel, C.M. Passman, A. Fernandez, et al., Prevalence of hyperoxaluria after bariatric surgery, *J. Urol.* 181 (2009) 161. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.09.028>.
32. N.M. Maalouf, P. Tondapu, E.S. Guth, et al., Hypocitraturia and Hyperoxaluria After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery, *J. Urol.* 183(2010)1026-1030. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2009.11.022>
33. A.F. Hofmann, M.F. Laker, K. Dharmasathaphorn, et al., Complex pathogenesis of hyperoxaluria after jejunoileal bypass surgery. Oxalogenic substances in diet contribute to urinary oxalate, *Gastroenterology* 84 (1983) 293. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(83\)80126-7](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(83)80126-7)
34. B.K. Canales, M. Hatch, Kidney stone incidence and metabolic urinary changes after modern bariatric surgery: review of clinical studies, experimental mo]. <https://doi.org/10.1016/j.soard.2014.03.026>
35. B.K. Canales, J. Ellen, S.R. Khan, M. Hatch, Steatorrhea and hyperoxaluria occur after gastric bypass surgery in obese rats regardless of dietary fat or oxalate, *J. Urol.* 190 (2013) 1102-1109 <https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.02.3229>.

Kalsiyum Fosfat Taşları

30

Mehmet İlker GÖKÇE

Giriş

Üriner sistem taş hastalığı ülkemiz için önemli bir sağlık problemidir ve hastaların böbrek fonksiyonlarında kalıcı kayıplara neden olabilmektedir (1). Her ne kadar taş kırma, üreterorenoskopi ya da perkütan nefrolitotomi gibi girişimsel işlemler kullanılarak hastalar taşlarından arındırılabilir de taş hastalığına yaklaşımda birincil hedef böbrekte taş gelişiminin engellenmesi olmalıdır. Bu nedenle böbrekte kristal oluşumu ve çökeltme mekanizmalarının anlaşılması için deneysel ve klinik çalışmaların yapılması son derece önemlidir.

Kalsiyum taşlarının gelişiminde en yaygın kabul gören görüş Randall Plakları'dır. Ancak Randall Plağı gelişmesine neden olan olaylar ve sonrasında taş oluşum mekanizmaları halen tam olarak anlaşılammıştır (2). Böbrek parankiminde biyomineralizasyon mekanizmaları üzerine son dönemde ortaya atılan bir başka görüş de medulla-papiller kompleks adı verilen yapılarda kalsiyum kristallerinin birikmesidir (3). Altta yatan bu mekanizmaların aydınlatılabilmesi için de standardize edilmiş deneysel hayvan modellerinin geliştirilmesi önemlidir. Bu bölümde Kalsiyum fosfat taşları-

nın gelişim mekanizmalarının aydınlatılmasında kullanılan hayvan modellerinden bahsedilecektir.

A. Rat modelleri: Rat böbreklerinin deneysel hayvan modeli olarak kullanılabilmesinin en önemli nedeni böbreklerde korteks/medulla oranının insan böbreklerinde olduğu gibi 2/1 oranında olmasıdır. Hiperkalsüri çalışmaları için Sprague-Dawley Ratları kullanılmaktadır. Bu ratlarda gastrointestinal sistemde, kemiklerde ve böbreklerde D vitamini reseptörleri bulunmaktadır ve buna bağlı olarak hem erkek hem de dişi ratlarda idrarda yüksek düzeyde kalsiyum atılımı olmaktadır (4, 5). Bu ratlar ile yapılan çalışmalarda hem kalsiyum oksalat hem de kalsiyum fosfat kristallerinin çökeltmesi açısından süpersatürasyon düzeylerinde artış olduğu ancak kalsiyum oksalat kristallerinin metastabilite üst sınırının da yükseldiği izlenmiştir. Bu nedenle bu ratlarda kalsiyum fosfat kristallerinin birikimi görülürken kalsiyum oksalat kristallerinin atılımı daha az izlenmektedir. Ayrıca bu ratlarda diyetle fosfat kısıtlaması yapıldığında da idrarda kalsiyum fosfat süpersatürasyonunun azaldığı kalsiyum fosfat kristallerinin ise atılmadığı görülmüştür (6).

Kullanılan Rat modelleri her ne kadar hiperkalsüri açısından faydalı olsa da insanlarda görülen abzorptif, rezorptif ya da renal hiperkalsüri gibi altta yatan nedenlere yönelik araştırma yapılmasına olanak sağlamamaktadır. Diyet manipülasyonları yapılarak hiperoksaluri için kullanılan rat modellerinden kalsiyum fosfat taşı oluşum modeli de elde edilebilmektedir. Diyetle magnezyum kısıtlaması yapılan hiperoksalürik ratlarda apatite taşlarının geliştiği gösterilmiştir. Benzer şekilde ince bağırsak rezeksiyonu yapılması sonrasında diyet modifikasyonu yapılması da hayvan modelleri elde edilebilmesi için izlenen bir yoldur. Örneğin ince bağırsak rezeksiyonu yapıldıktan sonra düşük kalsiyum ve yüksek oksalat içeren bir diyetin verilmesi ile böbrekte kalsiyum fosfat kristallerinin biriktiği gösterilmiştir (7).

B. Fare modelleri: Fare böbrekleri insan böbreklerinden özellikle tek papilla yapısında olması ve üretilen idrarın ozmolaritesinin yüksek olması ile ayrılmaktadır. Ancak korteks/medulla oranı insan böbreğine benzerlik göstermektedir ve bununla birlikte glomerüler ünite, tübül yapısı ve vasküler yapı da insan böbreğine benzemektedir.

Fare böbreklerinde istenilen deneysel modelin yaratılabilmesi için böbrek tübüllerindeki transporter proteinlerin etkin çalışmasının engellenmesi hedeflenmiştir. Kalsiyum fosfat taşlarının gelişmesinin modellenmesi için de sodyum fosfat transporter proteini hedeflenmiştir. Sodium-hydrogen exchanger regulator factor-1 (NHERF-1) hedeflenmesi ile idrarda kalsiyum, fosfat ve ürik asit atılımının arttığı gösterilmiştir.

C. Domuz modelleri: Domuz böbrekleri insan böbrekleri ile belirgin benzerlik göstermektedir. Domuz böbreklerinde de ayrı ve kompleks yapıları renal papillalar bulunmaktadır. Ancak do-

muz böbreklerinde 8 ila 12 papilla bulunurken insan böbreklerinde bu sayı 4-18 dir. Ayrıca domuz böbreklerinden üretilen idrarın ozmolaritesi insan idrarına yakın olup, glomerüler filtrasyon hızı ve toplam renal kan akım değerleri de benzerdir (8). Ancak domuz modelleri üriner sistem taş hastalığı çalışmalarında genellikle hiperoksalüri modellemeleri için kullanılmaktadır ve özellikle genç erkek Yorkshire-Durox domuzları en sık kullanılan modeldir (9). Kalsiyum fosfat taşları gelişimi üzerine domuz modellerinde yapılmış çalışma bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Muslumanoglu, A. Y, Binbay, M., Yuruk, E. et al. Updated epidemiologic study of urolithiasis in Turkey. I: Changing characteristics of urolithiasis. *Urol Res*, 39: 309, 2011
2. Daudon, M. Bazin, D., Letavernier, E.: Randall's plaque as the origin of calcium oxalate kidney stones. *Urolithiasis*, 43 Suppl 1: 5, 2015
3. Hsi, R. S. Ramaswamy, K., Ho, S. P. et al. The origins of urinary stone disease: upstream mineral formations initiate downstream Randall's plaque. *BJU Int*, 119: 177, 2017
4. Bushinsky, D. A., Favus, M. J.: Mechanism of hypercalciuria in genetic hypercalciuric rats. Inherited defect in intestinal calcium transport. *J Clin Invest*, 82: 1585, 1988
5. Yao, J., Kathalia, P., Bushinsky, D. A. et al.: Hyperresponsiveness of vitamin D receptor gene expression to 1,25-dihydroxyvitamin D3. A new characteristic of genetic hypercalciuric stone-forming rats. *J Clin Invest*, 101: 2223, 1998
6. Bushinsky, D. A., Parker, W. R., Asplin, J. R.: Calcium phosphate supersaturation regulates stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int*, 57: 550, 2000
7. Worcester, E. M., Chuang, M., Laven, B. et al.: A new animal model of hyperoxaluria and nephrolithiasis in rats with small bowel resection. *Urol Res*, 33: 380, 2005
8. Sorensen, M. D., Shah, A. R., Canney, M. S. et al.: Ureteroscopic ultrasound technology to size kidney stone fragments: proof of principle using a miniaturized probe in a porcine model. *J Endourol*, 24: 939, 2010
9. Mandel, N. S., Henderson, J. D., Jr., Hung, L. Y. et al.: A porcine model of calcium oxalate kidney stone disease. *J Urol*, 171: 1301, 2004

Ürik Asit Taşları

31

Murat BAĞCIOĞLU

Ürik asit taşları tüm böbrek taşlarının %8-10'luk kısmını oluştururlar ve hem saf hem de kalsiyum oksalat taşları ile birlikte görülebilirler (1). Literatürde de hayvan modelleri üzerinde taş oluşum, önleme ve tedavi mekanizmalarının araştırılması, geliştirilmesi için yapılan çalışmalarda görülme sıklıklarına bağlı olarak daha çok kalsiyum oksalat taşları üzerinde yoğunlaşmıştır. Ancak yine de farklı ülkelerde farklı araştırmacılar ürik asit taşlarının oluşum mekanizması üzerinde, doğru ve güvenilir standart bir hayvan modeli oluşturmaya çalışmışlar ve sonuçlarını sunarak literatüre katkı sağlamışlardır.

Ürik asit taşlarının oluşum mekanizması, çalışılan hayvan modelleri ve insanlar arasındaki farklılıkları anlamak için öncelikle pürin metabolizması, ürik asit oluşumu ve hiperürisemi hakkında bilgi sahibi olmak gerekir. Bunun nedeni de pürin metabolizmasının son ürününün türler arasında farklılık göstermesidir (2). Memelilerin çoğu ürik asit oksidaz enzimine sahiptirler ve çözünür haldeki ürik asiti daha çözünür olan allantoin indirgeyebilirler. Ancak insanlarda ve bazı primatlarda urat oksidaz geni mutasyona uğradığı için bu enzim kaybolmuştur ve bunun sonucu olarak pürin metabolizmasının son ürünü ürik asittir (3).

Artmış ürik asit seviyeleri insanlarda gut artiriti, ürik asit nefropatisi ve böbrekte ürik asit taşları gibi hastalıklar ile sonuçlanırken, diğer hayvanlarda son ürünün allantoin olması, ürik asit seviyelerinin ürik asit oksidaz enzim aktivasyonu nedeniyle düşük olması insan hiperürisemisine benzer bir deneysel hayvan modeli oluşturmanın önündeki en büyük engel olmuştur.

Literatüre bakıldığında eski çalışmaların daha çok hiperürisemik nefropati oluşumu ve etkileri üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. En dikkat çeken çalışma 1975 yılında Bluestone ve ark. tarafından kronik deneysel hiperürisemik nefropatinin oluşturulduğu çalışmadır (4). Çalışmacılar, erkek wistar ratlarda diyetlerine ek olarak verdikleri günlük 0.4 mg oksonik asit (ürikaz inhibitörü) ve 0.6 mg ürik asit ile kısmi şiddetli hiperürisemi ve şiddetli ürikozüri oluşturmuşlar. Sakrifiyon sonrası rat böbreklerinde yapılan histolojik incelemelerde 4 haftanın sonunda, intratübüler depositler, tübüler hasar ve nötrofilik granülosit cevabı ile birlikte erken tofus formasyonu ile karakterize ürik asit blokaj nefropatisi bulguları saptanmış. Hiperüriseminin 36 ve 52. haftalarından sonra ise renal yetmezlik bulgusu olmadan, rejenerasyon olmuş tübüllerin çevresinde interstisyel mono-

nükleer hücre infiltrasyonu, interstisyel fibröz dokuda artış, nadir de olsa renal tófüs formasyonu ve böbrek taşı olduğu görülmüştür. Bu esnada kan damarları ve glomerül yapılarının tamamen normal olduğu, ayrıca artirit ve diğer hedef organ tutulumlarının olmadığı gözlemlenmiştir. Yazarlar bu hayvan modelindeki 1 yıl sonunda oluşan kronik renal değişikliklerin insandaki gut nefropatisi ile benzerliğine dikkat çekmişlerdir.

Benzer bir çalışmada Lo ve ark. kazein ya da soya protein ile kombine edilmiş palm yağı ya da aspir tohumu yağının hiperürisemik ratlarda oluşan böbrek hasarı üzerindeki önleyici etkisini araştırmışlar (5). 180-200 g. ağırlığında 5 haftalık erkek wistar ratlar, her bir grupta 9 rat olacak şekilde 7 gruba ayrılmış. Diyetle modifiye AIN-93m yüksek yağ içerikli diyet başlanmış. 6 gruba diyetin %2'sini oluşturacak şekilde oksonik asit ve %3'ünü oluşturacak şekilde ürik asit verilmiş. R grubu kontrol grubu olarak belirlenmiş ve bu gruptaki normal sağlıklı ratlara diyet içeriğinde kazein ve mısır özü yağı verilmiş. HY-AL grubunda hiperürisemik ratlara kazein ve mısırözü yağı; HY+AL grubunda hiperürisemik ratlara kazein ve mısır özü yağı ile birlikte allopurinol (150 mg/l); HY+CP grubunda hiperürisemik ratlara kazein ve palm yağı; HY+CS grubunda hiperürisemik ratlara kazein ve aspir tohumu yağı; HY+SP grubunda hiperürisemik ratlara soya protein ve palm yağı; HY+SS grubunda hiperürisemik ratlara soya ve aspir tohumu yağı verilmiş. 8 hafta boyunca haftada iki kez ratların ağırlıkları ölçülmüş. Tedavi öncesinde, 2, 4, 6, 8. haftalarda ve sakrifikasyon öncesinde kuyruk venlerinden açlık kan örnekleri 0.5 ml olarak alınarak serum ürik asit ve triaçilgliserol düzeyleri ölçülmüş. Sakrifikasyon ile birlikte böbrek ve diğer organlar histopatolojik inceleme için alınmış ve değerlendirilmiş. Sonuç olarak oksonik asit ve ürik asit verilerek oluşturulan hiperürisemik

rat modelinde, lökosit yüksekliği, kan üre ve böbrek TGF- β düzeylerinde artış ve böbrek NO düzeyinde düşüş saptanmış, böbrekte ürik asit kristallerinin olduğu ve tübüler hasara neden olduğu gösterilmiş. Allopurinol ile serum ürik asit düzeyinin azaldığı, ancak böbrek hasarında iyileşme olmadığı belirlenmiş. Hiperürisemik ratlarda aspir tohumu yağının antihiperlipidemik etkisi mevcut iken palm yağının hiperlipidemik etkili olduğu ve triaçilgliserol, üre, kreatinin ve böbrek TGF- β düzeylerini yükselterek renal disfonksiyonu arttırabileceği saptanmış. Soya proteini ile aspir tohumu yağının kombinasyonunun hiperürisemi kaynaklı renal hasarı belirgin şekilde azalttığı tespit edilmiş ve tüm bu diyet modifikasyonlarının insanlar üzerinde de etkili olabileceği konusuna dikkat çekilmiş.

Wu ve ark. 1994 yılında insan hiperürisemisine ve sonuçlarına daha benzer sonuçlar içeren bir hayvan modeli yaratabilmek ve hastalığın tedavisi için daha etkili tedavi modalitelerinin bulunabilmesi adına, farede embriyonik kök hücreler hedef alınarak homolog rekombinasyon yolu ile urat oksidaz üretiminden sorumlu gen lokusunda mutasyon yaratmışlardır (6). Bu yöntemle oluşturulan mutant farelerde ürik asit oksidaz enzim aktivasyonu tamamen kaybolmuş ve bunun sonucu olarak serum ürik asit seviyelerinde normalin 10 katı kadar artış saptanmıştır. Serum ürik asit seviyelerindeki artış, tübül lümenlerinin ürik asit kristalleri ile dolması ve sonrasında obstrüktif nefropati ile karakterize böbrek hasarına yol açmıştır. İnsanda gut nefropatisi ile benzer özellik göstermesine rağmen bu mutant farede oluşan urat nefropatisi bazı farklılıklara sahiptir. Örneğin farede saptanan böbrek hasarı çok erken dönemde ve çok daha şiddetli izlenmiş ve dolayısıyla yüksek ölüm oranı (%65) ilk birkaç haftada tespit edilmiştir. İnsanlarda hematolojik maligniteler nedeniyle verilen kemoterapi sonrası görülen ürik asit nefropatisinin seyri, bu deneysel çalışmada

oluşturulan durum ile benzer özellikler göstermektedir.

Carvalho ve ark. 2003 yılında ürik asit metabolizmasındaki defektleri nedeniyle ürik asit ekskresyonları fazla olan bu nedenle ürik asit taşı oluşumuna yatkın olan Dalmaçyalı köpekler üzerinde nefrokalsin, Tamm-Horsfall proteini (THP) ve glikozmaninoglikanlar (GAG) gibi kristalizasyonda inhibitör olan maddelerin etkilerini deneysel hayvan modeli oluşturarak incelemişlerdir (7). Araştırmacılar daha önce en az bir kez ürik asit taşı öyküsü olan (infrared spektrofotometre ile kanıtlanmış) 10 Dalmaçyalı köpek ve kontrol grubu olarak da daha önce taş öyküsü olmayan sağlıklı 5 Dalmaçyalı köpek üzerinde çalışmışlar. Her iki gruptan 24 saatlik idrar toplama işlemi gerçekleştirilmiş, işlem öncesinde ve sonrasında mesanede kalan idrarlar transüretal sonda uygulaması ile alınmış. Köpekler metabolik kafeslerde takip edilmiş ve beslenmeleri aralarında fark olmayacak şekilde sağlanmış, her an suya erişime izin verilmiş. Toplanan idrar örneklerinde yüksek performanslı likid kromatografi yöntemi kullanılarak THP, GAG ve nefrokalsin izole edilmiş ve miktarları hesaplanarak karşılaştırılmış. Her iki grupta da beklendiği üzere idrarda yüksek miktarda ürik asit ekskresyonu saptanmış ancak iki grup arasında fark gözlenmemiş. Taş öyküsü olan Dalmaçyalı köpeklerde sağlıklı gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı miktarda THP'nin az olduğu tespit edilmiş. Yine taş öyküsü olan köpeklerde GAG miktarının da diğer gruba göre göreceli olarak az olduğu ancak arada istatistiksel bir anlam olmadığı görülmüş. Yazarlar sonuç olarak hiperürikozüri, ürik asit taşı oluşumu ve kristalizasyon inhibitörleri arasındaki ilişkilerin irdeleneceği araştırmalar için Dalmaçyalı köpekler ile oluşturulacak hayvan modellerinin kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.

Iba ve ark. 2010 yılında yaptıkları çalışmada metabolik sendrom modeli oluşturulmuş rat-

larda insülin rezistansı ve üriner taş oluşum riski arasındaki ilişkiyi araştırmışlar (8). Dört haftalık erkek Otsuka Long-Evans Tokushima (OLETF, insan tip 2 diabet ve metabolik sendrom modeli oluşturulmuş ratlar) ve Long-Evans Tokushima (LETO, diabetik olmayan kontrol) ratları her birinden 10 tane olmak üzere standart diyet ve su kısıtlaması olmaksızın beslenmiş. Vücut ağırlıkları, serum ve idrarda biyokimyasal analizler ise 4 haftada bir tekrarlanmış. İkinci bir protokol olarak da 10 haftalık OLETF ve LETO ratlar her grupta 9'ar adet olmak üzere üç gruba ayrılmış ve 3 ya da 10 mg/kg/gün dozunda insülin rezistansını iyileştirici ajan olarak kullanılan pioglitazon oral olarak uygulanmış. Yapılan incelemelerde, OLETF ratlarda istatistiksel olarak anlamlı oranda idrar Ph'nın ve sitrat ekskresyonunun düşük olduğu, idrarda ürik asit ve kalsiyum atılımının fazla olduğu, vücut ağırlığının arttığı, serum trigliserit, glukoz ve insülin seviyelerinin de yüksek olduğu saptanmış. OLETF ratlara 4 hafta boyunca pioglitazon uygulanmasının doz bağımlı olarak idrar Ph'sını arttırdığı, ancak idrar ile sitrat, ürik asit, kalsiyum, oksalat ve magnezyum atılımı üzerinde değişikliğe neden olmadığı gösterilmiş. Tüm bu sonuçların, metabolik sendromun hem ürik asit hem de kalsiyum taşı oluşumu için riski arttırdığı, insülin rezistansının düzeltilmesiyle idrar Ph'sındaki artışın ürik asit taşı oluşumunu önleyebileceği belirtilmiştir.

Butler ve ark. 2012 yılında yaptıkları çalışmada Fuji-Kuriyama laboratuvarında üretilen aril hidrokarbon reseptörleri harap edilmiş farelerin mesanelerinde büyük ve sarı renkli taşların oluşum mekanizmasını araştırmışlar (9). Bu taşların analizinde ürik asit taşı olduğu belirlenmiş, fareler 10 haftalık büyüklüğe ulaştıklarında taşların fare mesanesinde çok küçük bir şekilde belirmeye başladığını, 6 aylık büyüklüğe ulaştıklarında ise genellikle mesanede 3-4 mm boyutunda 2-3 adet taş olduğunu

belirtmişler. Yapılan biyokimyasal incelemeler serum ürik asit konsantrasyonunun normal olduğunu ancak idrardaki ürik asit konsantrasyonunun diğer farelere oranla 10 kat fazla (40-50 mg/dl) olduğunu ortaya çıkarmış. Böbrekte herhangi bir histopatolojik bulguya rastlanmaz ve pürin metabolizmasındaki tüm enzimler de normal aktivasyon mevcut iken oluşan bu ürik asit atılım fazlalığının nedenini araştırmışlar ve neden olarak nükleik asitlerin parçalanması ve sonucunda oluşan mesane hücrelerindeki yüksek turn-overin olduğunu tespit etmişler. Mesanenin fibrotik olduğu ve mesane epitelinin luminal kısmının eozinofilik granüllerle dolduğu gözlenmiş. Mesanede yapılan histopatolojik inceleme, bazı epiteliyal hücreler arasında E-cadherinin kaybolduğunu, immün hücrelerin ve invazyon yapan epitelyal hücrelerin genişlemiş submukozal alanı doldurduğunu göstermiştir. Sonuç olarak aril hidrokarbon reseptörlerinin olmayışının detoksifikasyon yapan enzimlerin çalışmasını engellediği, böylece ankonjuge sitotoksinler ve karsinogenlerin mesanede arttığı, bunun da inflamasyon ve apoptoziste artışa neden olduğu, artan ürik asit atılımının da ürik asit taşlarının oluşumuna yol açtığı hipotezine yazarlar tarafından varılmıştır. Dolayısıyla bu fareler ürolojide mesane ürik asit taşlarının planlandığı çalışmalar için deney hayvan modeli olarak kullanıma uygundur.

Kaynaklar

1. Maalouf NM, Cameron MA, Moe OW, Sakhaee K. Novel insights into the pathogenesis of uric acid nephrolithiasis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004;13:181-9.
2. Christen P, Peacock WC, Christen AE, Wacker WE. Urate oxidase in primate phylogenesis. *Eur J Biochem* 1970;12:3-5.
3. Wu XW, Muzny DM, Lee CC, Caskey CT. Two independent mutational events in the loss of urate oxidase during hominoid evolution. *J Mol Evol* 1992;34:78-84.
4. Bluestone R, Waisman J, Klinenberg JR. Chronic experimental hyperuricemic nephropathy. *Lab Invest* 1975;33:273-9.
5. Lo H-C, Wang Y-H, Chiou H-Y, Lai S-H, Yang Y. Relative efficacy of casein or soya protein combined with palm or safflower-seed oil on hyperuricaemia in rats. *Br J Nutr* 2010;104:67-75. doi:10.1017/S0007114510000310.
6. Wu X, Wakamiya M, Vaishnav S, Geske R, Montgomery C, Jones P, et al. Hyperuricemia and urate nephropathy in urate oxidase-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:742-6.
7. Carvalho M, Lulich JP, Osborne CA, Nakagawa Y. Role of urinary inhibitors of crystallization in uric acid nephrolithiasis: Dalmatian dog model. *Urology* 2003;62:566-70.
8. Iba A, Kohjimoto Y, Mori T, Kuramoto T, Nishizawa S, Fujii R, et al. Insulin resistance increases the risk of urinary stone formation in a rat model of metabolic syndrome. *BJU Int* 2010;106:1550-4. doi:10.1111/j.1464-410X.2010.09216.x.
9. Butler R, Inzunza J, Suzuki H, Fujii-Kuriyama Y, Warner M, Gustafsson J-Å. Uric acid stones in the urinary bladder of aryl hydrocarbon receptor (AhR) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:1122-6. doi:10.1073/pnas.1120581109.

Sistin Taşları

32

Bilger ERİHAN

Sistinüri eşliğinde gelişen sistin taşı araştırıldığı literatürde çeşitli hayvan modeli çalışmalarına rastlamaktayız. Genel olarak genler üzerinden yapılan çalışmaların söz konusu olduğunu söyleyebiliriz. Sistinüri insanlarda sıklıkla görülebilen, sistin ve dibazik aminoasitlerin renal proksimal tübüller ve barsaklarda reabzorpsiyonunu engelleyerek (Aminoasit transport sisteminde, örn: rBAT/b⁰+AT heterodimerik kompleksi hasarı sonucu) sonuçta rekürren sistin taşı oluşumuna sebep olabilen, otozomal resesif bir hastalıktır. Üriner sistin ekskresyonu >400 mg/gün seviyesinde görülür. Böbrek taşlarının erişkinlerde %1-2, çocuklarda ise %6-8 sebebi olduğunu söyleyebiliriz. Kalsiyum oksalat taşına kıyasla sistin taşı daha yüksek oranda kronik böbrek yetersizliğine sebep olur (1). Renal tübüler epitelyal hücrelerde ve intestinal alanda sistin ve dibazik aminoasit-

lerin defektif transportu sözkonusu olup, sonuçta idrarda bahsi geçen aminoasitlerin konsantrasyonu artacaktır. İdrarda sistin ve dibazik aminoasitlerin selektif hiperekskresyonunun gösterilmesi yolu ile tanı konulabilir. Ek olarak sistin taşları görüntüleme yöntemleri ile tespit edilebilir. Vakaların %95'inde görülen 2 tip mutasyon söz konusudur. SLC3A1 mutasyonu daha çok heterozigot olarak ve sessiz seyreden bir tabloya (Sistinüri tip A- Fenotip I) yol açarken, SLC7A9 mutasyonu ise heterozigotlarda aşırı sistin ve dibazik aminoasit ekskresyonu sonucu sistinüri tip B'ye yol açar. (Fenotip non-I). SLC7A9 mutasyonu fenotip non-I'in %84'ünde ve fenotip I'in %10'unda görülmektedir. Sistinüri hayvan modeli olarak köpeklerle ilgili çalışma ilk 1823 yılında yapılmıştır.

1966 yılında California Üniversitesi'nden Cornelius ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada

Tablo 1

SLC3a1 mutasyonu (rBAT proteini hasarı)	Sistinüri Tip A (Normal sistin ekskresyonu)	Fenotip I (Genelde sessiz)
SLC7a9 mutasyonu (b ⁰ +AT proteini hasarı)	Sistinüri Tip B (Yüksek sistin ve dibazik aminoasit ekskresyonu)	%85-90 Fenotip non-I

(2). Dachshund cinsi köpekler üzerinde idrar analizleri yapılmış. 7 sağlam ve 4 sistinürik köpek üzerinde çalışma yapılmış. Hasta köpeklerin idrar örnekleri, cerrahi işlem yapıldıktan sonra alınmış. Sistin taşı olan 4 köpekte sistin ve lizin konsantrasyonunun belirgin şekilde yükseldiği, arjinin ve ornitinde ise değişiklik olmadığı gözlenmiş. Sistin taşı oluşumu her zaman üriner sistin yüksekliğiyle korele olmasa da, Dachshund cinsi köpeklerde random idrarda sistin yüksekliğinin sistin taşı varlığı konusunda klinisyende şüphe uyandırabileceği öne sürülmüş.

1971 yılında Philadelphia Çocuk Hastanesi'nde Holtzaple ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (3) lizin ekskresyonunun sistinden daha az olduğunu ve insanların aksine ornitin ve arjinin ekskresyonunun olmadığını, ayrıca köpeklerde barsak ya da böbrek patolojisi normal görüldüğü, izole sistinürinin insanlardan daha fazla görüldüğü ifade edilmiş. Köpeklerde mesane ya da üretra taşları için operasyon esnasında Treitz ligamanına yakın bölgede jejunal mukozadan ve renal korteksten biyopsi örnekleri alınmış. Sonuçta hiçbir köpekte arjininüri ya da ornitinüri olmadığı ve dibazik aminoasidüri olmadan izole sistinüri olduğu belirtilmiş. Sistin taşı oluşturan köpeklerin böbrek patolojilerinde sistin ve lizin transportu normal olup, aralarında başlangıç uptake farkı olmadığı belirtilmiş. İnsan hastalığı açısından model oluşturabilecek köpek hastalığının dikkatle gözlenmesi ve sistinin izole aşırı ekskresyonu ile seyreden hastalığın köpeklerde, insanlara kıyasla daha sık gözlendiği, köpeklerde dibazik aminoasidüri olmasa da aşırı sistinürinin insan hastalığı ile karşılaştırmalı irdelenebileceği öne sürülmüştür.

1986 yılında Burns ve Hamrick'in yaptığı bir çalışmaya (4) göre sistin taşını çözmek, eritmek için kullanılan materyallerden en etkilisinin %2 asetilsistein olduğu ve pH 10 seviyesinde daha etkili olduğu öne sürülmüştür. Sprague-Dawley

ratlara sol nefrostomi yerleştirilerek 3 gün boyunca, %2 asetilsistein ve 0,3 mol tromethamine irrigasyonu yada her ikisinin kombinasyonu şeklinde irrigasyon yapılmış, sonuçta ratlarda, %2 asetilsistein ile pH 10'da, 4 haftada iyileşen belirgin akut inflamatuvar cevap gözlenmiştir.

1989'da McNamara ve arkadaşlarının Philadelphia Çocuk Hastanesi'nde yaptığı çalışmada (5) oluşturulan modelde, Fanconi Sendromu gelişen Basenji ırkı köpekler ile sistin taşı oluşturan çeşitli ırklardan köpekler kıyaslanmıştır. Köpeklerden fırçamsı kenar membran izolasyonu ve takiben incelemeleri yapılmış, Fanconi Sendromu + sistinüri olan köpeklerde sodyum bağımlı D-glukoz emiliminde azalma görülmüş ancak in vivo sistin defektine rağmen L-sistin emiliminde azalma görülmemiştir. Tersine, sistin taşı oluşturan ve sadece %16 sistin defekti görülen Welsh Corgi cinsi köpeklerde, Basenji cinsi köpeklere kıyasla azalmış sistin emilimi görülmüştür. Bu nedenle Fanconi Sendromuna eşlik eden sistinüri ile klasik taş oluşturan sistinürinin farklı özellikler gösterdiği ortaya konmuştur. Fanconi Sendromu olan köpeklerde bir membranöz odak olmadığı ve sistinüriye yol açan farklı membran transport defektleri olabileceği, bunun aksine köpeklerde taş oluşturan klasik sistinüri hastalığında bir membranöz odak olabileceği düşünülmüştür.

1993 yılında Hoppe ve arkadaşları tarafından İsveç Üniversitesi'nde köpek sistinürisi, üriner sistin ekskresyonu ve köpeklerde taş oluşumu üzerine 2-merkaptopropionilglisin (2-mpg) etkileri konulu çalışma yapılmıştır (6). 2-merkaptopropionilglisin bilinen etkisi, sistin ile bir etkileşim sonucunda bir disülfid meydana getirmesi ve bunun serbest sistine göre idrarda daha çözünür durumda olması şeklinde açıklanmaktadır. 25 köpek üzerinde yapılan çalışmada, 9 köpeğe verilen tedavi ile oluşmuş taşın dissolüsyonu üzerine etkileri araştırılmışken, 16 köpeğe ise verilen tedavinin profilaktik etkisi araştırılmıştır. Her iki gruba kg başına değişik

ölçüde 2-mpg (Thiola 250 mg. Tablet.) uygulanmıştır. Dissolüsyon grubu, dissolüsyon oluşana kadar, ya da cerrahi girişim yapılana kadar her 4-8 haftada bir takip edilip, değerlendirilmiştir. Takip grubu ise 6-12 ayda bir klinik, radyolojik ve ultrasonografik olarak değerlendirilmiştir. Dissolüsyon grubundaki köpeklerden 5'inde 6 haftada dissolüsyon oluşmuş, ancak bunlardan birinde 22. ayda tekrar taş oluşmuş ve yeterli medikasyonu almadığı anlaşıp 2-mpg dozu artırılmış, yine bu köpeklerin birinde ise 21 hafta sonra üreteral obstrüksiyona bağlı cerrahi girişim gereği olmuştur. Cerrahi yapılan taşın da sistin taşı olmadığı tespit edilmiştir. 9 köpekten geri kalan 4 köpeğin 3'ünde ise yine cerrahi girişim gereği doğmuştur. Diğer takip edilen grupta ise 16 köpeğin yedisinde takiplerde taş görülmüş, bunların üçünde 2-mpg dozu artırılarak taşların dissolüsyonu sağlanmış, 2 köpek ise cerrahi müdahale yoluyla taştan arındırılmıştır. Toplam değerlendirmede 25 köpeğin 14'ünde tekrar taş oluşmadığı gözlenmiş olup, 2-mpg tedavisi öncesi tekrar sistin taşı oluşma süresi 1-14 ay iken, 2-mpg tedavisi sırasında 6-33 ay olarak kaydedilmiştir. 2-mpg'nin köpeklerde hem taş dissolüsyonu, hem de profilaktik tedavisinde faydalı olduğu öne sürülmüştür. Tedavi sırasında ekskrete edilen serbest sistin ile beraber 2-mpg-sistein disülfid ölçümü yapılabilmesi, tedavinin yeterli alınıp alınmadığı konusunda da bize önemli bilgi vermektedir. Sistinürik köpeklerde tedaviden bağımsız olarak farklı oranlarda taş rekürrensi gösterme kapasitesi olduğu gözlenmiştir.

SLC7a9 eksikliğine sahip farelerde sistinüri-non-I gelişimi ile ilgili 2003 yılında İspanya'da Feliubadalo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmadan bahsetmek gerekirse (7), SLC7a9 eksikliği olan fareler homolog rekombinasyon yöntemi kullanılarak yaratılmış, SLC7a9^{-/-} homozigot farelerin böbreğinde b^{0,+}AT proteininin ekspresyonu tamamen durdurulmuş ve bu fareler yüksek miktarda rBAT proteini eksprese etmişlerdir.

Renal proksimal tübülde rBAT/ b^{0,+}AT tarafından oluşturulan heterodimerik kompleks, sistemin amino asit transport aktivitesini indüklemiştir. Sistin ve dibazik aminoasitlerin renal tübüllerden reabsorbsiyonu azalmıştır. SLC7a9^{-/-} fareler sistin ve dibazik aminoasitleri dramatik şekilde ekskrete ederken, SLC7a9^{+/-} fareler bu aminoasitleri daha orta düzeyde ekskrete etmişler. (Fenotip non-I). SLC7a9^{-/-} farelerin %42'sinin üriner sisteminde sistin taşı görülmüş olup taş farelerin hayatlarının ilk ayında oluşmuş ve ömürleri boyunca büyümeye devam etmiş. Araştırmacılar bu durumun insanda da sistin taşının hayatın erken dönemlerinde, özellikle 20 yaş altında ortaya çıkabilmesiyle benzerlik taşıdığını öne sürmüşlerdir. Taşın yapısı infrared spektroskopisi ile incelenmiş ve saf sistin olarak değerlendirilmiş. Bu farelerin böbrek histopatolojisinde tübüler ve pelvik dilatasyon, tübüler nekroz, tübüler hyalin yapılan ve kronik interstisyel nefrit görülmüş. Taş oluşturan 41 adet farenin 8'inde 2-13 aylık dönemde hidronefroz, hiperüremik şok, sepsis ortaya çıkmıştır. Plazma aminoasit seviyeleri kıyaslandığında, özellikle sistin ve lizinde daha belirgin olmak üzere, SLC7a9^{-/-} farelerin değerleri diğer SLC7a9^{+/-} ve SLC7a9^{+/+} farelere göre %30 daha düşük görülmüştür. Yine 3 genetik yapıda farenin 24 saatlik idrarları analiz edildiğinde SLC7a9^{-/-} farelerin idrarındaki sistin, lizin, arginin ve ornitin seviyeleri SLC7a9^{+/+} farelere göre 76 ile 267 kat daha yüksek görülmüştür. SLC7a9^{-/-} farelerin rBAT/ b^{0,+}AT heterodimer kompleksinin çalışma ve biyolojisini anlama konusunda uygun bir model oluşturduğu öne sürülmüş, ve yine rBAT proteini yada b^{0,+}AT protein yapılarının insanda ve farede bire bir aynı etkileri yaratmayabileceği de belirtilmiştir. SLC7a9^{-/-} farelerin bir kısmında erken dönemde sistin taşı oluşup, bazı diğerlerinde hayatlarının ilk yılında taş oluşmaması durumu çalışmacılara taş oluşumunda modifiye genlerin olaya dahil olduğunu düşündürmüştür. Nitekim taş oluşturan SLC7a9^{-/-} farelerin, sistin taşı oluşu-

munda etken olabilecek çevresel, genetik ve farmakolojik faktörlerin çalışılmasında uygun bir model oluşturduğu öne sürülmüş.

Almanya'dan Peters ve arkadaşlarının yürüttüğü, 2003 yılında yayınlanan bir çalışmayı değerlendirecek olursak (8), farelerde N-ethyl-N-nitrozüre mutagenesi sonucu idrarda lizin, arjinin, ornitin, yükselmiş ve klinik olarak da taş hastalığı ve komplikasyonları ortaya çıkmış. Sebep olan mutasyonun ortaya çıkardığı ikincil mutasyon ile SLC3a1 geni, rBAT (Tip II membran glikoproteini) proteininin extrasellüler bölgesinde D140G aminoasit değişimine sebep olmuştur. Yapılan mutasyonla, homozigot olarak elde edilen hayvanlarda tüm dişileri içerecek şekilde sistin kristalleri görülmüş ancak tersine yapılan nekropsi ve x-ray görüntülemelerde erkek farelerin tümünde (9/9) böbrek ya da mesanede taş görülmüşken, dişilerin sadece 2'sinde (2/7) taşa rastlanmıştır. Taşların kimyasal analizinde görülen tek aminoasit sistin olmuştur. 80-150 günlük heterozigot ve vahşi ırk farelere kıyasla, homozigot üretilen farelerde, idrarda lizin, arjinin ve ornitin seviyelerinin belirgin şekilde yüksek olduğu görülmüştür. Bu aminoasitlerin plazma seviyeleri arasında, farklı genetik farelerde bir fark görülmemiştir. (İdrardaki kayıplar kompanse edilmiş) Farelerin böbreklerinin patolojik incelemesinde hematoksilen eozin birikimleri, bazı alanlarda atrofi, böbreklerin ağırlığında yarıya kadar düşüş, bilateral hidronefroz gibi bulgulara rastlanmıştır. İlerleyici üremi bulgusu tüm homozigot erkeklerde görülürken, sadece taş oluşturan dişilerde görülmüştür. Bu fare modelinin insanlardaki sistinüri tip 1 ile ilgili terapötik ve metaflaktik yaklaşımlarda ve patofizyolojinin aydınlatılması noktasında uygun ve benzer olduğu öne sürülmüştür.

2007 yılında Llitjos ve arkadaşları (9) Barcelona'da Slc7a9 gen mutasyonlu farelerde sistin taşı oluşumu üzerine terapötik etkiyi araştırmışlar ve bunun için D-penisillamin üze-

rinden bir protokol oluşturmuşlardır. 5 hafta boyunca tekil olarak kafeslenmiş mutant farelere önceden belirlenmiş olan D-penisillamin dozu verilmiş. Sistinürik farelerde taş oluşumunu tespit edebilmek ve ölçebilmek için tedavi öncesi ve sonrasında X-ray dansitometri kullanılmış. Penisillamin tedavisi alan ve almayan farelerde metabolik kafeste idrar toplanmış ve aminoasit analizleri yapılmış. Mutant farelerin iki grubu (Tedavi alan ve almayan) arasında taş boyutu, üriner sistin ekskresyonu, yaygın ve difüz üriner sistem hasarı (Histopatolojik inceleme) noktalarında belirgin farklılıklar oluştuğunu öne sürmüşlerdir.

2014 yılında Sahota ve arkadaşları Amerika'da, sistin kristal oluşumunun inhibisyonu üzerine bir çalışma yapmışlardır (10). Sistinürisi olan ve SLC3a1 geni mutant farelere 4 hafta boyunca su ya da CDME (L-Cystine dimethyl ester-sistin kristal gelişimi inhibitörü) verilmiş. CDME uygulanan farelerde belirgin şekilde daha küçük taşlar oluşmuş ve bu taşların içinde CDME metaboliti L-cysteine dimethyl ester saptanmış. CMDE'nin taş oluşumunu engellemediği, ancak oluşan taş boyutunu küçülterek, sistin taşı tedavisine destek olduğu öne sürülmüştür.

2014 yılında Livzoret ve arkadaşları mutant farelerde meydana gelen değişikliklerin insanlarla benzerliklerini araştırmışlardır (1). 129S2/SvPasCrl tipi farelerde meydana gelen spontan mutasyon sonucu oluşan tip A sistinüriyi inceleyen hayvan modeli meydana gelmiştir. 10'ar adet erkek 129S2/SvPasCrl ve C57BL/6J tipi fare, 2 adet 129S1/Sv tipi fare üzerinde çalışılmış, bunlardan 9-11-13. Haftalarda idrar örnekleri alınmış, aminoasidüri seviyeleri ion değişim kromatografisi ile hesaplanmış, nekropsi sırasında mesanelerinden taş toplanmış ve infrared spektrometri vasıtasıyla analiz edilmiş, Slc3a1 ve Slc7a9 genlerine bağlı mRNA seviyelerinin ölçümü real-time PCR ile yapılmış. DNA pürifikasyonu, ekstraksiyonu işlemleri

yapılmış. Sonuçta araştırmacılar sık kullanılan, 129S2/SvPasCrl tipi fare alt grubunun çok yüksek oranda sistin taşı oluşturabildiğini ve bu durumun sistinürisi olan, sistin taşı olan insanlarla benzer olduğunu belirtmişlerdir.

Yine bu grup farelerde idrarda patognomonik sistin kristalleri ve aminoasit artmış, histolojik olarak ta böbrekte heterojen inflamatuvar infiltrat ve tübüler sistin kalıntıları, buna bağlı böbrek yetmezliği görülmüştür. C57BL/6J tipi farelerle kıyaslandığında, mortalite oranları da daha yüksektir. Protokole bağlı tespit edilen ya da protokol bitmeden ex olan farelerde büyük mesane taşları ve bilateral üriner obstrüksiyon görülmüştür. 129S2/SvPasCrl tip farelerde proksimal tübüllerde dibazik aminoasitlerin tetramerik taşıyıcısının ağır alt grubu rBAT'ın yokluğu ve yine SLC3a1 geninin korunmuş bir alanında tekli patojenik mutasyon görüldüğü ortaya konmuştur.

2016 yılında Mizukami ve arkadaşları, Amerika'da yaptıkları bir çalışmada (11), değişik SLC7a9 gen varyantlarına bağlı sistinüriyi araştırmışlardır. Çalışma kedilerde sistinüriye sebep olan SLC7a9 varyantlarının (değişken), kedilerde de insan ve köpeklerde olduğu gibi genetik olarak heterojen olduğunu göstermiştir. Kuzey Amerika'nın değişik bölgelerinde sistin kristali ya da taşı olan kediler çalışmaya dahil edilmiştir. Üriner sistin, COLA konsantrasyonları, üriner aminoasit analizi ve üriner taş analizleri yapılmış, genomik DNA analizleri yapılmış, SLC7a9 geni ile ilgili missense varyant ve intronik varyantlarla ilgili değerlendirme yapılmıştır. 3 farklı kedide, exon 5, 7 ve 10'da homozigot SLC7a9 missense varyant görülürken, iki kedide de SLC7a9 geninin intron 10 ve 11'inde (sırasıyla) heterozigot varyant görülmüş olduğu ortaya konmuştur.

2017 yılında Amerika'da Zee ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada (12) alfa-lipoik asidin sistin taşı oluşumunu engellemesiyle ilgili bir fare modeli oluşturulmuş. Alfa-lipoik

asidin besinlere ek katkı olarak eklenmesinin SLC3a1-/- farelerde sistin taşı oluşumunu engellediğini öne sürmüşler. 4-7 haftalık erkek SLC3a1-/- gen defekti olan farelere oral yolla %0,5'lik alfa-lipoik asit verilmiş. Haftalık olarak mikro-kompüterize tomografi yapılmış. Yapılan testler sonucunda 6 hafta sürede alfa-lipoik asit tedavisi alan farelerde, tedavisiz farelere kıyasla geç taş oluşumu, oluşan taşta düşük volüm, daha az sayıda taş oluşumu görülmüş. Tedavi bırakılıp 4 hafta beklendiğinde ise farelerin tedavisiz grupla aynı taş hastalığı riskine sahip oldukları görülmüş. Mevcut fare dozunun, 67 kg ağırlıkta bir insanda 2700 mg/gün doz karşılığı olduğu, tedavinin doza bağımlı olduğu, insanlarda alfa-lipoik asidin 600-1800 mg doz aralığında herhangi bir yan etki göstermediği öne sürülmüş. Alfa-lipoik asidin etkisiyle, su ve besin alımında azalma olmamış, üriner pH'da değişiklik olmamış, üriner sistin konsantrasyonlarında değişiklik olmamış. Ancak tedavi alan farelerin idrarında sistinin daha çözünür olduğu görülmüştür.

Kaynaklar

1. Livrozet M, Vandermeersch S, Mesnard L, Thioulouse E, Jaubert J, Boffa JJ et al, An Animal Model of Type A Cystinuria Due to Spontaneous Mutation in 129S2/SvPasCrl Mice. *PLoS One*. 2014 Jul 21;9(7)
2. Cornelius CE, Bishop JA, Schaffer MH. A quantitative study of amino aciduria in dachshunds with a history of cystine urolithiasis. *Cornell Vet*. 1967 Apr;57(2):177-83.
3. Holtzapple PG, Rea C, Bovee K, Segal S. Characteristics of cystine and lysine transport in renal jejunal tissue from cystinuric dogs. *Metabolism*. 1971 Nov;20(11):1016-22.
4. Burns JR, Hamrick LC Jr. In vitro dissolution of cystine urinary calculi. *J Urol*. 1986 Oct;136(4):850-2.
5. McNamara PD, Rea CT, Bovee KC, Reynolds RA, Segal S. Cystinuria in dogs: comparison of the cystinuric component of the Fanconi syndrome in basenji dogs to isolated cystinuria. *Metabolism*. 1989 Jan;38(1):8-15.
6. Hoppe A, Denneberg T, Jeppsson JO, Kågedal B. Canine cystinuria: an extended study on the effects of 2-mercaptopyrionylglycine on cystine urolithiasis

- and urinary cystine excretion. *Br Vet J*. 1993 May-Jun;149(3):235-51.
7. Feliubadaló L, Arbonés ML, Mañas S, Chillarón J, Visa J, Rodés M et al. Slc7a9-deficient mice develop cystinuria non-I and cystine urolithiasis. *Hum Mol Genet*. 2003 Sep 1;12(17):2097-108.
 8. Peters T, Thaete C, Wolf S, Popp A, Sedlmeier R, Grosse J et al, A mouse model for cystinuria type I. *Hum Mol Genet*. 2003 Sep 1;12(17):2109-20.
 9. Font-Llitjós M, Feliubadaló L, Espino M, Clèries R, Mañas S, Frey IM et al, Slc7a9 knockout mouse is a good cystinuria model for antilithiasic pharmacological studies. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007 Sep;293(3):F732-40.
 10. Sahota A, Parihar JS, Capaccione KM, Yang M, Noll K, Gordon D et al, Novel cystine ester mimics for the treatment of cystinuria-induced urolithiasis in a knockout mouse model. *Urology*. 2014 Nov;84(5):1249.e9-15.
 11. Mizukami K, Raj K, Osborne C, Giger U. Cystinuria Associated with Different SLC7A9 Gene Variants in the Cat. *PLoS One*. 2016 Jul 12;11(7):e0159247.
 12. Zee T, Bose N, Zee J, Beck JN, Yang S, Parihar J et al. α -Lipoic acid treatment prevents cystine urolithiasis in a mouse model of cystinuria. *Nat Med*. 2017 Mar;23(3):288-290.

Enfeksiyon Taşları

33

Kaan GÖKÇEN

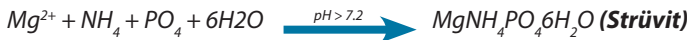
Hipokrat'ın M.Ö dönemde üriner sistem enfeksiyonları ile üriner taşlar arasındaki ilişkiyi bildirmesinden yaklaşık 2000 yıl sonra İsveçli bilim adamı Ulex yarasa gübresinde magnezyum amonyum fosfatı bulması ve buna mentörü Rus diplomat H.C.G. Von Struve' in adını vermesi ile magnezyum amonyum fosfat kompleksi 'strüvit' adını almıştır. Üre parçalayan bakterilerin taş formasyonuna yol açtığını bildiren Brown; aynı zamanda taş nükleusundan ilk kez *Proteus vulgaris*'i izole etmiştir (1). Bugün strüvit taşlarının özellikle üreaz pozitif bakteriler ile oluşan üriner sistem enfeksiyonları sonucunda ortaya çıktığı bilinmektedir.

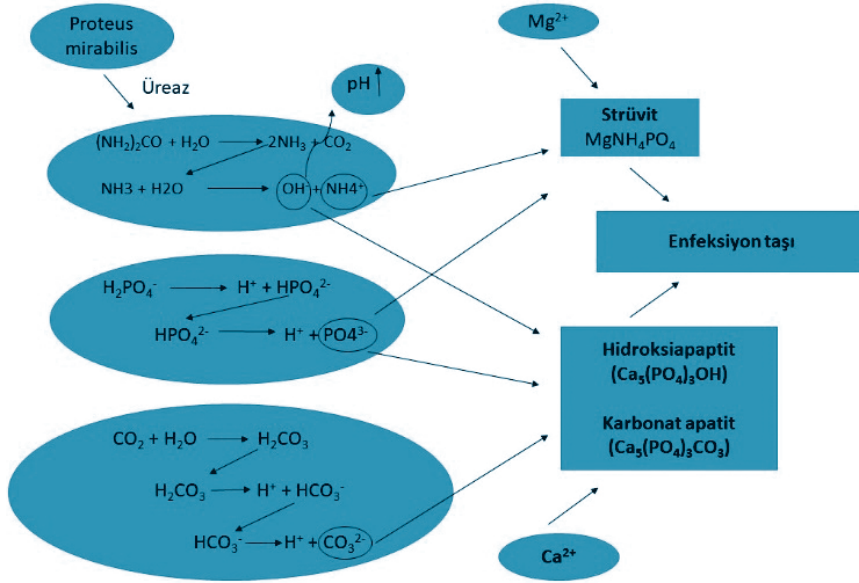
Enfeksiyon taşları içinde en sık saf strüvit taşları (magnezyum amonyum fosfat) görülmele beraber karbonat apatit, amonyum urat ve kombinasyonları olarak da karşımıza çıkmaktadır (2). Bu bilgiler özellikle sıklığı 20. yüzyılın ikinci yarısında artan deneysel hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur. Sıklıkla üriner sistem obstüksiyonlarının eşlik ettiği üreaz (+) bakterilerin yola açtığı persistan üriner enfeksiyonlar sonucunda oluşan strüvit taşları; tüm üriner taşların %10-15' ini oluşturmakta ve kadın/erkek oranı 2:1 olarak bildirilmektedir

(3,4). İnsidansı zaman içerisinde azalma eğiliminde olan strüvit taşları halen karşılaştığımız staghorn böbrek taşlarının %24.4' ünü oluşturmaktadır (5). Bilateral böbreklerde görülme oranı %15 olan enfeksiyon taşları; 4-6 hafta gibi kısa bir sürede staghorn formuna ulaşabilmektedir (6). Strüvit taşları için predispozan faktörler; kadın cinsiyet, ileri yaş, konjenital üriner trakt malformasyonları, nörojen mesane, yabancı cisim varlığı, üriner diversiyon, distal tip renal tübüler asidoz (tip1 RTA), mesane ve kaliksiyel divertikül olarak sıralanabilir (7).

Patogenez:

Normal idrar amonyum fosfat açısından ansatüre iken, ortamda amonyum miktarının artması idrarın pH'sının yükselmesine ve fosfatın çözülebilir hale gelmesine neden olur Patogenezinden sorumlu tutulan üreaz (+) bakterilerin su ve üreyi amonyum ve karbondioksit dünüştürmesi ile idrar alkalinizasyonu oluşur. Ortamda artan amonyum ile birlikte bikarbonatın da oluşması ve bunlara uygun katyonların bağlanması sonucunda struvit (ph>7.2) ve karbonat apatit taşları (ph 6.8-7.2) oluşur (8).





Şekil 1. Enfeksiyon taşlarının oluşum şeması

Struvit-apatit tozları; bakterilerin etrafında oluşarak kristalizasyon oluşturmaktadır. Bu kristalizasyon hem intrabakteriyel hem de peribakteriyel alanda devam ederek bakteriyolize neden olur ve taşın nidus formu ortaya çıkar (9). Enfeksiyon taşlarının oluşumuna ait çizim Şekil-1’de gösterilmiştir.

Mikrobiyolojik etkenler içinde üreaz enzimi üreten hem gram (+) hem de gram (-) özelliğe

sahip bakteriler çoğunluğu oluşturmakla birlikte; mikoplazma ve mayalar da sorumlu tutulmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonlarının en sık etkeni olan E.coli’nin çok az bir kısmı üreaz enzimine sahiptir ve enfeksiyon taşlarının çok az bir kısmından sorumludur. Üreaz üreten organizmalar Tablo-1’de verilmiştir. Diğer bir etken ise üretral stentler ve D/J stentler üzerindeki

Tablo 1. Üreaz üreten mikroorganizmalar

Gram (-)	Proteus rettgeri Klebsiella pneumoniae Proteus vulgaris Klebsiella oxytoca Proteus mirabilis Serratia marcescens Proteus morgani Pseudomonas aeruginosa Providencia stuartii Pasteurella species Bordetella pertussis Brucella species
Gram (+)	Flavobacterium species Staphylococcus epidermidis Staphylococcus aureus Bacillus species Micrococcus Corynebacterium murium Corynebacterium ulcerans Corynebacterium equi Corynebacterium renale Clostridium tetani Corynebacterium ovis Mycobacterium rhodochrous Corynebacterium hofmannii
Mikoplazma	T-strain Mycoplasma Ureaplasma urealyticum
Mayalar	Cryptococcus Rhodotorula Candida humicola Trichosporon cutaneum

ekzopolisakkarid biyofilmler üzerinde oluşan mikroorganizmalar ile oluşan strüvit, kalsiyum fosfat ve apatit bileşenleri içeren enfeksiyon taşlarıdır (10).

Sık kullanılan deneysel hayvan modelleri

İnsan böbreği ile sıçan, tavşan ve köpek gibi memeli hayvanların böbrekleri anatomik farklılıklar taşısa da böbrek taşı oluşum mekanizmaları yakın benzerlikler göstermektedir. Hem insan hem de bahsi geçen memeli türlerinde; böbrek tübüllerinde kristal nükleasyonu, büyüme, agregasyon, kristal retansiyonu sonucu taş oluşumu gerçekleşmektedir (11,12). Deneysel modeller içinde en çok kullanılan sıçanlar ile insan böbreği arasındaki morfolojik farklılıklar Tablo-2'de verilmiştir. Sıçan böbreği boyut olarak küçük olsa da medulla hacminin korteks hacmine oranı insan böbreğine çok benzerdir. Bu oran sıçan, köpek ve insanda 1:2 iken tavşanda 1:16'dır (13).

Böbrek taşı modellerinin in-vivo oluşturulmasında uygulanan yöntemler genellikle diyet yoluyla, kimyasal ajanlar ile, mesaneye yabancı cisim yerleştirilmesi, üriner sisteme direk mikroorganizmaların inokulasyonu ya da barsak rezeksiyonu ile taş oluşturulmasıdır. Üre parçalayan mikroorganizmaların idrar alkalizasyonu sağlaması ile taş oluşumu hayvan çalışmaları üzerinde net bir şekilde tarif edilmiştir (14,15). Köpeklerde özellikle parsiyel obstrüksiyon varlığında renal pelvise yabancı cisim implantasyonu ile enfeksiyon taşı oluşumu gözlenmektedir (16). 1950'li

yıllarda strüvit taşları için dizayn edilen sıçan modeli bu konuda birçok çalışması olan Vermeulen ve ark. tarafından tarif edilmiştir (17). Bu modele göre abdominal insizyon ile erkek rat mesanesi geniş bir biçimde açılarak içine 3-4 mm'lik yabancı implantın yerleştirilmesini takiben 4-10 hafta sonrasında yapılan nekropsi sonucunda taşların %90'ının strüvit taşları olduğu saptanmıştır. En fazla implant etrafında taş oluşumu ve sekonder taş (daughter stone) rastlanması; çinko disk yerleştirilen sıçanlarda izlenmiştir. Deneysel modellerinde çinkodan farklı olarak kullanılan implantlar ise parafin, polietilen, porselen ve kömürdür. Bu modele göre yapılan çalışmalar sonrasında ratların sistemik enfeksiyonlarının fazla olması ve ratların mortalite oranlarının yüksek olması nedeniyle modifiye edilmiş yeni bir rat modeli oluşturulmuştur. Dişi Sprague-Dawley ratlarda küçük bir suprapubik insizyonu ile 4 mm'lik çinko disk septik kurallara uygun bir biçimde mesaneye yerleştildikten yedi gün sonra 10^7 colony forming unit (CFU) *Proteus mirabilis* yine anestezi altında steril polietilen bir kateter yardımı ile üretral yoldan mesaneye inoküle edilmektedir. Bu modifiye yöntem ile istenen taş oluşumunun başarılı bir şekilde sağlanmasının yanı sıra sistemik enfeksiyon ve mortalite oranları oldukça düşük bulunmuştur (18).

Ayrıca bu model ile yapılan çalışmalar sonrasında gerçekleştirilen nekropsilerde taş oluşumu ile birlikte bilateral hidroüretonefroz oluşumu da izlenmiştir (19). Enfeksiyon taşları ile ilgili deneysel modellerde en sık *Proteus* grubu bakteriler daha sonra

Tablo 2. İnsan ve sıçan böbreği arasındaki morfolojik farklılıklar

	Boyut (cm)	Ağırlık (Gr)	Papilla sayısı	Nefron sayısı
İnsan	12x6x4	160-175	5-6	850,000-1,200,000
Sıçan	1.6x1x0.9	0.75-1.2	1	30,000-31,000

Ureaplasma urealyticum ve T mikoplazma kullanılmıştır. Özellikle erkek ratlara; insan T mikoplazma (T 960 zincir)'nin direk intrarenal enjeksiyonu ile oluşturulan mesane strüvit taşı modeli ilgi çekicidir (20). Dişi oğlaklarda kalsiyumdan fakir diyet verilerek oluşturulan çalışmada ise idrar analizlerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede struvit kristalleri görülmüştür (21).

Enfeksiyon taşları ile ilgili diğer ilgi çekici bir durum ise geniş tabanlı yapılan bir epidemiyoloji çalışmasında köpeklerde saptanan taşların %53' ünün strüvit taşları olduğu saptanmıştır. Özellikle kalıtsal risk grubuna sahip bazı küçük köpek ırklarında ve proteinden zengin diyet alımı olan köpeklerde enfeksiyon taşı görülme sıklığı fazladır. Bugün için insidansı azalma eğiliminde olan strüvit taşları; en çok genç dişi köpeklerde alt üriner traktta görülmektedir (22). Benzer şekilde kedilerde de Ca okzalat taşlarından sonra en sık rastlanan taş tipinin magnezyum amonyum fosfat taşları olduğu bilinmektedir (23). Köpeklerde yapılan medikal tedavi ile ilgili çalışmalarda mikrobial üreaz enziminin kompetitif ve non-kompetitif inhibitörü olan asetohidroksamik asid (AHA) ile strüvit oluşumunun özellikle uygun beslenme ve antimikrobiyal ajanlarla kombinasyonu ile engellendiği gösterilmiştir (24). AHA'nın rutin kullanımının insanlara benzer şekilde bilirubin metabolizmasında düzensizliğe ve hemolitik anemiye neden olduğu bildirilmiştir (25). Bu özellikleri ile köpek ve kedilerdeki enfeksiyon taşlarına yönelik medikal tedavi çalışmaları; insan çalışmalarına rehber olabilmıştır. Her ne kadar enfeksiyon taşlarına yönelik medikal tedavi ile ilgili 1900'lü yılların başından itibaren özellikle insanlarda randomize prospektif plasebo kontrollü birçok çalışma olsa da bu cinslerdeki çalışmalar da oldukça kıymetlidir.

Kaynaklar

1. Brown TR. On the relation between the variety of microorganisms and the composition of stone in calculous pyelonephritis. *JAMA*. 1901; 36: 1395-1397.
2. Hesse A, Bach D. Harnsteine, Pathobiochemie und klinisch-chemische Diagnostik. in: H. Breuer, H. Büttner, D. Stamm (Eds.) *Klinische Chemie in Einzeldarstellungen Band 5*, Herausgeber. Thieme Verlag, Stuttgart; 1982.
3. Resnick MI. Evaluation and management of infection stones. *Urol Clin North Am*. 1981; 8: 265-276.
4. Hesse A, Heimbach D. Causes of phosphate stone formation and the importance of metaphylaxis by urinary acidification: a review. *World J Urol*. 1999; 17(5): 308-315.
5. Shafi H, Shahandeh Z, Heidari B, Sedigiani F, Ramaji AA, Pasha YR, et al. Bacteriological study and structural composition of staghorn stones removed by the anatomic nephrolithotomic procedure. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2013; 24(2): 418-423.
6. Evans K, Costabile RA. Time to development of symptomatic urinary calculi in a high risk environment. *J Urol*. 2005; 173: 858-861.
7. Gettman, MT, Sequa JW. Struvite stones: diagnosis and current treatment concepts. *J Endourol*. 1999; 13(9): 653-658.
8. Bichler KH, Eipper E, Naber K, Braun V, Zimmermann R, Lahme S. Urinary infection stones. *Int J Antimicrob Agents*. 2002; 19(6): 488-498.
9. Healy KA, Ogan K. Pathophysiology and Management of Infectious Staghorn Calculi. *Urol Clin N Am*. 2007; 34(3): 363-374.
10. Choong S, Whitfield H. Biofilms and their role in infections in urology. *BJU Int*. 2000; 86(8): 935-941.
11. Khan SR. Nephrocalcinosis in animal models with and without stones. *Urol Res*. 2010; 38(6): 429-438.
12. Pak CY. Etiology and treatment of urolithiasis. *Am J Kidney Dis*. 1991; 18(6): 624-637.
13. Khan SR. Animal models of kidney stone formation: an analysis. *World J Urol*. 1997; 15(4): 236-243.
14. Hager BH, Magath TB. Etiology of incrustated cystitis with alkaline urine. *JAMA*. 1925; 85(18): 1352-1355.
15. Keyser LD. Studies in urinary calculosis. *J Urol*. 1945; 54: 194-210.
16. Collica I. New concept of the pathogenesis of urinary lithiasis. *Am J Surg*. 1948; 76(4): 424-426.
17. Vermeulen CW, Grove WJ, Goetz R, Ragins HD, Correll NO. Experimental urolithiasis I: Development of calculi upon foreign bodies surgically introduced into bladders of rats. *J Urol*. 1950; 64(4): 541-548.

18. Satoh M, Munakata K, Kitoh K, Takeuchitt, Yoshidu O. A newly designed model for infection-induced bladder stone formation in the rat. *J Urol.* 1984; 132(6):1247-1249.
19. Olson ME, Nickel JC, Costerton JW. Infection-induced struvite urolithiasis in rats. *Am J Pathol.* 1989;135(3): 581-583.
20. Friedlander AM, Braude AI. Production of bladder stones by human T mycoplasmas. *Nature.* 1974; 247(5435): 67-69.
21. Nickel JC, Olson M, McLean RJ, Grant SK, Costerton JW. An ecological study of infected urinary stone genesis in an animal model. *Br J Urol.* 1987;5 9(1): 21-30.
22. Low WW, Uhl JM, Kass PH, Ruby AL, Westropp JL. Evaluation of trends in urolith composition and characteristics of dogs with urolithiasis: 25,499 cases (1985–2006). *J Am Vet Med Assoc.* 2010; 236(2): 193–200.
23. Cannon AB, Westropp JL, Ruby AL, Kass PH. Evaluation of trends in urolith composition in cats; 5,230 cases (1985–2004). *J Am Vet Med Assoc.* 2007; 231(4): 570–576
24. Krawiec DR, Osborne CA, Leininger JR, Griffith DP. Effect of acetohydroxamic acid on dissolution of canine uroliths. *Am J Vet Res.* 1984; 45(7): 1266-1275.
25. Osborne CA, Lulich JP, Polzin DJ, Allen TA, Kruger JM, Bartges JW, et al. Medical dissolution and prevention of canine struvite urolithiasis. Twenty years of experience. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1999; 29(1): 73-111.

KISIM 6

TAŞ HASTALIĞI TEDAVİSİ İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Bilal ERYILDIRIM

Uğur Tolga ŞEN, Eyüp Veli KÜÇÜK

GİRİŞ

Hayvan modelleri hem yapısal hem de işlevsel değişiklikleri analiz etmemizi sağlar.

Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy (ESWL) kullanımında seçilecek hayvan modelinde hayvanın büyüklüğü böbrek ve üreterlerin anatomisi, renal fonksiyonların karakteristiği önemlidir. ESWL uygulanacak hayvanlarda böbrek boyutlarının insan boyutlarına yakın olması gereklidir. Bu sebeple nefrolitiazis modellerinde çok sık kullanılan sıçan gibi küçük hayvanlar ESWL modellemelerine uygun gözükmemektedir. Köpek böbreği, insan böbreğine benzer boyutlarda olmasına rağmen en iyi seçenek değildir. Çünkü insan böbreği birçok kaliks içerirken köpek böbreği sadece tek kaliks sahiptir. Birçok küçük hayvanın ve köpekleri de içeren büyük hayvanın böbrekleri insan böbreğinin anatomisini ve fizyolojisini taklit edemez. Büyük hayvanlar içinde ESWL araştırmalarında kullanılmaya en uygun olanı laboratuvar domuzlarıdır. Böbrek büyüklüğü, böbrek/üriner anatomi ve renal fonksiyonların karakteristiği insana yakındır (1).

ESWL'nin prensibi; bir güç kaynağından çıkan şok dalgalarının taşın üzerinde odaklanarak kırılmasını sağlamaktır. 1955'te, Sovyet mühendis Yutkin, elektrohidrolik etkiyi buldu ve taşın tedavisi için elektrohidrolik etkinin kullanımı üzerine araştırma yapmaya başladı (2,3). 1974 yılında Dornier firması ve Alman Teknoloji Bakanlığı'nın destekleriyle Münih Üniversitesi'nde çalışmalar başlatılmıştır.

ESWL ilk olarak 1980 yılında Chaussy ve ark. tarafından tanıtıldı (4). Bu tarihten günümüze kadar çok sayıda firma tarafından farklı modellerde ESWL cihazları piyasaya sürülmüştür. ESWL'de kullanılan şok dalgaları, elektrohidrolik, elektromanyetik ve piezoelektrik yöntemlerle üretilmektedir (4). Taş kırma işlemi sırasında taş lokalizasyonu ve odaklanması floroskopi ve/veya ultrason ile sağlanmaktadır.

ESWL her ne kadar hemoraji, taş yolu, renal hematoma, enfeksiyon ve flank ağrıya sebep olabilse de diğer tedavi seçenekleriyle karşılaştırıldığında invaziv olmayan güvenli bir prosedürdür. İnvaziv olmaması ve güvenli olmasıyla, komplike olmayan ve çapı 20 mm'den küçük böbrek ve üreter taşlarında tercih edilen bir tedavi yöntemi haline gelmiştir (5).

ESWL'nin sonuçları taş boyutu, taş yeri, deri-taş mesafesi, taş kompozisyonu, obstrüksiyonun şiddeti, idrar yolu anatomisi, gibi faktörlerden etkilenen taş fragmentasyonu ile ölçülür (6). İn vivo üriner taşların kimyasal bileşimi ESWL'nin sonucunu belirlemede ana faktör olarak bulunmuştur (7).

Deney hayvanlarının hazırlığı ve ESWL açısından çalışmalara uygunluğu için çok sayıda düzenek oluşturulmuştur. Evan ve ark. tarafından yapılan ve parankim üzerine ESWL etkisinin değerlendirildiği çalışmada dişi Pitman Moore (Purdue Üniversitesi) türü minyatür domuz kullanılmıştır. Her iki böbrek kateterize edilip pediatrik hasta böbrek modeli için 23-27 kg juvenil tip, yetişkin insan böbreği için 54-64 kg genç erişkin tip miyatür domuz kullanılmıştır. Hayvanlar ESWL öncesi ve sonrası 24. saatte, inulin P-aminohippurate (PAH) klirensi ve MRI görüntüsünü ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda her iki böbrek de Glutaraldehytle perfüze edilmiş ve rutin olarak morfolojik incelemeye tabi tutulmuştur (8).

Newman ve ark. tarafından deneysel çalışmada ise mongrel köpeği denek olarak alınmıştır. 5 adet mongrel köpeği çalışmaya dahil edilirken iki grup altında incelendi: A grubunda 3 köpek ESWL sonrası 48-72 saatte sakrifiye edilirken, B grubundaki 2 köpek 28-32 gün sonra sakrifiye edildi. A grubundaki bir köpeğin iki böbreğine de şok dalgası uygulanırken diğer köpeklerin sadece bir böbreğine uygulandı. Tüm hayvanlar IVP ile değerlendirildi ve 10. dakikada çekilen grafisi normaldi. Profilaksi olarak trimethoprim-sulfamethoxazole verildi. Tüm köpeklere thiamylal ile genel anestezi uygulandı ve entübe edildi. İndüksiyon sonrası, her bir köpeğe 19F'lik enstrümanla sistoskopi uygulandı ve 4F üreteral katater yerleştirildi. Ardından 16F foley katater iletili ve üreter katateri foleye sabitlendi. İşlem sırasında defekasyonu önlemek amacıyla anüs 0 ipek ile suture

edildi. İşlemden önce Dornier HM-3 ESWL kullanıldı. Köpekler kızağa yerleştirildi ve patileri sarıldı ve köpekler karnın ön ve arkasından geçecek şekilde kemerlerle sabitlendi. Kızak gazı alınmış suyla doldurulmuş ve üreteral kateterin en üst kısmının lokalize edilmesi için iki düzlemli floroskopi kullanılmıştır. Diatrizoate sodium (Hypaque-50); toplayıcı sistemin görüntülemesi amacıyla retrograd şekilde kibarca enjekte edilmiştir. 6 olgunun 4'ünde sağ böbrek kullanılmıştır. Şok dalgaları parankim ve orta kaudal kutupta odaklanılarak tekrarlayan kontrast madde enjeksiyonları şok dalgasının direk hedeflenen bölgeye yapıldığını doğrulamak için periyodik olarak yapılmıştır.

Tedavi sonrasında köpekler küvetten çıkarılmış anal sütürları alınmıştır. Foley katateri ve üreteral katateri çıkarılmış olup, ESWL sonrasında 24-28 saat periyodik olarak parasetamol tedavisi uygulanmıştır. Köpekler thiamylal ve KCL ya da fenobarbital ve fenitoin kombinasyonu ile sakrifiye edilerek nekropsi yapıldı (8).

ETKİNLİK ÇALIŞMALARI

ESWL'nin gelişim sürecinde yeni üretilen cihazlar insanlar üzerinde denenmeden hayvan çalışmaları safhasından geçmiştir. Chaussy'nin başlangıç çalışmalarında 17 köpeğin renal pelvisine cerrahi olarak depolanmış kalküllere uygulanan ESWL sonucu 13 köpeğin taşı başarılı olarak fragmente edilmiş ve kontrollerinde rezidü kalkül görülmemiştir. Bu köpeklere 200 "shock wave" verilmiş olup herhangi bir doku hasarı ya da böbrek fonksiyon kaybı görülmemiştir (9).

Chaussy ve ark. bir diğer çalışmada köpeklerde ve insanlarda böbrek taşlarını parçalamak için yüksek enerjili şok dalgaları kullanılmıştır. Cerrahi olarak yerleştirilmiş renal pelvik taşı 60 köpeğin %96'sında, fragmente olan taşlar idrarla atılmıştır. Renal pelvik taşı 21 hastanın 20'sinde de aynı etki elde edilmiştir. Yan

etkiler hafif hematüri ve analjezik tedaviye yanıt alınan kolik ağrıdan oluşmaktaydı. Bu kolik ağrının sebebi de muhtemelen üreteri obstrükte eden taş fragmanları idi (4).

Block ve arkadaşları nefrolitiazisli köpeklerde ESWL'nin etkinliğini ve güvenilirliğini değerlendirdikleri çalışmayı yayınlamıştır. Bu çalışmada 3 köpekte bilateral böbrek taşı, 1 köpekte unilateral böbrek taşına eşlik eden diğer tarafta üreter taşı, 1 köpekte ise aynı tarafta hem böbrek taşı hem üreter taşı mevcut idi. 1. nesil litotriptör kullanılan çalışmada ESWL'nin efektif ve güvenli bir tedavi yöntemi olduğu sonucuna varıldı (10).

Taş tedavisinin dışında, safra kesesi taşlarının, osteoartrit, peyronie hastalığının ve daha birçok hastalığın tedavisinde ekstrakorporal şok dalgası kullanımının etkinliğini ölçen birçok araştırma vardır (11,12,13).

Chaussy c. ve ark. ilk hayvan modellerindeki verileri paylaşarak klinikte insanlar üzerinde ESWL'yi tedavi amacıyla kullanmaya başladığında dünyada umut ile karşılanmaktaydı (14).

Bununla birlikte, konuyla ilgili klinik çalışmaların artmasıyla artık ESWL'nin böbrek taşlarında non invaziv olarak ön plana çıkan, alternatif bir tedavi olduğu kabul görmeye başlanmıştır (15). ESWL'nin klinik kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte ESWL'nin etkinliğini değerlendiren klinik çalışmalar ön plana çıkmıştır.

Fuchs ve arkadaşlarının ESWL'nin klinik kullanımındaki 4 yıllık tecrübelerini aktardıkları makalelerinde %90 hasta klinik sonuç olarak başarılı (stone free) bir şekilde tedavi edilmiştir. Bu tedavi süreçlerinde önemli bir komplikasyonla karşılaşmamıştır. Bu çalışmanın sonuç bölümünde de diğer cerrahi ve tedavi edici modalitelerin gelecekte yerini koruyacağı öngörülmekle birlikte tecrübeli ürologlar hasta özelinde hangi tedavinin öncelikli olduğuna karar vereceği öngörülmüştür (16).

GÜVENİLİRLİK/YAN ETKİ ÇALIŞMALARI

Tıp alanında genellikle terapötik bir müdahalenin sağladığı faydalar, bu müdahaleyi gerçekleştirme riskleriyle birlikte ele alınır. Kazançlar ve kayıplar arasındaki basit bir denge ya da mevcut etkiler ve gelecekteki sonuçlar terapötik müdahalenin tıp dünyasındaki yerini oluşturmasında belirleyici faktör olmaktadır. ESWL'nin klinik kullanımda yerini almasıyla birlikte hayvan çalışmaları da ESWL'nin etkinliğinden ziyade yan etkilerini değerlendirmeye yönelmiştir.

Münih üniversitesinin 1988 yılındaki bir çalışmasında; 3 gruba ayrılan köpeklerin sağ böbreklerine 500, 1500 ve 3000 "shock wave" verilmesini takip eden 24-30 saatte otopsi yapıldı. Köpek sayıları sırasıyla 5, 5, 6 idi ve iki köpek kontrol grubu yapılmıştı. Çalışmanın sonucunda şok dalgalarının tüm böbrek yapılarında hemorajiye sebep olduğu gösterildi. Tübüler dilatasyon ve venöz tromboz gözlemlendi. Bu değişikliklerin doz bağımlı olduğu gösterildi. Ayrıca tüm köpeklerde sol böbrek yapıları normal olarak izlendi (17).

Bazı çalışmalar, şok dalgasının böbrek üzerindeki doğrudan etkisini köpek modelini kullanarak incelemiştir. Chaussy'in erken bulgularına karşın, Brendel; köpek böbreğine şok dalgası maruziyetini takiben, renal hemorajileri (boyutu 0.5 cm kadar), interstisyel genişleme ile birlikte interstisyel ödem ve renal kapsül peşişisini gösterdi (4).

Tavşan böbreğine 3,000 şok dalgasının (20 kV'da) morfolojik ve fonksiyonel etkilerinin araştırılmasında akut etki olarak (7 günlük süreç) fokal subkapsüler hematoma, tübüler genişleme ve interstisyel hemoraji; kronik etki olarak (2 aylık süreç) sadece fokal interstisyel fibrozis gözlemlendi. Her iki böbrek fonksiyonel kayıplar açısından incelendiğinde; anlamlı olan tek bulgu, kreatinin klirensinde 4 gün süren ge-

çici düşüş ve idrarda 3 gün süren artmış serbest hemoglobin konsantrasyonunu olarak tespit edildi (18).

Evan ve ark. çalışmasında ESWL tedavisi uygulanan tüm köpeklerde gross hematüri gözlemlendi. Tedavi edilen tüm juvenil hayvanlarda anterior ve posterior subkapsüller hematoma gözlenirken, yetişkin böbreklerin %50'sinde benzer değişiklikler gözlemlendi (8). Newman ve ark. çalışmasında akut etkiler grubu, her biri farklı bir şok dalgası dozuna (1776, 4500, 6000 ve 8000 şok) maruz kalan dört böbreği kapsamaktadır. Köpekler 48 ila 72 saat arasında öldürülmüştür. Şaşırtıcı bir şekilde, 8000 şok dalgasına maruz kalan akut veya kronik gruptaki hiçbir böbrek tam nekroz göstermedi. Bütün böbrekler, verilen doz ne olursa olsun, klinik olarak anlamlı bir yaralanma geçirmedi (19). Bu çalışmada yüksek dozdaki şok dalgalarını değerlendirmek için özellikle alışılmışın çok üzerinde şok dalgası dozları kullanılmıştır.

Recker ve meslektaşları yaptıkları sıçan çalışmasında, tedavi edilen böbreklerin taramalı elektron mikroskobu ile tübüllerin hücre yüzeyindeki mikrovillus ve siliaların yaygın kaybı, hücre vakuolizasyonu, deskuamasyon ve sporadik glomerüller rüptür tespit edilmiştir (4). Distal üreter taşlarının tedavisi sırasında şok dalgaları alabilen bir organ olan overle ilgili çalışmasında 15 kV'de 1500 odaklı şok dalgasına maruz kalan dişi sıçanlarda folikül sayısı veya fertilité üzerinde önemli bir etki gözlenmemiştir (20).

Daha geleneksel şok dalgası dozlarını kullanarak, diğer çalışmalar akut ve kronik değişiklikler için böbreklere şok dalgası maruziyetini incelemiştir (21). Şok dalgası doz etkilerini değerlendirirken, meydana gelen hasarlar 500 şokun üzerinde daha ciddiydi, ancak 1500 ile 3000 şok dalgasıyla karşılaştırılmasında anlamlı bir farka rastlanmadı (21). Bir köpek modelinde 1500 şok dalgasının GFR'de herhangi bir deği-

şiklik yapmadığı gözlemlendi, 3000 şok dalgasında ise GFR'nin düşmesine rağmen 24 saat içinde normal değerlerine geri döndüğü gözlemlendi (22). Mini domuz modelinde ise doza bağımlı GFR düşüşünün 6 ay içinde normal değerlerine geri döndüğü gözlemlendi (23). Chandhoke ve arkadaşlarının yaptığı hayvan çalışmalarında GFR'in normal değerlerine dönüşünün KBH ve soliter böbrekli hastalarda ortalama 41.5 ay gibi uzun bir süre aldığı gözlemlendi (24). Tubuler fonksiyonların geçici olarak azaldığı ve hızlıca normale döndüğü gözlemlendi, kan kimyasında değişiklik gözlenmedi (25,26,27).

SONUÇ

EAU (European Association of Urology) kılavuzunda böbrek taşlarında ESWL, PNL ve RIRS tedavilerinin üçünün de kullanılabileceği belirtilmektedir. ESWL'nin 2 cm'ye kadar olan böbrek taşlarında (alt poldekiler dışında) başarılı taşsızlık oranlarına sahip olduğu vurgulanmıştır (28,29). Çocuklarda da benzer endikasyonlarda kullanılabileceği belirtilmiştir. 2 cm'den büyük böbrek taşlarında ilk tercihin PNL olması gerektiği belirtilmiştir, çünkü ESWL tekrarlayan tedaviler gerektirebilir ve fragmanlara bağlı artmış üreteral obstrüksiyon (buna bağlı renal kolik ve taş yolu oluşumu görülebilir) riski içerdiği, hatta ek tedavi prosedürleri gerektireceği belirtilmiştir. ESWL üreter taşlarının tedavisinde de önerilmiştir. Çocuklarda da erişkindekilere benzer endikasyonlarla güvenle uygulanabilmektedir.

Mevcut endikasyonlar güncel kanıt düzeyleri ile kabul edilene kadar, gerek hayvan deneyleri, gerek ise insan çalışmaları yapılarak bu noktaya gelmiştir. ESWL ile halen hem etkinlik hem de güvenilirlik çalışmaları devam etmektedir, bu bilimsel çalışmaların temelini ise hayvan çalışmaları oluşturmaktadır. Mevcut literatür ve hayvan çalışmaları eşliğinde ESWL uygun endikasyonlarda etkin ve güvenilir bir tedavidir.

Kaynaklar

- Anne Hawk et al.: the Mini-Pig: An Ideal Large Animal Model for Studies of Renal Injury in Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy Research. *Shock Wave Lithotripsy* 2 1989
- L.A. Yutkin, Electrohydraulic Effect, Mashgiz (in Russian). Moscow, Russia, 1955
- Yutkin L. Electrohydraulic Effect and Its Industrial Application[J]. Mashinostroenie, Leningrad. 1986.
- Chaussy C, Brendel W, Schmiedt E.: Extracorporeally induced destruction of kidney stones by shock waves. *Lancet*. 1980 Dec 13;2(8207):1265-8.
- Lingeman J E, Lifshitz D A, Evan A P. Surgical management of urinary lithiasis. In: Walsh P C, Rehk A B, Vaughan E D Jr, Wein A J, editors. *Campbell's Urology*. 8. Philadelphia: WB Saunders; 2002. pp. 3362–3451.
- Rassweiler JJ, Renner C, Chaussy C, Thuroff S. Treatment of renal stones by extracorporeal shockwave lithotripsy: an update. *Eur Urol* 2001;39:39:187–199.
- Al-Marhoon MS, Shareef O, Al-Habsi IS, Al Balushi AS, Mathew J, Venkiteswaran KP Extracorporeal Shock-wave Lithotripsy Success Rate and Complications: Initial Experience at Sultan Qaboos University Hospital. *Oman Med J*. 2013 Jul; 28(4):255-9.
- Evan AP, Willis LR, Connors B, Reed G, McAteer JA, Lingeman JE.: Shock wave lithotripsy-induced renal injury. *Am J Kidney Dis*. 1991 Apr;17(4):445-50.
- Eisenberger F, Chaussy C.: Contact-free renal stone fragmentation with shock waves. *Urol Res*. 1978;6(3):111.
- Block G1, Adams LG, Widmer WR, Lingeman JE.: Use of extracorporeal shock wave lithotripsy for treatment of nephrolithiasis and ureterolithiasis in five dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 1996 Feb 15;208(4):531-6.
- Perlick L1, Luring C, Bathis H, Perlick C, Kraft C, Diedrich O.: Efficacy of extracorporeal shock-wave treatment for calcific tendinitis of the shoulder: experimental and clinical results. *J Orthop Sci*. 2003;8(6):777-83.
- El-Sakka AI1, Yassin AA.: Conservative treatment for Peyronie's disease: an update. *Expert Opin Pharmacother*. 2008 Jan;9(1):53-63.
- Vergunst H1, Brakel K, Nijs HG, Laméris JS, Ten Kate FJ, Schröder FH, Terpstra OT: Methyl tert-butyl ether improves the efficacy of extracorporeal shock wave lithotripsy of human gallstones implanted in pigs. *Eur J Surg*. 1994 Nov;160(11):619-25.
- Ned Tijdschr Geneesk. à Nijeholt AA, Jonas U. Crushing of kidney stones: tomorrow's reality? (noninvasive lithotripsy by shock waves). 1983 Jun 18;127(25):1093-4.
- Chaussy C, Schmiedt E.: Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) for kidney stones. An alternative to surgery? *Urol Radiol*. 1984;6(2):80-7.
- Fuchs G, Miller K, Rassweiler J, Eisenberger F: Extracorporeal shock-wave lithotripsy: one-year experience with the Dornier lithotripter. *Eur Urol*. 1985;11(3):145-9.
- Gunasekaran S, Donovan JM, Chvapil M, et al: Effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on the structure and function of the rabbit kidney. *J Urol* 1989; 141:1250-1254
- Recker F, Ruben H, Hofstadter F, et al: Ultramorphological Acute and Long-term Lesions of ESWL in rat kidney. Sixth World Congress on Endourology and Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy, Paris, 1988
- Newman R, Hackett R, Senior D, et al: Pathological effects of ESWL on canine renal tissue. *Urology* 1987; 29:194-200
- McCullough DL, Yeaman LD, Bo WJ, et al: Effect of shock waves on the rat ovary. *J Urol* 1989; 141:670-674
- Delius M, Enders G, Xuan ZR, et al: Biological effects of shock waves: Kidney damage by shock waves in dogs-Dose dependence. *Ultrasound Med Biol* 1988; 14:117-122
- Karlsen SJ, Smevik B, Stenstorm J et al.: Acute physiological changes in canine kidneys following exposure to extracorporeal shock waves. *J Urol* 1990;143:1280-3
- Gilbert BR, Riehle RA, Vaughan JR.: Extracorporeal shock wave lithotripsy and its effect on renal function. *J Urol* 1998;139:482-5
- Chandhoke PS, Albala DM, Clayman RV. :Long term comparison of renal function in patients with solitary kidneys and/or moderate renal insufficiency undergoing extracorporeal shock wave lithotripsy or percutaneous nephrolithotomy. *J Urol* 1992;147:1226-30.
- Vahlensieck Jr,W, Kurz HJ, Steinhauer H et al. Side effects of extracorporeal piezoelectric shock wave lithotripsy(EPL) *Urol Res* 1990; 28:53-6
- Karlsen SJ, Berg KJ, Acut changes in kidney function following extracorporeal chock wave lithotripsy for renal stones. *Br J Urol* 1991;67:241-15.
- Begun FP, Kuoll CE, Gottlieb M et al. Chronic effects of focused electrohydraulic shock waves on renal function and hypertension. *J Urol* 1991;145:635-9
- Sahinkanat, T., et al.:Evaluation of the effects of relationships between main spatial lower pole calyceal anatomic factors on the success of shock-wave lithotripsy in patients with lower pole kidney stones. *Urology*, 2008. 71: 801.

29. Preminger, G.M.: Management of lower pole renal calculi: shock wave lithotripsy versus percutaneous nephrolithotomy versus flexible ureteroscopy. *Urol Res*, 2006. 34: 108. 29. Zheng, C., et al.: Extracorporeal shock wave lithotripsy versus retrograde intrarenal surgery for treatment for renal stones 1-2 cm: a meta-analysis. *Urolithiasis*, 2015. 43: 549.

Y. Onur DANACIOĞLU, Gökhan ATIŞ

Deney hayvanları hipotezi, bilimsel kurallara göre kurulmuş araştırmalarda ve biyolojik deneylerde kullanılan hayvanların dahil edildiği çalışmalar olarak tanımlanmaktadır. Bu terim omurgalı veya omurgasız olmalarına bakılmaksızın, üzerinde deney yapılabilen tüm hayvanlar için kullanılır. Deney hayvan modeli çalışmaları, insana herhangi bir zarar vermeden veya etik bir soruna neden olmadan, insana ait bir hastalığı daha iyi anlamaya, tedavi yöntemlerini test etmeye yarayan çalışmaların yapıldığı ve deney hayvanlarının kullanıldığı çalışmalardır.

Günümüzde basit omurgalı hayvanlardan gelişmiş memeli hayvanlara kadar birçok hayvan türü denek olarak kullanılmaktadır. Hayvan modellerinin avantajları cerrah için gerçeğe yakın bir ortam sağlaması ve insan anatomisine benzer bir yatkınlık oluşturması iken, dezavantajları mali yükünün fazla olması, araştırmacının etik sorunlar ile karşılaşabilmesi ve deneyimli yardımcı personel gereksinimi olarak sayılabilir. Deney hayvanları çeşitli alanlarda kullanılmakla birlikte en fazla sağlık bilimleri alanındaki çalışmalarda kullanılır. Deney hayvanları, sağlık bilimlerinin hemen hemen tüm alanlarındaki yapılan araştırmalarda ciddi miktarlarda denek olarak yer almaktadırlar. Sağlık alanında da bir

modelin geliştirilmesi için modellenecek objenin yapısı ve oluşum mekanizması hakkında detaylı bilgi sahibi olmamız gerekmektedir. Bu nedenle deney hayvanlarında nefrolitiazis ve bunun tedavisi açısından üzerinde çalışılacak model oluşturmadan önce böbrek taşının yapısının, oluşum mekanizmalarının ve kullanacağımız deney hayvanının anatomisinin iyi bilinmesi gerekmektedir.

Hayvan çalışmalarından elde edilen bilginin değeri seçilen hayvanın uygunluğu ile ilişkilidir. Deney için seçilen hayvanın büyüklüğu, ihtiyaç duyulan sayı, cinsiyeti ve yaşı dikkate alınmalıdır. Diğer araştırmalara yol gösterebilmesi için soy, alt soy ve varsa ek özellikleri çalışmada belirtilmelidir. Hayvan modeli seçiminde en önemli adım, öncelikle literatür taraması yapılarak hangi modelin olası ve gerçekçi olduğuna karar vermektir. Literatürü değerlendirdiğimizde taş oluşumu patogenezinde rol oynayan sürecin her aşamasını aydınlatmaya yönelik her ne kadar sıçanlar, tavşanlar ve köpekler gibi deney hayvanları kullanılsa da, üriner sistem taşlarının tedavisini ele alan modellerde en çok domuzların kullanıldığını görmekteyiz.

Tüm dünyada görölme sıklığı %5-10 olan üriner sistem taş hastalığı gün geçtikçe gide-

rek daha sık görülmektedir. Üreter ve böbrek taşlarında konservatif tedavinin kontrendike olduğu, yapılamadığı veya başarısız olduğu durumlarda girişimsel tedavi yöntemleri endikedir. Üreteroskopi, Hugh Hamptom Young'un 1912'de posterior üretral valvi (PUV) olan bir hastanın, dilate üreterini, bir pediatrik sistoskop kullanarak gözlemesi sonrasında başlamıştır. Ancak üreterorenoskopinin (URS) gerçek manada kullanılmaya başlanması, fiberoptik teknolojinin gelişmesine paralel olarak daha sonraki yıllarda gerçekleşecektir. Başarılı tanısıl üreterorenoskopi serileri Young'dan yıllar sonra 1970'in sonlarında Goodman ve Lyon tarafından bildirilmiştir.

Tüm dünyada, son yıllarda diğer tedavi alanlarında olduğu gibi taş tedavisinde de, daha minimal invaziv yöntemlere doğru bir yönelim mevcuttur ancak bunun etkin biçimde kullanımı için yeterli ekipman ve bilgi birikimi gerekmektedir. Literatüre baktığımızda böbrek taşı tedavisinde kullanılan URS, fleksible üreterorenoskopi (f-URS) ve diğer cerrahi yöntemler hakkında eğitim modelleri olarak hayvan modelleri, kadavra modelleri ve cerrahi simülasyonlar kullanılmaktadır. Bu nedenle son yıllarda üreter sistemi yer alan taşların tedavisini konu alan çalışmalarda deney hayvan modelleri kullanma gereksinimi artış göstermektedir. Bu çalışmalar neticesinde bilgi birikimi ve cerrahi tecrübe artmaktadır. Büyük taşların tedavisinde de yüksek taşsızlık başarısı sağlayabilen fakat bunun için uzun bir öğrenme süreci gerektiren retrograd intrarenal cerrahi (RIRS) için çeşitli eğitim modelleri kullanılmaktadır. Tunç ve arkadaşları yaptıkları çalışmada RIRS için in vivo domuz eğitim modeli tanımlanmıştır. URS kullanılarak veya laparoskopik olarak renal pelvise yerleştirilen taşlar, 7.5F f-URS (Karl Storz Flex-X2) kullanılarak kırılmıştır. Ayrıca kırılan fragmanların dışarı alınması için kullanılan yardımcı cihazlar da bu eğitim modelinde denenerek cerrahi tecrübe artırılmıştır. Bu çalışmaya göre insan üreter sistemine en çok

benzerlik gösteren domuz böbreğinin ideal bir eğitim modeli olduğu belirtilmiştir. Altmış kursiyerin katıldığı bir diğer çalışmada ise böbrek taşı tedavisinde kademeli RIRS eğitim modeli uygulanarak sırasıyla teorik, yapay model üzerinde pratik, ex-vivo domuz modelinde pratik ve canlı domuz modelinde pratik eğitimleri yaptırılmıştır. Bu çalışmaya göre katılımcıların %73.4'ü canlı domuz modeli eğitimi sonrasında becerilerini %40'ın üzerinde artırabilmiştir.

Domuz Üreter Sistemi Anatomisi

Domuz üreter sistemi bir çift böbrek ve bu böbrekleri mesaneye bağlayan birer üreterden oluşmaktadır. Her iki böbrek lomber bölgede L1-L4 vertebralar arasında yer almaktadır. Böbreklerin her birinin ağırlığı 150-280 gr, boyutları 9,65-13,82 cm arasında değişmektedir. Domuz böbreği embriyolojik dönemdeki lobların inkomplet füzyonu sonucunda oluşmuştur. Kesitsel olarak baktığımızda böbrek korteksinin füzyona uğradığı fakat medullar piramid ve kalikslerin füzyona uğramadığı bu nedenle ayrı yapıda görünüme sahip olduklarını görmekteyiz. Bu da korteksin bir bütün olmasına fakat iç yüzeyin 8-12 piramitten oluşmasına neden olmaktadır. Rat, tavşan ve köpekler de ise bu tam tersidir ve böbrekleri unipapiller bir yapıya sahiptir. Domuzlarda minor kaliks sayısı insanlardakine benzer şekilde 4-19 arasında değişmektedir. İnsan böbreğinden farklı olarak domuzlarda interpelvikaliksiyel alan bulunmamaktadır. Bu da kalikslerin daha yüzeysel olmasına neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada domuzlarda dört farklı renal pelvis tipi tanımlanmıştır. Ayrıca böbrek pelvis hacminin insan böbreğine göre üç kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Domuzlarda böbrek alt pol ve pelvis arasındaki infundibulum açısı insana göre daha dardır. Bu da alt kaliks taşları hakkında yapılacak çalışmaları olumsuz etkilemektedir. Domuzlarda üreter sistemin diğer bölümlerine baktığı-

mızda insanlardan farklı olarak üreter orifisleri mesane boynuna daha yakın, üreter orifisleri daha dar ve üreterleri intravajinal yerleşimlidir. Sayılan bu özellikler dışında anatomik olarak insanlarla büyük farklılıklar taşımamaktadırlar. Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda URS/f-URS çalışmalarını planlarken, üriner sistemlerinin yapı ve fonksiyonları insana benzerlik gösterdiği için sıklıkla memeli hayvanlar kullanılmalıdır. Sampaio ve arkadaşları yaptığı çalışmada domuz böbreği ile insan böbreğinin anatomik ve morfometrik özelliklerinin benzerlik gösterdiğini ve endoürolojik araştırmalar için deneysel hayvan modelinde domuz kullanımının uygun olacağı belirtilmiştir.

Tedavi Model Örnekleri

Literatürde in vivo, ex vivo ve in vitro modeller kullanarak üreterin fizyolojik ve elektriksel aktivitesini, taş oluşum mekanizmalarını, üreter ve böbrek taşlarının medikal tedavisini araştıran birçok deneysel hayvan modeli çalışması karşımıza çıkmaktadır. Taşın oluşumu, kimyasal yapısı ve medikal tedavisi hakkında çeşitli çalışmalar halen devamlılık gösterse de taşın cerrahi tedavisi hakkında günümüz teknolojik gelişmelerinin dahil edildiği deneysel hayvan çalışmalarının literatürde kısıtlı olduğunu görmekteyiz.

Üreter hakkında yapılan ilk çalışmalar, 1870 yıllarında Engelman'ın köpek, kedi ve tavşanlar ile yaptığı çalışmalara dayanmaktadır. 1961'de Melick ve ark yaptığı çalışmada insan ve domuz üreteri peristaltizminin benzerlik gösterdiği kanıtlanmıştır. Ayrıca bu çalışmada mesane, mesane boynu, trigon ve üreter orifislerinin genel görünümünün de benzer olduğu gösterilmiştir. Üroloji alanında ilk endoürolojik çalışma deneysel köpek modelinde 1944 yılında Greene tarafından yapılmıştır. Domuz modelinde yapılan ilk endoürolojik çalışma ise Clayman ve arkadaşlarına aittir. Bu çalışmada distal üretere yapılan hızlı ve yavaş balon dilatasyonun

sonuçları karşılaştırılmıştır. Üreter hakkında yapılan birçok deneysel çalışma sonrasında üreter taşı tedavisi esnasında üretere yerleştirilen stente bağlı gerçekleşen makroskopik ve mikroskopik değişiklikler birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. El-deen'in 34 erkek tavşan ile yaptığı çalışmada 3F üreteral stent konulması sonrası tavşanların üreterlerinde makroskopik olarak ciddi genişlemenin ve mikroskopik olarak üreter duvarlarında incelenin olduğu, ayrıca 5-7. haftada stentlerin alınması sonrası stentlerde görülen enkrüstasyonların analiz sonuçlarının kalsiyum ve magnezyum apatit olarak belirlendiği gösterilmiştir. Son yıllardaki teknolojik gelişmeler neticesinde üretere yerleştirilen çeşitli özelliklere sahip stentler hakkında birçok deneysel hayvan modeli çalışmaları yapılmaktadır. Bu konuda en son yapılan ve 2018 yılında yayınlanan çalışmada 24 domuz ve 36 üreter kullanılmıştır. Yeni geliştirilen anti-reflüksif üreteral stentin üreteropelvik birleşke darlık tedavisinde kullanıldığı ve URS yardımı ile değerlendirmenin yapıldığı bu çalışmada stente bağlı oluşan reflünün ve mesane trigon irritasyonun engellenebildiği belirtilmiştir.

Üriner sistem taşlarının %80'i kalsiyum oksalat (CaOx) taşı olup genellikle kalsiyum fosfat (CaP) ile beraber bulunur. Bu nedenle CaOx taşları üzerinde en çok çalışma yapılan taş grubudur. Deneysel URS/f-URS modeli oluşturulmadan önce gerçeğe yakın, kolaylıkla elde edilebilecek ve maliyeti düşük artifisyal üreter veya böbrek taşı oluşturulmalıdır. En çok kabul gören yöntemlerden biri kalsiyum alginat ve silika karışımı kalıbın kullanıldığı yöntemdir. Bu yöntemle taşlar istenilen şekilde ve boyutta oluşturulur. Diğer bir yöntem ise bir çeşit sert alçı olan Begostone Plus (BEGO USA, Lincoln, RI)'dir. Değiştirilebilir su içeriği sayesinde Begostone Plus kolay hazırlanabilirliği, akustik ve mekanik özellikleri ve doğal üriner sistem taşlarına benzerliği nedeniyle tercih edilebilir bir modeldir. Bu örneklerin yanısıra literatürde

artifisyal taş oluşturmak için farklı yöntemler de tanımlanmıştır.

Deneyel hayvan modelinde üriner sistem taş tedavisi için URS veya f-URS çalışması planlarken, hedef olarak alınacak taşın üretere veya böbrek içine yerleştirilmesi önemli bir basamaktır. Paterson ve ark yaptığı çalışmada taşın proksimal ureter veya böbrek içine yerleştirilmesi aşamasında perkutan olarak veya ureterin içinden olmak üzere iki yöntem tanımlanmıştır. Fakat deney hayvanının türü ve ureter kalibrasyonu göz önünde bulundurularak perkütan yolun daha çok tercih edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Literatürde ureter taşı tedavisinin yanı sıra bu tedaviler esnasında oluşabilecek etkilerin de araştırıldığını görmekteyiz. Lildal ve ark çalışmasında f-URS yaparken pratikte kullandığımız akses kılıfların farmakolojik ajan kullanıldığında üretere yerleştirilmesine etkisi ve yerleştirilme esnasında gelişen ureter yaralanmaları incelenmiştir. Yirmi iki domuzun kullanıldığı bu çalışmada, beta reseptör agonisti olan isoproterenol (ISO) içeren irrigasyon solüsyonu kullanıldığında ureteral akses kılıfın üretere daha kolay yerleştirildi ve buna bağlı olarak ureterin daha az hasarlandığı gösterilmiştir. Bu çalışmayı destekler nitelikte olan, sekiz dişi domuzun kullanıldığı bir başka çalışmada ise semirigid URS yapılırken ISO kullanımının ureter içi basıncı düşürdüğü kanıtlanmıştır. Bu konuda 72 New Zealand beyaz erkek tavşanın kullanıldığı, ülkemizde yapılan bir diğer çalışmada ise akses kılıfının çapı ve operasyon süresinin artışı ile ureterde oluşan hasarın korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Harper ve ark yaptığı 10 dişi domuzun kullanıldığı randomize kontrollü deneysel hayvan çalışmasında akses kılıf tipleri arasındaki etkinlik ve güvenilirlik farklılıkları karşılaştırılmış. Bu çalışmada balon dilatatörlü ureteral akses kılıfı ile konvansiyonel akses kılıfı karşılaştırıldığında, balon akses kılıfının daha kolay yerleştirildiği ve daha az ureter travmasına yol açtığı gösterilmiştir.

Üriner sistem taş veya diğer patolojilerinin tedavisinde kullanılan holmium:ytrium-aluminum-garnet (Ho:YAG) lazerin etkinliği ve güvenilirliği deneysel hayvan çalışmalarında araştırılmıştır. Literatürde bu konuda in vitro veya ex-vivo çalışmalar karşımıza çıkmaktadır. Ex-vivo çalışmalar, yaşayan bir organizmadan alınmış biyolojik örneklerin özelliklerinin değiştirilmeden kullanıldığı testler olarak tanımlanmaktadır. Deneyin veya ölçümün organizma dışında, doğal koşullara mümkün olduğunca benzer bir ortamda gerçekleştirildiği çalışmalardır. Ex-vivo deneysel koyun modeli çalışmasında, URS yapılırken taşın fragmentasyonu esnasında kullanılan Ho-YAG lazerin yarattığı termal hasar ölçülmüştür. Lazer kullanımı esnasında yapılan irrigasyonun görüntü kalitesini artırmanın yanında ureterin içinde ve dışında oluşan ısı artışını azalttığı bunun da termal hasarı önlediği gösterilmiştir. Bir başka domuz ex vivo modelinde ise dört farklı lazer litotriptörün (Ho:YAG, coumarin-dye laser (CDL), elektrohidrolik (EHL), pnömotik (PI)) ureter perforasyonu yapabilme kapasiteleri karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre en kısa sürede ureter perforasyonunu, 2 sn'de 10 Hz ve 0.5 J/atım ile Ho:YAG ve 24.44 ± 8.77 sn'de toplam enerji 0.001 kJ olarak EHL yapabilmektedir. Altı dakikanın sonunda PI ile ureterorenoskop manipülasyonu olmaksızın ureter perforasyonu yapılamamıştır.

Yeni nesil geliştirilen f-URS hakkında ex-vivo domuz modelinde yapılan çalışmada 270° görüş açısı sağlayan fleksible cihazlarda lazer kullanımı esnasında 8° kayıp yaşanmakta olduğu, bu kaybın eski cihazlarda 38° ulaştığı belirlenmiştir. Ayrıca bu protokol etik olarak insan çalışmalarında yapılamayacak şekilde, ex-vivo modelde yaklaşık 100 kez f-URS yapılarak denenmiş ve yeni nesil cihazlar ile sadece üç fiber optiğin kırıldığı tespit edilmiştir.

URS esnasında yardımcı cihazların kullanılması son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte artmaktadır. Mobley ve ark yaptığı çalışmada

altı domuzda URS yapılırken taş fragmanlarının böbrek içine kaçmasını engelleyen BackStop™ (Boston Scientific, Natick, MA) termosensitif polimerin etkinliği araştırılmıştır. Termosensitif polimer kullanılan grupta ortalama lazer kullanım süresi, ortalama kullanılan enerji miktarı ve operasyon süresinin daha az olduğu tespit edilmiştir. Suh ve ark yaptığı çalışmada, f-URS esnasında fragmante edilen taşın böbreğe kaçmasını engellemek için kullanılan konvansiyonel yardımcı cihaz Stone Cone (Boston Scientific, Natick, MA) ile yeni geliştirilen çok kıvrımlı cihazın yarattıkları böbrek içi basınç ex vivo domuz modelinde karşılaştırılmıştır. Konvansiyonel cihazın yarattığı böbrek içi basıncın çok kıvrımlı cihaza göre daha fazla olduğu ve basıncın cihazların proksimal üreterde kullanıldıkları esnada en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki bu konuda en son yayınlanan çalışmada in vivo domuz modelinde f-URS sonrası taş fragmanlarının temizlenmesi için biyoadhezif bir sistem denenmiştir. Bu sistem ile taş fragmanlarının %80-90 oranında temizlendiği belirlenmiş. Daha sonra sakrifiye edilen deneklere nefrektomi yapılarak histopatolojik inceleme yapılmış ve kullanılan biyoadheziv sistemin organa toksik olmadığı tespit edilmiştir. Bu konuda deneysel hayvan modeli oluşturularak biyoyumluluk gösteren yeni adhezif maddelerin denendiği birçok çalışma literatürde bulunmaktadır.

Sonuç olarak araştırmacılar deneysel çalışmalarında öncelikli olarak hayvan hakları ve etiğini esas alarak oluşturdukları model ile insanlığa yararlı bilgiler sağlamayı hedeflemelidirler. Domuz modelinde yapılması planlanan üriner sistem taş tedavisi çalışmaları diğer hayvan modelleriyle kıyaslandığında maliyet, bakım ve deney hayvanına erişebilirlik açısından daha zorlu görünmektedir. Fakat istediğimiz sonuçları elde edebilme ve bunu gerçek hayata yansıtabilmek açısından domuz ve diğer memeli hayvan modellerinde yapılan çalışmalar

araştırmacılar için daha uygun ve gerçekçi bir bakış açısı yakalamalarını sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Pound P, Ebrahim S, Sandercock P, Bracken MB, Roberts I. Where is the evidence that animal research benefits humans? *BMJ*. 2004; 328(7438): 514-517.
2. Hein S, Schoenthaler M, Wilhelm K, Schlager D, Thiel K, Brandmann M, et al. Novel biocompatible adhesive for intrarenal embedding and endoscopic removal of small residual fragments after minimally invasive stone treatment in an ex vivo porcine kidney model: initial evaluation of a prototype. *J Urol*. 2016; 196(6): 1772-1777.
3. Ramello A, Vitale C, Marangella M. Epidemiology of nephrolithiasis. *J Nephrol*. 2001; 13: 45-50.
4. Ziemba JB, Matlaga BR. Epidemiology and economics of nephrolithiasis. *Investig Clin Urol*. 2017; 58(5): 299-306.
5. Goodman TM. Ureterscopy with pediatric cystoscope in adults. *Urol*. 1977; 9(4): 394.
6. Lyon ES, Kyker JS, Schoenberg HW. Transurethral ureteroscopy in women: a ready addition to the urological armamentarium. *J Urol*. 1978; 119(1): 35-36.
7. Strohmaier WL, Giese A. Improved ex vivo training model for percutaneous renal surgery. *Urol Res*. 2009; 37(2): 107.
8. Lee CL, Anderson JK, Monga M. Residency training in percutaneous renal access: does it affect urological practice? *J Urol*. 2004; 171(2): 592-595.
9. Tunc L, Resorlu B, Unsal A, Oguuz U, Diri A, Gozen AS, et al. In vivo porcine model for practicing retrograde intrarenal surgery. *Urol Int*. 2014; 92(1): 64-67.
10. Soria F, Morcillo E, Serrano A, Cansino R, Rioja J, Fernandez I, et al. Development and validation of a novel skills training model for retrograde intrarenal surgery. *J Endourol*. 2015; 29(11): 1276-1281.
11. Sampaio FJ, Pereira -Sampaio MA, Favorito LA. The pig kidney as an endourologic model: anatomic contribution. *J Endourol*. 1998; 12(1): 45-50.
12. Strohmaier WL, Giese A. Porcine urinary tract as a training model for ureteroscopy. *Urol Int*. 2001; 66(1): 30-32.
13. Szymański J, Konarska S, Polguy M, Oszukowski P. Pelvi-caliceal Collecting System in Swine—Authors Own Anatomical Classification. *Adv Clin Exp Med*. 2012; 21(1): 27-33.
14. McLEOD DG, Reynolds DG, Swan KG. Adrenergic mechanisms in the canine ureter. *Am J Physiol-Legacy Content*. 1973; 224(5): 1054-1058.
15. Roshani H, Dabhoiwala N, Dijkhuis T, De Visser BO, Kurth K, Lamers W. An electro-myographic study of the distal porcine ureter. *J Urol*. 2000; 163(5): 1570-1576.

16. Jones ML, Dominguez BJ, Deveau MA. An experimental model for calcium carbonate urolithiasis in goats. *J Vet Intern Med.* 2018; 32(3): 1268-1273.
17. Nishihata M, Kohjimoto Y, Hara I. Effect of K ampo extracts on urinary stone formation: An experimental investigation. *Int J Urol.* 2013; 20(10): 1032-1036.
18. Lucas D. On the normal peristaltic movements of the ureter. *Exp Biol Med.* 1906; 4(1): 6-8.
19. Melick W, Naryka JJ, Schmidt J. Experimental studies of ureteral peristaltic patterns in the pig: 1. Similarity of pig and human ureter and bladder physiology. *J Urol.* 1961; 85(2): 145-148.
20. Greene LF. The Renal and Ureteral Changes Induced by Dilating the Ureter: An Experimental Study. *J Urol.* 1944; 52(6): 505-521.
21. Clayman rv, elbers j, palmer jo, wassynger w. Experimental extensive balloon dilation of the distal ureter: immediate and long-term effects. *J Endourol.* 1987; 1(1): 19-22.
22. Galal H, Lazica A, Lampel A, GUIOCHI FE, Schubert G, Thüroff J, et al. Management of ureteral strictures by different modalities and effect of stents on upper tract drainage. *J Endourol.* 1993; 7(5): 411-417.
23. EL-DEEN ME, Khalaf I, RAHIM FA. Effect of internal ureteral stenting of normal ureter on the upper urinary tract: an experimental study. *J Endourol.* 1993; 7(5): 399-405.
24. Brotherhood H, Lange D, Chew BH. Advances in ureteral stents. *Transl Androl Urol.* 2014; 3(3): 314.
25. Soria F, Morcillo E, Pamplona M, Uson J, Sanchez-Margallo FM. Evaluation in an animal model of a hybrid covered metallic ureteral stent: a new design. *Urol.* 2013; 81(2): 458-463.
26. Soria F, Morcillo E, Serrano A, Budia A, Fernández I, Fernández-Aparicio T, et al. Evaluation of a new design of antireflux-biodegradable ureteral stent in animal model. *Urol.* 2018; 115: 59-64.
27. McAteer JA, Williams Jr JC, Evan AP, Cleveland RO, Bailey MR, Crum LA. A gypsum-based artificial stone for shock wave lithotripsy research. *J Acoust Soc Am.* 2002; 112(5): 2315-2315.
28. Carey RI, Kyle CC, Carey DL, Leveillee RJ. Preparation of artificial kidney stones of reproducible size, shape, and mass by precision injection molding. *J Endourol.* 2008; 22(1): 127-132.
29. Esch E, Simmons WN, Sankin G, Cocks HF, Preminger GM, Zhong P. A simple method for fabricating artificial kidney stones of different physical properties. *Urol Res.* 2010; 38(4): 315-319.
30. Paterson RF, Kim SC, Kuo RL, Lingeman JE, Evan AP, Connors BA, et al. Shock wave lithotripsy of stones implanted in the proximal ureter of the pig. *J Urol.* 2005; 173(4): 1391-1394.
31. Lildal SK, Andreassen KH, Christiansen FE, Jung H, Pedersen MR, Osther PJS. Pharmacological relaxation of the ureter when using ureteral access sheaths during ureterorenoscopy: a randomized feasibility study in a porcine model. *Adv Urol.* 2016; 2016.
32. Jakobsen JS, Jung HU, Gramsbergen JB, Osther PJ, Walter S. Endoluminal isoproterenol reduces renal pelvic pressure during semirigid ureterorenoscopy: a porcine model. *BJU Int.* 2010; 105(1): 121-124.
33. Gücük A, Söyler G, Üyetürk U, Yılmaz B, Nalbant İ, Gücük S, et al. Does ureteral access sheath usage lead to permanent damage in the ureter? A placebo controlled trial in a rabbit model. *Acta Cir Bras.* 2018; 33(5): 408-414.
34. Harper JD, Ebrahimi KY, Auge BK, Lamberton GR, Pham AK, Zuppan C, et al. Comparison of a novel radially dilating balloon ureteral access sheath to a conventional sheath in the porcine model. *J Urol.* 2008; 179(5): 2042-2045.
35. Molina WR, Silva IN, Donalizio da Silva R, Gustafson D, Seht D, Kim FJ. Influence of saline on temperature profile of laser lithotripsy activation. *J Endourol.* 2015; 29(2): 235-239.
36. Santa-Cruz RW, Leveillee RJ, Krongrad A. Ex vivo comparison of four lithotripters commonly used in the ureter: what does it take to perforate? *J Endourol.* 1998; 12(5): 417-422.
37. Wendt-Nordahl G, Trojan L, Alken P, Michel M-S, Knoll T. Ureterscopy for stone treatment using new 270 semiflexible endoscope: In vitro, ex vivo, and clinical application. *J Endourol.* 2007; 21(12): 1439-1444.
38. Mobley JM, Vemana G, Strother M, Figenshau RS, Vetter JM, Larson J, et al. In vivo evaluation of a reverse thermosensitive polymer for ureterscopy with laser lithotripsy: Porcine model. *J Endourol.* 2014; 28(5): 554-559.
39. Suh LK, Rothberg MB, Landman J, Katsumi H, Gupta M. Intrarenal pressures generated during deployment of various antiretropolusion devices in an ex vivo porcine model. *J Endourol.* 2010; 24(7): 1165-1168.
40. Hein S, Schoeb DS, Grunwald I, Richter K, Habers-troh J, Seidl M, et al. Viability and biocompatibility of an adhesive system for intrarenal embedding and endoscopic removal of small residual fragments in minimally-invasive stone treatment in an in vivo pig model. *World J Urol.* 2018; 36(4): 673-680.
41. Schoeb DS, Schoenthaler M, Schlager D, Petzold R, Richter K, Grunwald I, et al. New for Old-Coagulum Lithotomy vs a Novel Bioadhesive for Complete Removal of Stone Fragments in a Comparative Study in an Ex Vivo Porcine Model. *J Endourol.* 2017; 31(6): 611-616.

Perkütan Nefrolitotomi

36

Bilal ERYILDIRIM

Giriş

Perkütan nefrolitotomi (PNL) tekniği son yıllarda önemli ölçüde gelişmiştir. Günümüzde 2 cm'den büyük böbrek taşlarında en çok tercih edilen tedavi seçeneği PNL'dir (1-3). Operasyonda kullanılan enstrüman ve litotripsi teknolojisindeki gelişmeler ile endoürologların bu konuda tecrübelerinin artması PNL'yi %90'a ulaşan taşsızlık oranları ile güvenli ve başarılı bir prosedür haline getirmiştir (4-6). Ancak bütün bu gelişmelere rağmen, operasyonun tüm aşamalarında bazı komplikasyonlarla karşılaşılabilir. PNL operasyonu sırasında toplayıcı sisteme uygun bir kaliks girişi, ameliyatın başarısı ve komplikasyonların minimize edilmesi açısından kritiktir.

Üriner sistem taş hastalığını hayvan modelleri üzerinde çalışmak çok önemlidir; Modeller karmaşık bir mekanizmayı bağımsız bölümlere ayırmamıza ve her bir bölümü birbirinden ayrı olarak incelememize olanak sağlar. PNL operasyonu için oluşturulan deney modellerinin çoğunluğu da özellikle giriş aşamasının simülasyonu ile ilgilidir. PNL tekniği zor bir operasyondur, bu yüzden öğrenme eğrisi de biraz uzundur. PNL operasyonunun, etkinliği elde

etmek için 36-60 vaka ve mükemmellik elde etmek için >100 vaka gerektirmesi de bu yüzden şaşırtıcı değildir (7-9).

Eğitim için kullanılan modelleri; biyolojik ve non-biyolojik tezgah modelleri, hayvan modelleri ve simülatörler olarak 3 kategoride toplayabiliriz. Bu bölümde PNL'de en sık kullanılan biyolojik tezgah modelleri ve hayvan modellerinden bahsedeceğiz.

PNL eğitiminde kullanılan modeller

Biyolojik tezgah modelleri; Bu modellerde genel olarak domuz veya sığır böbrekleri kullanılmıştır. Kullanılan böbrekler sentetik veya biyolojik materyallerle sarılarak deney modelleri oluşturulmuştur. Biyolojik tezgah modellerinde böbreğe pelvise yapılan kesi vasıtası ile taş yerleştirilir ve üreterin distal ucu, normal salin veya kontrast madde enjekte etme imkanı vermek için üreter kateterine bağlanır (10). Bu modeller, gerçek hayatla karşılaştırılabilecek dokunsal bir his sunduğu gibi hem floroskopik hem de ultrason rehberliğinde böbreğe giriş yapmak için uygun modellerdir.

Biyolojik tezgah modellerinde kullanılan sığır veya domuz böbrekleri köpük, silikon gibi



Resim 1. Üreteri nelaton kateter ile kanülize edilmiş taze inek böbreği



Resim 2. Böbreğin sünger takaca içinde plastik manken içine yerleştirilmesi

değişik materyaller ile örtülmüş veya plastik manken, tavuk, tam kalınlıkta cilt veya kas tabakası da içeren karkas et içine konularak model oluşturulmuştur.

Model 1. Abdallah ve arkadaşları tarafından tanımlanmış bu model ile böbrek toplayıcı sistemine floroskopik giriş için kullanılan öküzü gözü ve triangulasyon teknikleri karşılaştırılmıştır (11). Bu modelde üreteri nelaton kateter

ile kanülize edilmiş taze inek böbreği kullanılmıştır (Resim 1). Böbrek sünger tabakalar içine konulduktan sonra, kıyafet vitrinlerinde kullanılan bir manken içine yerleştirilmiştir (Resim 2). Manken üzerinde iğnenin gireceği bir bölüm açılarak, buraya insan cildini taklit edileceği düşünülen ve patlıcandan oluşturulan bir kapak yerleştirilmiştir. Bu model ile floroskopi kullanılarak böbrek toplayıcı sistemine giriş eğitimi yapılabilir (Resim 3).



Resim 3. Model üzerinde böbrek toplayıcı sistemine floroskopik giriş



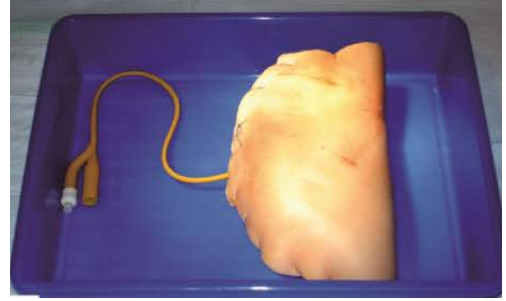
Resim 4. Taze domuz böbreği ve tam kat deri flebi

Bu model ucuz ve kolay oluşturulabilir bir modeldir. İnek böbreklerinin toplayıcı sistemleri büyük ölçüde insana benzer olduğundan, oldukça kullanışlı bir model olabilir.

Model 2. 2011 yılında Imkamp ve arkadaşları tarafından perkütan renal cerrahi için yeni bir ex-vivo model olarak tanımlanmıştır (12). Bu modelde taze domuz böbreği ve böbreği sarmak için tam kat deri flebi kullanılmıştır. Böbrek üretere yerleştirilen ve sonrasında serum fizyolojik veya kontrast madde verilmesi için kullanılacak bir katater ile kanülide edilmiştir, ayrıca 0,5 cm'lik yapay taşlar böbreğe yerleştirilmiştir (Resim 4).

Kullanılan deri flebi yetişkin domuzların karın duvarından alınan deri altı dokuya sahip, böbreğin tamamını kaplayacak şekilde yaklaşık 5-6 cm kalınlığında ve 40-50 cm çapında idi. Böbrek, bu cilt flebinin ortasına tespit edilip böbreğin çevresi ultrason jeli ile kaplandıktan sonra yerleştirildi. Takiben böbreği çevreleyen flep kapatıldı ve sütüre edildi (Şekil 5).

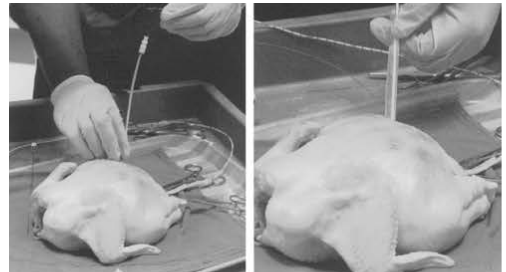
Hazırlanan bu model, yazarlar tarafından böbreğe floroskopik ve ultrasonik giriş için uygun, kolay ve ucuz bir yöntem olarak tanımlanmıştır. Eğitime katılan tüm öğrenciler böbrek toplayıcı sistemine başarılı giriş gerçekleştirmiş ve %83,3'ü perkütan nefrolitotomi operasyo-



Resim 5. Tam kat cilt flebi ile kapatılmış domuz böbreği

nunun tüm aşamalarını bu model üzerinde tamamlayabilmiştir.

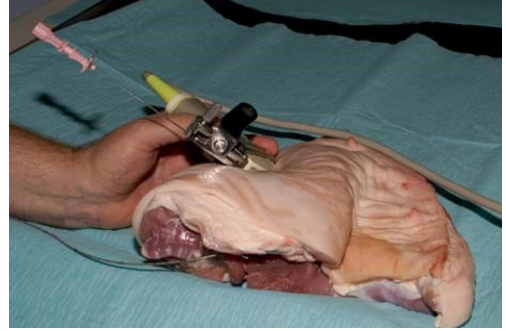
Model 3. Hammond ve arkadaşlarının perkütan nefrolitotomi operasyonu eğitimi için planladığı bu modelde içine taş yerleştirilmiş domuz böbreği, bütün bir tavuk karkası içine konularak yeni bir model oluşturulmuştur (13). Bu modelde floroskopik olarak böbrek toplayıcı sistemine iğne ile giriş, trakt dilatasyonu ve giriş kılıfının yerleştirilmesi gibi, operasyonun pekçok aşaması gerçekleştirilebilmektedir (Resim 6). Yazarlar bu basit ve çok uygun maliyetli modelin perkütan nefrolitotomi'yi yakından simüle ettiğini ve eğitim alan katılımcılar tarafından doldurulan ankette, modelin perkütan renal erişim ve nefrolitotomi tekniklerinin uy-



Resim 6. Böbrek toplayıcı sistemine giriş ve trakt dilatasyonu



Resim 7. Böbrek ve üreterin hazırlanması



Resim 9. Ultrason rehberliğinde böbreğe giriş

gulanmasında etkin olduğunu belirlediklerini bildirmişlerdir.

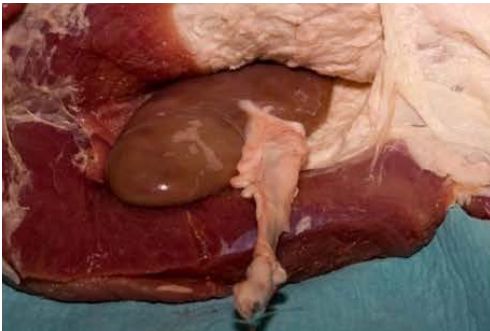
Model 4. Strohmaier tanımladığı bu ex-vivo domuz modelinin tüm perkütan endoürolojik prosedürler (perkütan nefrostomi, endopyelotomi, PNL) için iyi bir eğitim olanağı sağlayacağını belirtmiştir (10). Bu modelde taze erişkin domuz böbreği ve üreter, diğer retroperitoneal organlardan dikkatli bir şekilde disseke edilerek perkütan böbrek prosedürleri için bir eğitim modeli olarak kullanılmak üzere çıkarılır (Resim 7).

Böbrek toplayıcı sistemi açılarak taş yerleştirildikten sonra su geçirmez bir şekilde kapatılır. Ayrıca yine üretere böbrek toplayıcı siste-

mine serum veya kontrast madde verilmesi için kullanılacak 5F üreter kateteri yerleştirilir. Daha sonra böbrek, üreteri dışarıda kalacak şekilde aynı domuzların göğüs ve karın duvarından alınan bir doku içine yerleştirilir (Resim 8).

Bu model ile bir ultrason probu kullanılarak böbrek toplayıcı sistemi görüntülenebilir ve iğne ile toplayıcı sisteme giriş yapılabilir. Giriş iğnesinin böbreğe ulaşmadan önce deri, yağ ve kasları geçmesi ve kaburgaların insanlarda olduğu gibi böbreklerin üzerine gelmesi klinik duruma oldukça yakındır (Resim 9).

Yazarlar bu modeli perkütan böbrek cerrahisi eğitim kurslarında büyük bir başarıyla kullandıklarını ve tekniğin biyolojik olmayan simülatörler sonrası, kursiyerler için uygun bir eğitim modeli olacağını belirtmişlerdir.



Resim 8. Böbreğin toraks/abdomen duvar segmentinin içine yerleştirilmesi

Hayvan Modeli

PNL'de kullanılan hayvan modeli oldukça kısıtlıdır ve literatürü taradığımızda hayvan modeli olarak sadece domuzun kullanıldığını görmekteyiz. Böbrek büyüklüğü ve anatomisinin insana yakın olması domuz modelinin en önemli kullanıma nedenidir.

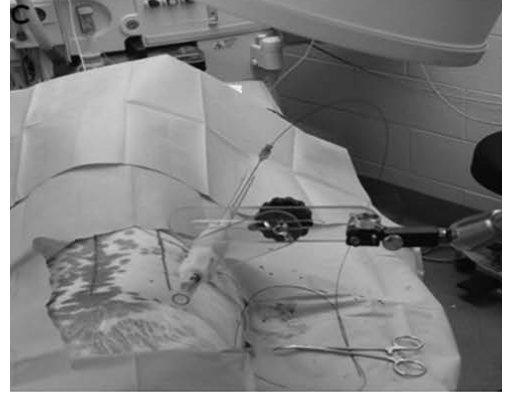
Bhullar ve arkadaşları, 2014 yılında böbreğe perkütan giriş için tanımladıkları "böbrek giriş cihazı" için hayvan modeli olarak domuzu kullanmışlardır (14). Toplam 4 domuz kullanıla-



Resim 10. Domuz modelinde kullanılan böbreğe giriş cihazı

rak tanımladıkları cihaz ile 24 ayrı kalikse giriş yapılmıştır (Resim 10).

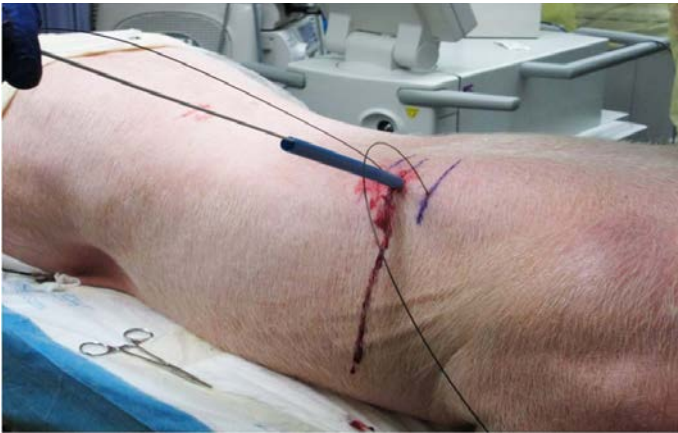
İşlem genel anestezi altında gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, supin pozisyonunda alt batin orta hatta yapılan 5 cm'lik insizyon ile bilateral üreter kataterleri yerleştirilmiş ve bu kataterler abdominal insizyonun alt kısmından çıkarılmıştır. Hayvan daha sonra ameliyat masasında prone pozisyonuna alınmış ve üreter kataterlerinden verilen kontrast madde kılavuzluğunda böbreğin değişik kalikslerine floroskopik olarak giriş yapılmıştır (Resim 11).



Resim 11. Floroskopik olarak böbrek toplayıcı sistemine giriş

İşlem sonrası batin yan duvarına yapılan insizyonlarla retroperitona girilmiş ve herhangi bir retroperitoneal hematoma veya böbreğin aktif kanaması ile birlikte plevra, karaciğer veya barsak gibi çevre organlarda herhangi bir hasar olup olmadığı değerlendirilmiştir. Takiben böbrekler disseke edilerek, kılavuz tellerin hedeflenen kalikslere girip girmediği kaydedilmiştir.

Diğer bir hayvan modeli, Abourbih ve arkadaşları tarafından PNL esnasında böbrek toplayıcı sistemindeki basınçların ölçümü için kullanılmıştır (15). Kullanılan modeller yaklaşık 50 kg'lık dişi domuzlardır. İşlem genel anestezi altında ve prone pozisyonunda gerçekleştirilmiştir (Resim 12).



Resim 12. Domuz modelinde perkütan giriş kılıfı yerleştirilmesi

Bu çalışmada toplayıcı sistem kontrast madde ile görüntüledikten sonra böbreğe üst ve alt kaliksten girilmiş, tek giriş kılıfı ile çift giriş kılıfı, rijid nefroskop ile fleksible nefroskop kullanımı esnası ve vakum yapılan modellerde toplayıcı sistemdeki basınçlar ölçülmüş ve karşılaştırılmıştır.

Lipkin ve arkadaşları ise PNL'de oluşturulan trakt üzerine hemostatik ajanların etkisini yine domuz modelinde araştırmışlardır (16). Bu çalışmada ortalama ağırlıkları 36 kg olan 10 adet domuzda, genel anestezi altında ve prone pozisyonda böbrek toplayıcı sistemine perkütan trakt oluşturulmuş ve 30 F giriş kılıfı yerleştirilmiştir. Giriş kılıfı yerleştirildikten 15 dakika sonra nefroskopik görüş altında çıkarılmış ve bu esnada trakta hemostatik ajan uygulanmıştır. Takiben postoperatif 1., 14. ve 30. günlerde intravenöz pyelografi çekilmiş ve traktan kaçak olup olmadığı kontrol grubu ile karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. Takiben yapılan nefrektomi ile alınan böbrekler patolojik olarak da incelenmiştir. Yazarlar sonuç olarak tüpsüz PNL yapılacak olgularda giriş traktına uygulanacak hemostatik ajanların idrar kaçağını azaltabileceğini belirtmişlerdir.

Kaynaklar

1. Fernstrom I, Johansson B. Percutaneous pyelolithotomy. A new extraction technique. *Scand J Urol Nephrol.* 1976;10:257-259.
2. Tanriverdi O, Boylu U, Kendirci M, et al. The learning curve in the training of percutaneous nephrolithotomy. *Eur Urol.* 2007;52:206-211.
3. Tiselius HG, Ackermann D, Alken P, et al. Working Party on Lithiasis, European Association of Urology. Guidelines on urolithiasis. *Eur Urol.* 2001;40:362-371.
4. Kim SC, Kuo RL, Lingeman JE. Percutaneous nephrolithotomy: an update. *Curr Opin Urol.* 2003;13:235-241.
5. Basiri A, Tabibi A, Nouralizadeh A, et al. Comparison of safety and efficacy of laparoscopic pyelolithotomy versus percutaneous nephrolithotomy in patients with renal pelvic stones: a randomized clinical trial. *Urol J.* 2014;1:1932-1937.
6. de la Rosette J, Assimos D, Desai M, et al. The Clinical Research Office of the Endourological Society Percutaneous Nephrolithotomy Global Study: indications, complications, and outcomes in 5803 patients. *J Endourol.* 2011;25:11-17.
7. Ziaee SAM, Sichani MM, Kashi AH, et al. Evaluation of the Learning Curve for Percutaneous Nephrolithotomy *Urol J.* 2010;7:226-231.
8. Jang WS, Choi KH, Yang SC, et al. The Learning Curve for Flank Percutaneous Nephrolithotomy for Kidney Calculi: A Single Surgeon's Experience. *Korean J Urol.* 2011;52:284-288.
9. de la Rosette JJ, Laguna MP, Rassweiler JJ, et al. Training in percutaneous nephrolithotomy-a critical review. *Eur Urol.* 2008;54(5):994-1001.
10. Strohmaier WL, Giese A. Ex vivo training model for percutaneous renal surgery. *Urol Res.* 2005;33:191-193.
11. Abdallah MM, Salem SM, Badreldin MR, et al. The use of a biological model for comparing two techniques of fluoroscopy-guided percutaneous puncture: A randomised cross-over study. *Arab J Urol.* 2013;11(1):79-84.
12. Imkamp F, von Klot C, Nagele U, et al. New ex-vivo organ model for percutaneous renal surgery. *Int Braz J Urol.* 2011;37(3):388-394.
13. Hammond L, Ketchum, Schwartz BF. A new approach to urology training: a laboratory model for percutaneous nephrolithotomy. *J Urol.* 2004;172:1950-1952.
14. Singh Bhullar J, Scott R, Patel M, et al. Kidney access device. *JSLs.* 2014;18(4). pii: e2014.00219.
15. Abourbih S, Alsyof M, Yeo A, et al. Renal Pelvic Pressure in Percutaneous Nephrolithotomy: The Effect of Multiple Tracts. *J Endourol.* 2017;31(10):1079-1083.
16. Lipkin ME, Mancini JG, Simmons WN, et al. Pathologic evaluation of hemostatic agents in percutaneous nephrolithotomy tracts in a porcine model. *J Endourol.* 2011;25(8):1353-1357.

KISIM 7

ÜROGENİTAL TRAVMALAR İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Hakan AKDERE

Böbrek Travması

37

Gürkan ARIKAN, Hakan AKDERE

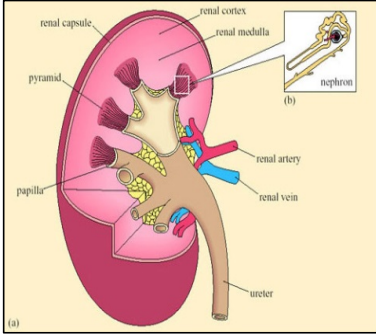
ANATOMİ

a. Böbrek

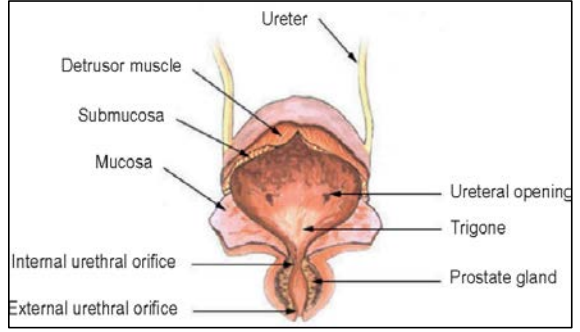
Böbrekler bezelye şeklindedir. Sağ böbreğin üst polü L1 vertebra hizasında bezelye şeklinde yerleşimlidir ve göğüs kafesi içine uzanır. Alt polü ise L3 vertebra hizasındadır. Sol böbrek sağa göre boyunun 1/4-1/2 oranında kaudala kaymıştır. İkisi de orta hatta eşit uzaklıktadır. İyi beslenmiş hayvanlarda hilus ve böbreğin çevresi yağ doku ile çevrilidir. Ön ve arka duvarı yağdan yoksundur. Böbrek 15-25 mm uzunluğunda, 10-15 mm genişliğinde ve ön-arka çapı 10 mm'dir. 180-280 gr'lık bir rat böbreğinin ağırlığı 0.73-1.2 gr'dır (1). Bu da toplam ağırlığın yaklaşık %76'sı kadardır (2). Yüzeyi düzdür, iç kısmında silindir şeklinde ince ve düzgün papillalar vardır. Enine kesitlerde şu tabakalar görülür (3);

- Korteks; yaklaşık 1.3-1.7 mm incelikte
- Medulla;
 - * Dış band (0.55-0.75 mm)
 - * İç band (1-1.4 mm)
 - * İç bölge (3.55-4.05 mm- renal papillayı oluşturur).

Kortekste medullanın dış bandına tutulmuş meduler koni şeklinde kolonlar, böbreğin yüzeyine ulaşmazlar. Erişkin bir rat böbreğinde yaklaşık 30000 glomerül vardır (1,4). Her medüller kolondan periferine uzanan 6-10 toplayıcı tübül, 30-60 proksimal tübül ve çok sayıda distal tübül (düz) vardır. Medullanın dış bandı tübüler sistemin aynı kısmını içerir. Meduller toplayıcı tübüller aynı tipte sirküler konfigürasyonlarına katılırlar, buna karşılık nefronun düz seyreden kısımları vasküler yapıya paralel seyreder. Böbreğin hilusunda renal arter 3 ya da 4 dala ayrılır, bunlar çift yönlü olarak 6-8 interlober dallara ayrılır ve renal sinüsü dorsal veya ventral olarak geçer. İnterlober arterler 8-10 arcuat artere ayrılır, her biri interlobüler dalları verir. Tek interlobüler arterler direkt interlober arterlerden çıkabilir ve renal pelvisin duvarını, üreter, renal kapsül ve sinusun yağ dokusunu besleyebilir (5). İnterlobüler arterler ilk önce geniş bir açıyla aferent arteriyolleri oluştururlar ancak böbrek yüzeyine yaklaştıkça daha keskin bir açı oluştururlar. Bu damarlar organın kapsülünü veya kortikal kapiller ağı beslemez (6). Kortikal zonu orta kısmında interlobüler arterler kapakçıklar içerirler, bunlar aferentarteriolün kökün-



Resim 1. Böbrek



Resim 2. Mesane ve Üreter

de yer alırlar (7). Bazen çift eferent arteriollerin çoğu kortikal kılcak damarlara kısa bir yoldan dökülürler. Periferik glomerüllerin eferent damarlarını böbrek yüzeyinin hemen altında bir plexus besler. Bu damarlar jukstamedüller (jm) korpuslardan çıkarlar, jm korpuslar; dış banda ve medüller radyal vasküler demet şeklinde uzanırlar (8,9). Medüller vasküler demet 40-170 adet ince duvarlı damar içerir ve bunlar aynı aksta interlobüler arterler olarak devam eder (3,10). Bunların musküler duvarı yoktur, arteriyol ve venülden ziyade vasa recta olarak tanımlanmıştır. Düz arteriyel damarlar düz venlerden farklı olarak sadece arterlerden daha küçük çap ve daha yüksek endotelere olması ile ayrılırlar. Enine kesitlerde düz venler poligonal olarak görülür ve vasküler demetten ayrılır (11). Değişken uzunlukta seyreden bu arteriyel damar medüller kapiller plexusu oluşturur. Plexus nefronun ince segmenti ile yakın ilişkide olan arteriyel damarlar ile birlikte seyreden düz venlere boşalır. Dış bantdaki düz venler vasküler demetten ayrılır ve ortak bir kök ile arkuat vene dökülür. Böbrek venler arterleri ile birlikte seyreder. Arcuat venler aynı arterlerin medüller tarafında ilerler, interlober arterler interlober venler ve sinüsler arasında uzanır (8). Arterler otonom olarak beslenen bölgelerde terminal olarak kabul edilse de venöz drenajda üst üste binme vardır (9), (Resim 1,2).

b. Renal Pelvis

Papillary çevreler ve böbreğin kutuplarına doğru uzanan iki dorsal ve iki ventral girinti oluşturmak üzere uzanır. Girinti böbrek kıvrımını takip eder ve lateral adneksa dönüktür (12). Basit kübik epitel ile döşelidir, uzunluğu artarak devam eder (renal pelvis kenarından üreter transizyonal epiteline kadar). Distal 1/3 renal pelviste düz kas belirir, üreterde belirgin artar (6).

c. Üreter

Renal hilustan ayrılarak sublumbar kas yüzeyinde kaudale doğru uzanır. Mesaneye dorso-lateralden boşalır. Böbrek lokalizasyonu nedeni ile sol üreter daha kısadır (sağ 50 mm, sol 45 mm). Dış çapı 0.3 mm civarındadır. Longitudinal yüzünde, mukoza 4-8 kat poligonal epitel hücreleri, bazal membran, kapiller, kollajen ve elastik liflerle çevrili bir propriyası vardır. Musküler duvar mesanenin yakınında kalınlaşmıştır (13), (Resim 1,2).

d. Mesane

Kranial kısmı pubik kemiğin komşuluğundadır. Boş iken armut şeklindedir, boyu 10 mm, eni 5 mm'dir. Dolduğu zaman sferik bir şekil alır (25x15 mm). Erkeklerde prostatın anterior lobu, mesanenin ventrolateral duvarına komşudur.

Bağların düzeni ve ligamentlerin yapısı memelilerdeki olağan yapı gibidir (14,15), (Resim 3).

e. Üretra

Üretranın lümeni segmentlere göre farklılık gösterir. Pelvik bölümü yaklaşık 0.7 mm'lik bir lümenine sahiptir. Dorsal duvarda, elonge seminal kollikül yaklaşık 0,6 mm üretra lümenine protrüde olur. Distalde kollikül karşı duvardan kaynaklanan iki katlantı ile birleşerek kollikülün lateralinde iki küçük divertikül oluşturur. Kollikülün tam karşısında, üretranın ventral duvarı oluk oluşturacak şekilde içeri doğru çukurlaşmıştır. İşıadik arkta, pelvik üretra geniş bir santral lümeni (üretral divertikül) olan 4-5 mm genişlikteki üretral bulba girer ve bulbo-kavernöz kas tarafından sarılır. Üretral oluk boyunca seyreden penil üretra glansa ulaşır ve glans ucundan dışarı açılır. Üretranın duvarı her bölümünde değişen miktarda subepitelyal kavernöz doku içerir. Bu doku seminal kollikül bölgesinde iyi gelişmiştir fakat kaudal kısımda daha zayıftır. Üretral bulbun büyük korpus kavernozumu ile birlikte seyrederek, sonra penil kısma doğru daralır ve üretral oluğun içerisinde, üretranın etrafında üniform kalınlıkta bir kılıf oluşturur. Glansa yakın bir yerde biter ve yeri-

ni ayrı bir korpus kavernozum glandına bırakır. Mukozal kas lifleri yalnızca üretralbulb ve kollikülün kranialindeki üretra duvarında yer alır (6).

Üretra ve Penisin Kasları: Üretral kas idrar kesesinin boynunda başlar, üretranın pelvik kısmını çevreler ve bulböz kısmındaki iskiokavernöz kasların arasında sonlanır. İç sirküler ve dış longitudinal lifler tamamlanmamış, midsagittal bağ dokusu septumunda birleşirler. Çift m. bulbo-cavernosus (m. Bulbospongiosus) soğanın kranial kısmından başlar, onu tamamen örter ve penis kökünün kaudal kısmına girer. Çift m. İschiovavernosus, işiadiik arkta başlar, her biri penisin bir krus'unu çevreler ve onun dorsolateral yüzeyinde sonlanır (6), (Resim 2).

OPERASYONA HAZIRLIK

a. Anestezi:

Deneklerin yem alımı anesteziden 12 saat önce kesilir fakat sıvı alımı kesilmez. Hayvanlar usulüne uygun olarak tutulduktan sonra operasyon öncesi ağırlığı kaydedilir (Resim 3, 4). Ardından sedasyon için 5 mg/kg intramusküler veya 10 mg/kg intraperitoneal XylazinHCl ve genel anestezi için 50 mg/kg intramusküler veya 90 mg/kg intraperitoneal Ketamin HCl enjekte



Resim 3. Hayvanın Tutulması



Resim 4. Pre-Operatif Kuru Ağırlık



Resim 5. Anestezik Ajan İnjesiyonu



Resim 6. Hayvan Hazırlama Bölümü (ısıtmalı masa)



Resim 7. Tıraş



Resim 8. Kuyruğun Vücut Sıcaklığındaki Suda Bekletilmesi



Resim 9. Kuyruk Veninden Damar Yolu Açılması

edilerek kafeslerde anestezide bırakıldı (Resim 5, 6). Yaklaşık 5 dk sonra ratın tamamen anestezide geçtiği görüldü (solunum inhibe edilmeden kas gevşemesi ve anestezide sağlanmıştır).

b. Hayvanların Hazırlanması:

Hayvan hazırlama bölümüne alınarak (Resim 7), anestezide altında orta hat tüylü bölge ratlara uygun makine ile traş edilerek cerrahi alan bati-

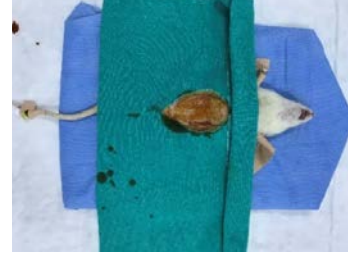
kon ile silindi (Resim 8). Kuyruk vücut sıcaklığında suda yeterli süre bekletildikten sonra kuyruk veninden damar yolu açıldı (Resim 9,10). Ardından 36 °C'de uygun sıcaklıkta operasyon masasına alındı, uygun pozisyon verilerek supin pozisyonda sabitlendi (Resim 11). Ağrılı uyaran ile anestezide kontrolünden sonra, delikli steril örtü ile örtülerek cerrahi alan işleme hazır hale getirildi (Resim 12).



Resim 10. Pozisyon



Resim 11. Ağrnlı Uyarın ile Anestezi Kontrolü



Resim 12. Cerrahi Alan

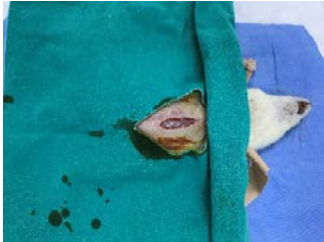
c. Cerrahi İşlem:

Batın median hattın 11-15 numaralı bisturi kullanılarak sırasıyla önce cilt, sonra, kas tabakası ve ardından periton insize edilerek batın açıldı (Resim 14,15). Ardından Usulüne uygun olarak barsaklar ekarte edildikten sonra (36 C'lik izotonik sıvı emdirilmiş ıslak gazlar ile barsaklar nemli ve optimum sıcaklıkta tutuldu), (Resim 16).

d. Travma Modeli Oluşturma:

Hayvan modellerinde manuel aletler kullanılabacağı gibi basınç ayarlı travma yaratabilecek mekanizmalarda kullanılabilmektedir. Mekanik olarak künt travma için damar tutucu bulldog

klemplerden yararlanılabilir. Bulldog klempler çeşitli büyüklükte ve değişik ağız aıklıklarındadır. Ağız açıklıkları belirli derecelerde ayarlanarak travmanın şiddeti azaltılıp artırılabilir. Daha önceden bir tekstür cihazında sıkıştırma kuvvetlerini ağız açıklıklarına göre kalibre ettiğimiz damar klempleri ile künt travmalar uygulandı. Travma modellerinde iki çeşit damar klempini kullanıldı. Daha yüksek kuvvet için büyük düz klemp, daha düşük kuvvet için küçük eğri klemp tercih edildi. Büyük düz klempin 5 mm ve 10 mm'lik, küçük eğri klempin ise 2 mm ve 4 mm'lik olmak üzere iki ayrı ağız açıklığına karşılık gelen kuvvetler Stable Micro Systems© Tekstür Analiz Cihazı (TA.XTplus ve TA.HDplus) ile hesaplandı (Resim 17, 18, 19, 20).



Resim 13. Cilt İnsizyonu



Resim 14. Kas İnsizyonu



Resim 15. Batın İçi Organlara Ulaşılması



Resim 16. Barsakların Optimum Sıcaklıkta Tutulması



Resim 17. Büyük düz klempin 5 mm açıklığı



Resim 18. Büyük düz klempin 10 mm açıklığı



Resim 19. Küçük eğri klempin 4 mm açıklığı



Resim 20. Küçük eğri klempin 2 mm açıklığı

Büyük damar klempinin 5 mm'lik açıklığı ortalama 12,63 newton, 10 mm'lik açıklığı ortalama 38,28 newton uyguladığı bulundu. Küçük damar klempinin ise 2 mm'lik açıklığının ortalama 3,64 newton'a, 4 mm'lik açıklığının da ortalama 5 newtona karşılık geldiği bulundu (Tablo 1). Belirli kalınlıkta intraketler veya cerrahi aletler kullanılarak böbrek, üreter ve mesaneye penetran travmalar kolaylıkla oluşturuldu. Kullanılan kesici delici aletin penetrasyon miktarı travmanın şiddetini belirler.

Tablo 1. Klemplerin Tekstür Cihazında  l len Basıncı ve Standart Sapma Değerleri

Test ID	Firmness
	Newton
	Kuvvet 1
Start Batch damar klip büyük düz 5 mm	
damar klip büyük düz 5mm1	12,69
damar klip büyük düz 5mm 2	12,56
End Batch damar klip büyük düz 5 mm	
Average	12,63
S.D.	0,07
C.V.	0,52
Start Batch damar klip büyük d�z 10 mm	
damar klip büyük d�z 10mm1	37,83
damar klip büyük d�z 10mm 2	38,72
End Batch damar klip büyük d�z 10 mm	
Average	38,28
S.D.	0,45
C.V.	1,16
Start Batch damar klip büyük d�z 15 mm	
damar klip büyük d�z 15mm1	143,34
damar klip büyük d�z 15mm 2	137,25

End Batch damar klip büyük d�z 15 mm	
Average	140,30
S.D.	3,04
C.V.	2,17
Start Batch damar klip k�c�k eğri 2 mm	
damar klipk�c�k eğri 2mm1	3,65
damar klipk�c�k eğri 2mm2	3,64
End Batch damar klip k�c�k eğri 2 mm	
Average	3,64
S.D.	0,01
C.V.	0,20
Start Batch damar klip k�c�k eğri 4 mm	
damar klip k�c�k eğri 4mm1	5,01
damar klip k�c�k eğri 4mm 2	4,98
End Batch damar klip k�c�k eğri 4 mm	
Average	5,00
S.D.	0,01
C.V.	0,29
End of Test Data	

Böbrek Travması

Batın açılıp barsaklar ıslak gaz ile ekarte edildikten sonra böbrekler karşınıza çıkar. Böbrek etrafında yağlı doku yoktur parlak bordo renğinde görünür haldedir. Böbrek evre tutucu ligamentlerden diseke edilerek kolayca serbest hale getirilir (Resim 21, 22). Daha önce bahsedilen damar klemplerinden büyük olan düz klempin 10 mm açıklığı ve küçük eğri damar klempinin 4 mm açıklığı ile künt travmalar uygulandı (1,16) (Resim 23,24). Kesici-delici cerrahi aletler ile keskin (penetran) travmalar uygulandı (Resim 24).



Resim 21. Sol B brege 38,28 Newton Kunt Travma



Resim 22. Sol Böbrek



Resim 23. Sol B brege 5 Newton Kunt Travma



Resim 24. Sol B brege Penetran Travma

Kaynaklar

1. Arataki M. On the postnatal growth of the kidney, with special reference to the number and size of the glomeruli (albino rat). *American Journal of Anatomy*. 1926;42:399-436.
2. Webster SH, Liljegren EJ, Zimmer DJ. Organ; body weight ratios for liver, kidneys and spleen of laboratory animals; albino rat. *Am J Anat*. 1947;81(3):477-513.
3. Kriz W. [The architectonic and functional structure of the rat kidney]. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*. 1967;82(4):495-535.
4. Pinto JA, Brewer DB. Glomerular morphometry. I. Combined light and electron microscope studies in normal rats. *Lab Invest*. 1974;30(5):657-63.
5. Fuller PM, Huelke DF. Kidney vascular supply in the rat, cat and dog. *Acta Anat (Basel)*. 1973;84(4):516-22.
6. Hebel R, Stromberg M. W. *Anatomy of the Laboratory Rat* 1976. 62-4 p.
7. Taggart NE, Rapp JP. The distribution of valves in rat kidney arteries. *Anat Rec*. 1969;165(1):37-9.
8. Moffat DB, Fourman J. The Vascular Pattern of the Rat Kidney. *J Anat*. 1963;97:543-53.
9. Rollhaeuser H, Kriz W, Heinke W. [the Vascular System of the Rat Kidney]. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*. 1964;64:381-403.
10. Kriz W. [New concepts on the structure and function of the renal medulla. (Attempt at the correlation of physiological and morphological findings on the problem of urine concentration)]. *Verh Anat Ges*. 1967;62:347-51.
11. Dieterich HJ. Electron microscopic studies of the innervation of the rat kidney. *Z Anat Entwicklungsgesch*. 1974;145(2):169-86.
12. Meinertz T. [A comparative study of the mammalian kidney, especially in reference to the kidney types, the renal pelvis and the ramifications of the larger vessels]. *Gegenbaurs Morphol Jahrb*. 1969;113(1):78-146.
13. Leeson TS, Leeson CR. The rat ureter. Fine structural changes during its development. *Acta Anat (Basel)*. 1965;62(1):60-79.
14. Stach W, Fanghanel J, Schultz E. [Neurohistological contribution to the afferent innervation of the bladder of laboratory animals]. *Anat Anz*. 1968;123(4):439-70.
15. Stach W, Fanghanel J, Schultz E. [Afferent terminal organs in the urinary bladder wall of various laboratory animals and their topography]. *J Neurovisc Relat*. 1968;31(1):26-75.
16. TA.XTplus, TA.HDplus, TA.XT2i, Exponent, Exponent Lite, Exponent Lite Express, Expression, Stable Micro Systems firmasının ticari markalı ürünleridir. ©2014 Stable Micro Systems.

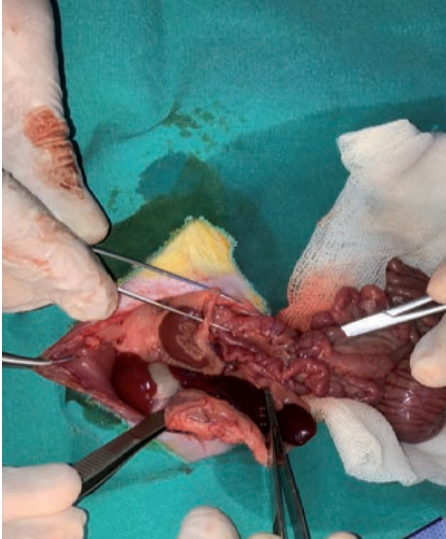
Üreter Travması

38

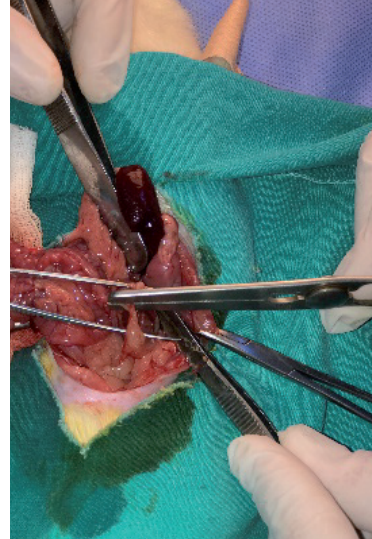
Tevfik AKTOZ

Perirenal yağlı dokunun ince diseksiyonu ile böbrek pedikülü bulundu. Üreter pedikülden ayrıldı. Yine periüreteral yağlı doku dikkatle diseke edilerek üreter vizüalize edildi. Hafif bir obstrüksiyon ile prestenotik dilatasyon oluşturularak, yapının üreter olduğundan emin olundu. Üreter trasesi takip edilerek mesaneye kadar diseke edildi (Resim 1). Üreterlere büyük

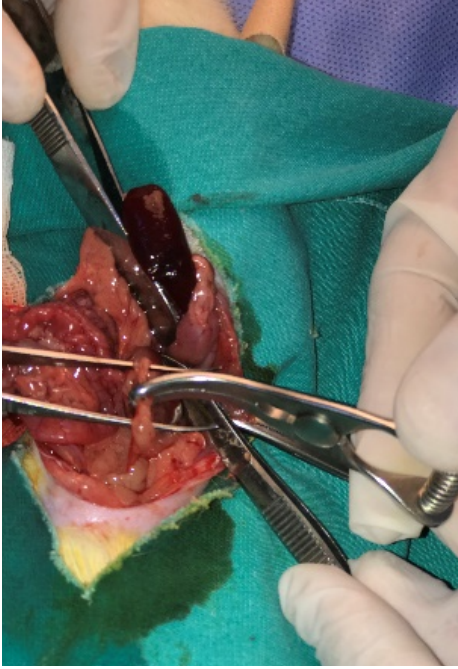
damar klempinin 5 mm ve küçük eğri damar klempinin 2 mm açıklığı ile künt, intraket ile penetran travma uygulandı (1,2), (Resim 2,3,4). Üreterin mevcut anatomik yapısı gereği sadece sıkıştırma değil gerilme ile de travma yaratılabilir. Üreterler sabitlenerek belli noktalardan gram ağırlık takılarak gerilme travmaları oluşturulabilir.



Resim 1. Sol Üreter



Resim 2. Sol Üretere 12,63 Newton Künt Travma



Resim 3. Sol Üretere 3,64 Newton Künt Travma



Resim 4. Sol Üretere İntraket (24 gauge-0.7 mm çapında) ile Penetran Travma

Kaynaklar

1. Leeson TS, Leeson CR. The rat ureter. Fine structural changes during its development. Acta Anat (Basel). 1965;62(1):60-79.

2. TA.XTplus, TA.HDplus, TA.XT2i, Exponent, Exponent Lite, Exponent Lite Express, Expression, Stable Micro Systems firmasının ticari markalı ürünleridir. ©2014 Stable Micro Systems.

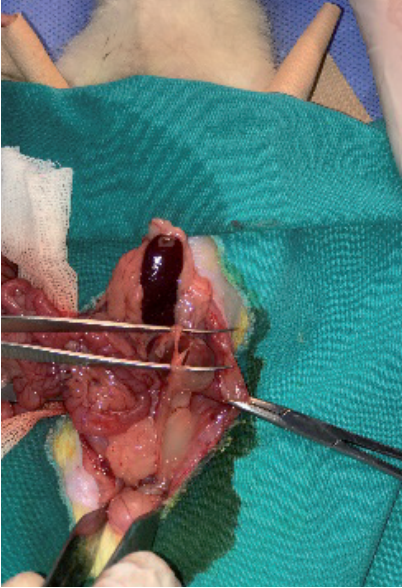
Mesane Travması

39

Ersan ARDA

Xylazin HCl'ün diüretik etkisi ve peroperatif hidrasyon ile batin alt orta hatta mesane dolu olarak görülmektedir (Resim 1). Mesanenin posterolateralinde bulunan seminal veziküllerin boş mesane ile karışabilmekte beraber, mesanenin posterior yüzeyini örtmekteydi. Mesanenin dolu olması seminal veziküllerin

diseksiyonunu kolaylaştırır. Mesane tam olarak görünür hale geldikten sonra büyük düz klempin 1 cm ve küçük eğri damar klempin 4 mm açıklığı ile künt travmalar uygulandı (1,2,3), (Resim 2,3). Yine ince bir cerrahi penset ile penetran travma uygulandı (Resim 4).



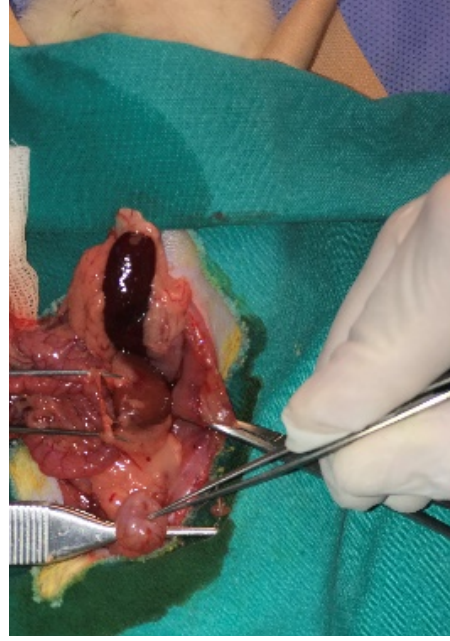
Resim 1. Mesane



Resim 2. Mesaneye 38,28 Newton Künt Travma



Resim 3. Mesaneye 7,84 Newton Künt Travma



Resim 4. Mesaneye Penetran Travma

Kaynaklar

1. Stach W, Fanghanel J, Schultz E. [Neurohistological contribution to the afferent innervation of the bladder of laboratory animals]. *Anat Anz.* 1968;123(4):439-70.
2. Stach W, Fanghanel J, Schultz E. [Afferent terminal organs in the urinary bladder wall of various labo-

ratory animals and their topography]. *J Neurovisc Relat.* 1968;31(1):26-75

3. TA.XTplus, TA.HDplus, TA.XT2i, Exponent, Exponent Lite, Exponent Lite Express, Expression, Stable Micro Systems firmasının ticari markalı ürünleridir. ©2014 Stable Micro Systems.

Üretra Travması

40

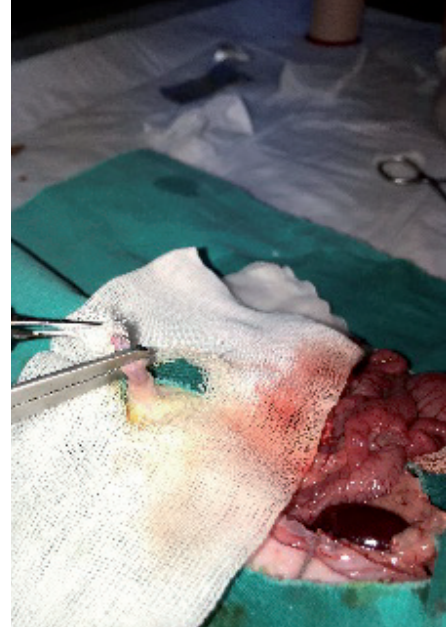
Gökhan ÇEVİK, M. Gürkan ARIKAN, Hakan AKDERE

Penset ile cilt penis köküne kadar çekilerek ince diseksiyon ile penis shaftı görünür hale getirildi (Resim 1). Üretra, corpus cavernosumların orta hattında koyu renk tek bir çizgi halinde görülür. Bu sırada glans penisten künt pensete gazlı bez sarılarak minimum travma ile tutularak sabit-

lendi. Ardından büyük düz klempte 1cm açıklık ile, küçük eğri klempte 4 mm açıklık ile künt travmalar uygulandı (1,2), (Resim 2,3). Ardından 24 gauge sarı intraket ile penetran travma uygulandı (Resim 4).



Resim 1. Penisin görünür hale getirilmesi



Resim 2. Penise 38,28 Newton Künt Travma



Resim 3. Penise (Üretraya) 7,84 Newton Künt Travma



Resim 4. Penise (Üretraya) Penetran Travma

OPERASYONU SONLANDIRMA

Batın Katlarının Kapatılması ve Pansuman.

Travma işlemleri ardından vitalleri stabil olan hayvanın kanama kontrolü ve barsakların uygun mobilizasyonunu sağlayacak şekilde yerleştirildikten sonra periton ve kas 3/0 vicryl ile kontinue suture uygulanır (Resim 5). Ardından cilt 2/0 vicryl ile basit suture edilir (Resim 6). İnsizyon hattı antibiyotik ve lokal anestezi pomadlar sürülerek iyileşmeye bırakılır (Resim 7). Bu işlemlerin tüm aşamalarında cerrahi sterilizasyon prosedürleri geçerlidir ve tamamı aynı cerrah tarafından gerçekleştirilmelidir. Operasyon sırasında uygun dozlarda sıvı desteği uygulanmalıdır (Resim 8). Postoperatif sistemik antibiyotik, analjezik tedavisi uygun dozlarda 3 gün süre ile uygulanır.



Resim 5. Periton ve Kasın Devamlı Sütürasyonu



Resim 6. Cildin Basit Sütürasyonu



Resim 8. Kuyruk Veninden Açılan Damar yolundan Uygun Hidrasyon



Resim 7. Postoperatif Pansuman

Hayvanların uyandırılması ve postoperatif bakım

Hayvan, azami temizlik ve antisepsiyon kurallarına uygun uyandırma kafesinde reanimasyon bölümüne alınarak uygun sıcaklıkta uyanması beklenir (Resim 9). Kas gevşetici ve anesteziik madde dozuna bağlı olarak denekler yaklaşık 45-60 dk'lık bir anestezi süresi sonrasında uyandırılır. Bu süre içinde cerrahi prosedür bitirilip pansuman yapılması gerekir. Tam uyanma yaklaşık 2-3 saatte gerçekleşir. Rat tam uandıktan sonra yem ile beslemeye geçilir. Operasyon öncesi ve sonrası sıvı alımı kesilmez. Postoperatif takiplerde ortam sıcaklığı, genel durum takibi yapılır. Uygun hidrasyon (subkutan 3-5 cc ringer laktat; RL renal fonksiyonlar açısından uygundur), uygun besleme ve canlı ağırlık takibi (%15'ten fazla olmamasına dikkat edilmelidir) yapılmalıdır. İnsizyon hattına antibiyotikli ve

KISIM 8

ÇOCUK ÜROLOJİSİNDE SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Tayfun OKTAR

Augmentasyon

41

Orkunt ÖZKAPTAN

Mesane Augmentasyonu Genel Tanımlama

Böbrek fonksiyonun korunması ve üriner kontinans mesanenin düzgün şekilde çalışmasına bağlıdır. Posterior üretral valv, benign prostat hiperplazisi ve spina bifida/spinal kord yaralanmasına bağlı nörojen mesane gibi konjenital ve edinsel ürolojik anomaliler mesane dokusunu bozulmasına ve bunun sonucunda bozuk kompiyansa ve azalmış kapasiteye neden olabilir (1). Özellikle mesane ekstrofisi ve posterior üretral valv gibi hastalıklarda mesane augmentasyonu mesane kapasitesini artırmak, işeme basıncın ve renal hasarı azaltmak için rutin olarak uygulanmaktadır (2,3).

Augmentasyon sistoplastisi yüksek basınçlı düşük kapasiteli mesaneleri idrar depolama ve boşaltma açısından uygun hale getirmeyi amaçlamaktadır. Böylece renal fonksiyonda bozulma önlenmekte ve kontinans korunmaktadır. Augmentasyon sistoplasti ameliyatının ortaya çıkışından sonra çeşitli çalışmalarda bağırsak segmenti kullanılmıştır ve bu çalışmalarda bağırsakların augmentasyon için göreceli olarak uygun bir doku olduğu gösterilmiştir. Buna rağmen augmentasyon sistoplastisi için

bağırsak segmentinin kullanımı oldukça karmaşık bir işlemdir ve ayrıca metabolik bozukluklar, üriner sistem infeksiyonu, taş formasyonu ve kanser gibi farklı komplikasyonların geliştiği bildirilmiştir (4-7). Mesane augmentasyonu ilk olarak Tizzoni ve Foggi tarafından 1888'de bir tavşan modeli ile tariflenmiştir ve daha sonra Mikulicz 1889'de insanlar üzerinde tariflenmiştir (8,9). Bu tarihten itibaren mesane augmentasyonu için kullanılabilir en uygun doku tartışılmıştır. Günümüzde halen ince bağırsak augmentasyon için altın standart olarak kullanılmaktadır. Mesane augmentasyonu ile ilgili hayvan modelleri genel olarak ince bağırsak augmentasyonunun komplikasyonlarını azaltmayı hedefleyen ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirmeyi amaçlayan çalışmalardan oluşur. Ayrıca farklı otolog, xenolog ve sentetik dokularla yapılan ve aynı şekilde komplikasyonu azaltmayı ve fonksiyonel özelliği arttırmayı hedefleyen çalışmalar da mevcuttur.

Mesane Hayvan Modelleri

Hayvan çalışmalarında otolog, xenolog ve sentetik maddeler mesane rekonstruksiyonu için deneylerde kullanılmıştır, fakat bu maddelerin

birçoğunda deneylerde güvenilebilir sonuçlar elde edilememiştir. İnflamasyon, rejeksiyon, degradasyon ve kötü perfüzyondan dolayı skarlaşma görülen sık sorunlar olarak bildirilmiştir. Bu bölümde literatürde öne çıkan mesane augmentasyon metodolojisini içeren güncel hayvan çalışmaları amaç, materyal metod ve bulgularıyla özetlenecektir.

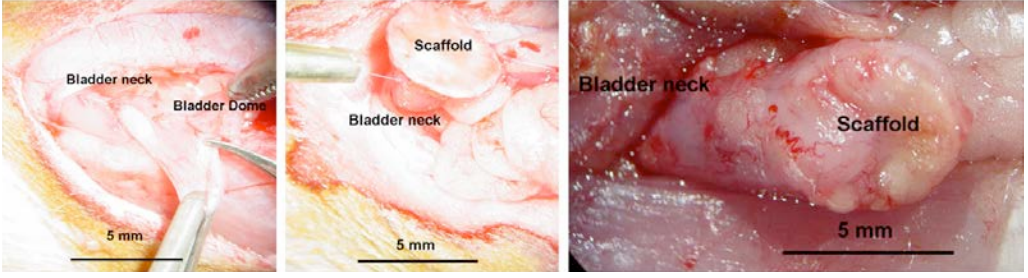
Sentetik Maddeler ile Yapılan Hayvan Modelleri

Teflon, polivinil sünger, jelatin sünger ve reçine kaplı kağıtlar mesane augmentasyonu için deneylerde kullanılmıştır, fakat hepsinde tekrarlayan enfeksiyonlar, taş formasyonu, metaplastik reaksiyonlar, kontraktür ve fibrozis oluşumu tespit edilmiştir (10,11). Bundan dolayı bu tür sorunları olmayan canlı mesane dokusuna uygun kalıp dokuların üretilmesi için ihtiyaç doğmuştur.

Adipoz dokudan türetilmiş kök hücreler parakrin etkisinden ve yüksek differansiasyon özelliği bulunmaktadır. Adipoz dokudan elde edilen kök hücrelerin ürotelyum, osteosit ve liposit gibi farklı matür hücrelere farklılaşabilmektedir (12,13). Wang ve ark. adipoz dokudan türetilmiş kök hücrelerinin bu özelliğinden faydalanarak, mesane onarımı için, silk kalıplar ve adipoz dokudan türetilmiş kök hücreler yardımı ile mesane rejenerasyonunu aktive etmek ve mesane fonksiyonunu düzeltmeyi amaçlamışlardır. Çalışmada otolog miyofibroblast-silk fibrin kalıbını adipoz dokudan türetilmiş kök hücre ile birlikte silk kalıplar üzerine ekmişlerdir. Subtrigonal sistektomi yapılan ratların mesanelerine bu doku augmente edilmiştir. Yazarlar bu çalışmada otolog miyofibroblast-silk fibrin iskeletinin adipoz dokudan türetilmiş kök hücreler yardımı ile büyük mesane defektlerini kapatabileceği sonucuna varmıştır (14). Zhe ve ark. ratlarla yaptıkları bir hayvan modelinde mesane asellüler matris greftlere adipoz doku-

dan türetilmiş kök hücreleri ekerek, 2 hafta süre için peritona içine enkübe etmişler ve bu gruba sadece asellüler matris ile augmentasyon yapılan kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar 14 hafta sonunda immunohistokimyasal ve immunflorasan incelemede augmente dokuda düz kas ile sinir hücreleri oluşumunu ve mesane kapasitesinde artışın kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla olduğunu gözlemlenmiştir (15).

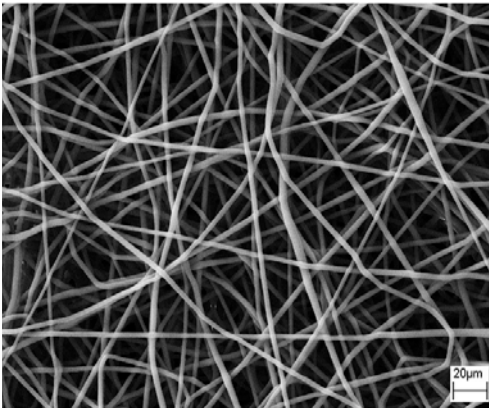
Başka çalışmalarda hayvan modellerinde silk biyomateryallerin augmentasyon sistoplastisindeki başarısı araştırılmıştır. Gomez ve ark. silk kalıplarında farklı örme tekniklerinin ve örme sonrası fabrikasyon parametrelerinin mesane doku rejenerasyonu ve fonksiyonu üzerine etkilerini araştırmıştır. On haftalık takip sonucunda silk materyallerinin mesane augmentasyonundaki başarısı ipeğin farklı örme tekniği ile farklılık gösterdiği gösterilmiştir (16). Başka bir hayvan modelinde elektro-eğirme yöntemi ile yapılan kalıplardan üretilen doku ile ratlara yapılan augmentasyonda 30 gün sonra kalıbın %50-100 arasında ürotelyum ile kaplı olduğu ve mesane duvarı ile devamlılık gösterdiği görülmüştür (Resim 1,2), (17). Tavşanlarla yapılan bir hayvan modelinde mesane augmentasyonu için latex biomembran ile çalışılmıştır. Latex biomembranın bio-uygunluğu, klinik ve histolojik sonuçları araştırılmıştır. 90 günlük takip süresi sonrasında bio-membran üzerinde ürotelyumun devamlılık gösterdiği, kas renerasyonunda artış olduğu ve sonuç olarak latex biomembranın mesane augmentasyonu için biyolojik olarak uygun olduğu sonucuna varılmıştır (18). Bir otolog komposit sistoplasti hayvan modelinde domuzlardan açık biyopsi ile alınan ürotelyum, kültür ortamında çoğaltılarak deepitelize edilmiş ve sonrasında vaskularize seromusküler bağırsak segmentine mesane augmentasyonu sırasında ekilmiş. Otopsi çalışmasında mesane ürotelyumun



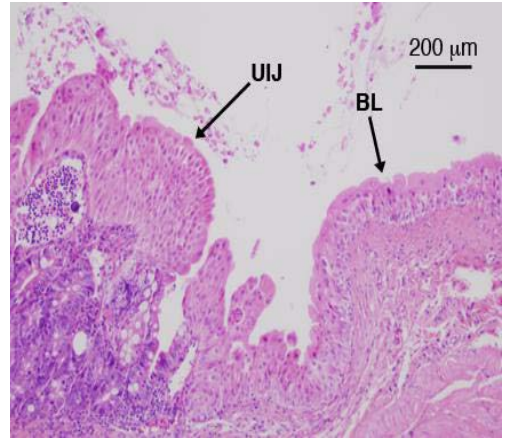
Resim 1. Ratlarda yapılan mesane augmentasyonu resimleri. (a) Mesane sistostomisi; (b) kalıp kontinü emilen sütürler ile anastomozediliyor; (c) kalıp mesaneye kontinü sütür ile anastomozedildikten 3 ay sonra

augmente kısım ile bütünlük gösterdiği, fibrozis, mukus ve taş gelişmediği gösterilmiştir (19). Augmentasyon sonrası ürointestinal bileşkede hüresel değişiklikleri araştırmak için yapılan bir hayvan modelinde, ratlarda ileosistoplasti sonrası 12 haftada Ki-67 aracılığı ile hüresel proliferasyon oranı ve histolojik değişiklikler araştırılmıştır. Histolojik incelemede ürointestinal bileşke ürotelyumunda kalınlaşma görül-müş, displastik değişiklik izlenmemiş ve hü-

resel proliferasyon oranı açısından mesanenin diğer bölümlerinden farklılık saptanmamış (Resim 3), (20). Bir diğer mesane augmentasyonu hayvan modelinde ratlarda ileosistoplasti sırasında ve augmentasyondan 3 ay sonraki metabolik, fonksiyonel ve histolojik değişiklikler araştırılmıştır. İncelemelerde idrar pH'ında ve klor değerlerinde, augmente ratlarda, kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edilmiş. Ayrıca mesanede %28 oranında taş oluşumu gö-



Resim 2. Elektro-eğirilmiş kalıbın mikroskopik görüntüsü.



Resim 3. İleosistoplastili mesanenin H&E ile boyanmış üreterointestinal bileşkedeki bağırsak mukozasını kaplayan ürotelyumun kalınlaşmış görüntüsü sol ok, normal mesane mukozası sağ ok.

rülmüş ve ileal patchde ürotelizasyon oluştuğu tespit edilmiş (21).

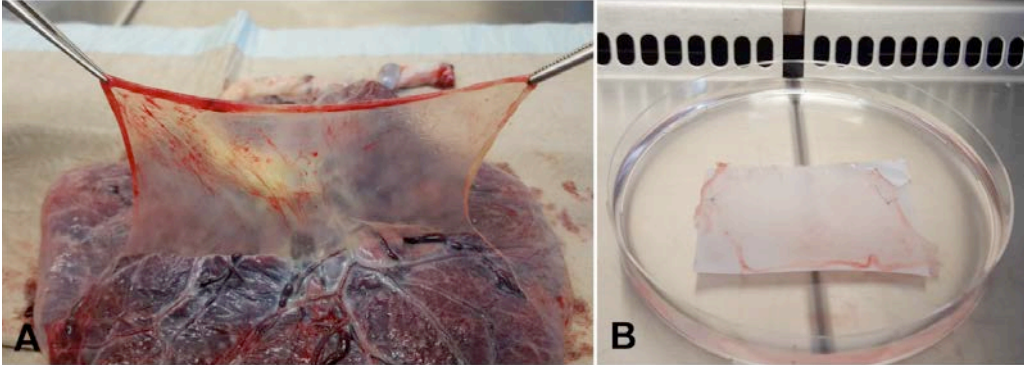
Bir diğer çalışmada eğirilmiş jel silkten oluşan matrislerle yapılan mesane augmentasyonun fonksiyonel başarısı araştırılmış. Araştırmacılar operasyondan sonraki 70. Günde yaptıkları sistometrik çalışmada silk kalıbı ile yapılan mesane augmentasyon grubunda kontrol grubuna göre artmış mesane kapasitesi saptamış, fakat kompliyans bakımından iki grup arasında fark saptamamış (22).

Otolog Dokular ile Yapılan Hayvan Modelleri

Salehipour ve ark. köpekler ile yaptıkları çalışmada, sağ böbreğin kapsülünü mesaneye anastomoze ederek mesane augmentasyonu operasyonu gerçekleştirmiştir. Araştırmacılar işlem öncesi ve işlemden 6 ay sonrası yapılan ürodinamik çalışmalarda mesane kapasitesi ve ortalama mesane içi basınçları ölçmüşler. İşlemden 6 ay sonrasında mesane kapasitesinde anlamlı artış ve ortalama mesane içi basınçta anlamlı derecede azalma olduğunu bildirmişlerdir (23). Farklı bir çalışmada Dapena ve ark. ratlarda yaptıkları çalışmada otolog 0.5 cm'lik uterin flep kullanarak mesane augmentasyonu yapmışlardır. 24 haftalık takip sonunda herhangi bir majör komplikasyona rastlanmamıştır. Araştırmacılar postmortem incelemelerde mesane kompliyansında bir artış ve üst üriner sistemde dilatasyon saptamamışlardır. Uterin flep ile mesane arasında ürotelyumun devamlılık gösterdiği tespit edilmiştir. Araştırmada uterus flebin augmentasyon için elverişli bir doku olduğu sonucuna varılmıştır (24). Bir diğer çalışmada Cserni ve ark. domuzlarda yaptıkları çalışmada farklı ileal detubularizasyon tekniği kullanılarak daha uzun ileal flep elde etmeyi amaçlamışlardır. Paramezenterik detubularizasyon ve sınırlı vasa rekta ligasyonu yaptıkları hayvanlarda, işlemden 4 hafta sonra ortogonal

polarize spektroskopu ile yapılan mikroskopik incelemede ileal flepde yeterli kanlanma ve ayrıca ileal flep uzunluğunda anlamlı artış olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar paramezenterik detubularizasyon ve sınırlı vasa rekta ligasyonu ile yaptıkları augmentasyon tekniğinin kısa mezenteri olan domuzlarda uygulanabilir bir yaklaşım olduğu sonucuna varmışlardır (25). Başka bir otolog doku kullanılan hayvan modelinde domuzlarda mukozektomi sonrası yapılan ileum segmenti ile ileosistoplasti ve ileal flep üzerine omentopeksi işlemi uygulanmıştır. İleal flep üzerindeki kırmızı kan hücrelerinin velositelerini ve perfüzyon oranlarını intravital videomikroskop ile preoperatif ve postoperatif dönemlerde ölçmüşler. Ayrıca 8 hafta sonra imha edilen hayvanların ileal flep çaplarını ölçmüşlerdir. Çalışmanın sonucunda perfüzyon oranlarında ve kırmızı kan hücrelerinin velositelerinde anlamlı derecede azalma görülmüştür. Bunun yanında omentopeksinin ileal fleplerde kontraksiyon gelişimine engel olmadığı görülmüştür (26). Tavşanlarla yapılan başka bir hayvan modelinde otoaugmentasyon işlemi ile birlikte adezyon bariyeri kullanılması ve intravezikal balon yerleştirmenin mesanenin ürodinamik ve histopatolojik sonuçlarına etkisi araştırılmıştır. Çalışmada otoaugmentasyon ile birlikte adezyon bariyeri kullanılması ve balon dilatasyon yapılması mesane kapasite ve kompliyansında anlamlı artış sağladığı görülmüştür. Histolojik incelemede CD31 (microvessel density) ekspresyonu ve fibrosis açısından adezyon bariyeri ve intravezikal balon yerleştirmenin bir etkisi saptanmamıştır (27).

Bir başka hayvan modeli çalışmasında Surgsis ve Integra gibi cilt yanık ve skar iyileşmesinde kullanılan kollajen maddeler otoaugmentasyon sırasında kullanılmıştır. Çalışmada hayvanlar sadece seromusküler enterosistoplasti yapılan grup, seromusküler enterosistoplastiyle birlikte Surgsis veya Integra kullanılan



Resim 4. A. Amniyotik membranın koryondan ayrılarak hazırlanması. **B.** Kuru ve kriyoprezervasyon yapılmış çok katlı amniyotik membran grefti.

grup olarak üçe ayrılmıştır. Otoaugmentasyon sonrasında mesanelerin kompliyans ve elastite ölçümleri yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda İntegra kullanılan grupta surgsis kullanılan ve kollajen kullanılmayan gruba göre daha yüksek mesane kompliyansı ve daha yüksek mesane elastitesi olduğu bulunmuştur (28).

Xenograft Doku ile Yapılan Hayvan Modelleri

Otolog dokular ile yapılan çalışmalar dışında xenolog doku ile yapılan hayvan modeli çalışmaları da mevcuttur. Dimitri Barski ve ark. ratlarda mesane augmentasyonu için human amniyotik membran kullanarak yaptıkları çalışmada ameliyattan sonraki 7, 21 ve 42 günlerinde mesane kapasitesi ve greftlerin degradasyon, inflamatuvar reaksiyon ve düz kas büyümesi gibi faktörler histolojik olarak incelemiştir (Resim 4). Çalışmanın sonucunda grafitin inflamasyon derecesinde belirgin azalma, düz kas hücrelerinde büyüme ve degradasyon oluşmadığı görülmüştür. Araştırmacılar bu çalışmanın sonucunu umut verici olduğunu, daha geniş greftlerle ve daha büyük hayvan çalışmalarıyla desteklenmesinin gerekliliğine vurgu yapmıştır (29).

Kaynaklar

1. Atala A. Tissue engineering for bladder substitution. *World. J. Urol.* 2000;18:364–370.
2. Guys JM, Hery G, Haddad M, Borrienne C. Neurogenic bladder in children: basic principles, new therapeutic trends. *Scand J Surg.* 2011;100:256–263.
3. Biers SM, Venn SN, Greenwell TJ. The past, present and future of augmentation cystoplasty. *BJU Int.* 2012;109:1280–1293.
4. Greenwell TJ, Venn SN, Mundy AR. Augmentation cystoplasty. *BJU Int.* 2001;88:511–525.
5. Greenwell TJ, Woodhams SD, Smalley T, Mundy AR. Effect of antibiotics on enterocystoplasty urinary nitrosamine levels. *Urology.* 2001;58:660–664.
6. Nurse DE, McInerney PD, Thomas PJ, Mundy AR. Stones in enterocystoplasties. *Br J Urol.* 1996;77:684–687.
7. Higuchi TT, Granberg CF, Fox JA, Husmann DA. Augmentation cystoplasty and risk of neoplasia: fact, fiction and controversy. *J Urol.* 2010;84:2492–2496.
8. Tizzoni G, Foggi A. Die wiederherstellung der harnblase. *Zentralbl F Chir.* 1888;15:921–923.
9. Von Mikulicz J. Zur operation der angeborenen blaß en-Spalte. *Zentralbl Chir.* 1889;20:641–643.
10. Elbahnasy AM, Shalhav A, Hoenig DM, Figenshaw R, Clayman RV. Bladder wall substitution with synthetic and non-intestinal organic materials. *J Urol.* 1998;159:628–637.
11. Barrett DM, Donovan MG. Prosthetic bladder augmentation and replacement. *Semin Urol.* 1984;2:167–175.
12. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001; 7:211–28.

13. Zhang M, Peng Y, Zhou Z, Zhou J, Wang Z, Lu M. Differentiation of human adipose-derived stem cells co-cultured with urothelium cell line toward a urothelium-like phenotype in a nude murine. *Urology*. 2013;81:465.
14. Wang Q, Xiao DD, Yan H, Zhao Y, Fu S, Zhou J, Wang Z, Zhou Z, Zhang M, Lu MJ. The morphological regeneration and functional restoration of bladder defects by a novel scaffold and adipose-derived stem cells in a rat augmentation model. *Stem Cell Res Ther*. 2017 Jun 24;8(1):149.
15. Zhe Z, Jun D, Yang Z, Mingxi X, Ke Z, Ming Z, Zhong W, Mujun L. Bladder Acellular Matrix Grafts Seeded with Adipose derived Stem Cells and Incubated Intraperitoneally Promote the Regeneration of Bladder Smooth Muscle and Nerve in a Rat Model of Bladder Augmentation. *Stem Cells Dev*. 2016 Mar 1;25(5):405-14.
16. Pablo Gomez, Eun Seok Gil, Michael L. Lovett, Danielle N. Rockwood, Dolores Di Vizio, David L. Kaplan, Rosalyn M. Adam, ^{Carlos R. Estrada, Jr.}, and Joshua R. Mauney. The effect of manipulation of silk scaffold fabrication parameters on matrix performance in a murine model of bladder augmentation. *Biomaterials*. 2011 Oct; 32(30): 7562–7570.
17. Costantino Del Gaudio, Alberto Vianello, Guido Bellezza, Vincenza Maulà, Angelo Sidoni, Alessandro Zucchi, Alessandra Bianco, Massimo Porena. Biomedical Materials Evaluation of electrospun bioresorbable scaffolds for tissue-engineered urinary bladder augmentation. *Biomedical Materials*, Volume 8, Number 4.
18. Domingos AL, Tucci S Jr, Garcia SB, de Bessa J Jr, Cologna AJ, Martins AC. Use of a latex biomembrane for bladder augmentation in a rabbit model: biocompatibility, clinical and histological outcomes. *Int Braz J Urol*. 2009 Mar-Apr;35(2):217-24; author reply 225-6.
19. Turner A, Subramanian R, Thomas DF, Hinley J, Abbas SK, Stahlschmidt J, Southgate J. *Eur Urol*. 2011 Mar;59(3):447-54. Transplantation of autologous differentiated urothelium in an experimental model of composite cystoplasty.
20. Braasch MR, Griffith TS, Cooper CS, Austin JC. Description of a novel murine model for ileocystoplasty and early histologic changes. *ScientificWorldJournal*. 2011 Jul 7;11:1325-31.
21. Arena S, Fazzari C, Minutoli L, Borruto FA, Russo T, Arena F. Early metabolic, functional and histological changes in a rat ileal-augmented bladder model. *Pediatr Med Chir*. 2011 Sep-Dec;33(5-6):241-6.
22. Mauney JR, Cannon GM, Lovett ML, Gong EM, Di Vizio D, Gomez P 3rd, Kaplan DL, Adam RM, Estrada CR Jr. Evaluation of gel spun silk based biomaterials in a murine model of bladder augmentation. *Biomaterials*. 2011 Jan;32(3):808-18.
23. Salehipour M, Mohammadian R, Malekhamadi A, Hosseinzadeh M, Yadollahi M, Natami M, Mohammadian M. Renal capsule for augmentation cystoplasty in canine model: a favorable biomaterial ? *Int Braz J Urol*. 2016 Mar-Apr;42(2):383-8.
24. Dapena L, Dapena I, Regadera J, Silva-Mato A, González-Peramato P. Bladder autoaugmentation with protective autologous uterine flap. Experimental study in the rat. *Int J Surg*. 2013;11(3):270-4.
25. Cserni T, Cervellione RM, Hajnal D, Varga G, Kubiak R, Rakoczy G, Kaszaki J, Boros M, Goyal A, Dickson A. Alternative ileal flap for bladder augmentation if mesentery is short. *J Pediatr Urol*. 2015 Apr;11(2):64.e1-6.
26. Cervellione RM, Hajnal D, Varga G, Rakoczy G, Kaszaki J, Keene D, Goyal A, Dickson A, Cserni T. Mucosectomy impairs ileal microcirculation and results in flap contraction after experimental ileocystoplasty. *J Pediatr Urol*. 2017 Feb;13(1):81.e1-81.e5.
27. Okutucu TM, Telli O, Ozturk E, Suer E, Hamidi N, Burgu B. Can the effect of adhesion barriers and/or intravesical balloon inflation improve bladder autoaugmentation outcomes in a rabbit model ? *J Pediatr Urol*. 2015 Apr;11(2):86.e1-6.
28. Kumar GP, Barker A, Ahmed S, Gerath J, Orford J. Urinary bladder auto augmentation using INTEGRA® and SURGISIS®: an experimental model. *Pediatric Surgery International* 2010, Volume 26, Issue 3, pp 275–280.
29. Barski D, Gerullis H, Ecke T, Yang J, Varga G, Boros M, Pintelon I, Timmermans JP, Otto T. Reconstruction with Human Amniotic Membrane in a Xenograft Rat Model: A Preclinical Study. *Int J Med Sci*. 2017; 14(4): 310–318.

Üreteral Obstrüksiyon 42

Alkan ÇUBUK

Obstrüktif Üropati Tanımlama

Obstrüktif üropati böbreklerde oluşan idrarın akışının üriner sistemin herhangi bir yerinde duraksaması ile oluşan intrarenal basınç artışı ve buna bağlı böbrek kanlanmasında azalma sonucu renal fonksiyon kaybı olarak tanımlanmaktadır (1). Renal hasarın derecesi obstrüksiyona neden olan duruma, obstrüksiyonun süresine ve derecesine, bazal böbrek fonksiyonlarına ve hastanın genel sağlık durumuna bağlıdır. Obstrüktif üropatiler kronik böbrek yetmezliği sebeplerinin %10'luk kısmını oluşturmaktadır çocuklarda ise en sık renal yetmezlik sebebidir (2). Otopsi serilerinde hidronefroz saptanma oranları %3-5 arasında değişmektedir. Hidronefroz ve obstrüktif üropatiye her iki cinsiyette bütün yaş gruplarında rastlanabilse de <1 yaş erkek çocukları, 20-60 yaş kadın hastalar ve >60 yaş erkek hastalar en sık tanı alanlardır (3). Klinikte özellikle akut üriner obstrüksiyonun en sık nedeni olan üreteral patolojilerdir. Klinik prezentasyon obstrüksiyonun yeri, süresi, komplet/inkomplet oluşu ve eşlik eden idrar yolları enfeksiyonu varlığına göre değişmekle beraber en sık görülen semptomlar ağrı, bulantı kusma, alt üri-

ner sistem semptomları ve idrar miktarında azalmadır.

Obstrüktif üropati tedavisinde ana basamak obstrüksiyonun ortadan kaldırılmasıdır. Bunun mümkün olmadığı durumlarda geçici ya da kalıcı üriner diversiyonlara (perkütan nefrostomi, üreteral DJ stent, sistostomi, üretral kateeter, üreterokutenostomi) başvurulur. Hastanın sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, üriner staza bağlı gelişebilecek idrar yolu enfeksiyonu tedavisi de muhakkak sağlanmalıdır.

Üreteral Obstrüksiyon

Üreteral obstrüksiyon böbrekte obstrüksiyonun derecesine, süresine ve eşlik eden enfeksiyon olup olmamasına göre bağlı olarak değişen yapısal (makroskopik ve mikroskopik) ve fonksiyonel değişikliklere neden olur. Proksimal yerleşimli obstrüksiyonlarda fizik kuralları gereği böbreğe yansıyan basınç daha fazla olacağı için hasarlanma daha şiddetli olacaktır (4). Artmış intrarenal basıncın etkisi ile önce kalikslerde dilatasyon gözlenir. Daha sonra iskemik atrofi oluşur ve papillalar önce düzleşir, sonra konveksleşir. Obstrüksiyonun devamı halinde renal parankimal hasar oluşmaya başlar (5).

Mikroskopik olarak; artan intrarenal basınç intersitisyel inflamasyona neden olur. Zamanla tübüler hücreleri literatürde ifade edilen çok sayıda yolak sonrası apoptoz ve nekroz sürecine girmektedir. Bu süreç kapiller yoğunluğunda azalmaya, ekstrasellüler matriks miktarında artışa neden olarak progresif fibrozise neden olur (6). Oluşan serbest oksijen radikalleri renal parankim hücrelerinde lipid, protein ve DNA yıkımına neden olurlar. Tam üreteral obstrüksiyonda bütün bu süreç ortalama üç ay içinde gerçekleşmektedir (7).

Üreteral Obstrüksiyon Hayvan Modelleri

Üreter obstrüksiyonunun böbrek üzerine olan etkilerinin anlaşılmasında hayvan deneylerinin önemli katkıları olmuştur. Bu çalışmalarda amaçlanan insanlarda üreteral obstrüksiyona neden olan durumlar edilmiştir. Bu nedenle komplet obstrüksiyon ve parsiyel obstrüksiyon modelleri tanımlanmıştır. Akut obstrüksiyonlar (üreter taşı) çoğunlukla komplet obstrüksiyon modelleriyle çalışılırken kronik ve fonksiyonel obstrüksiyonlar (üretropelvik bileşke darlığı) parsiyel obstrüksiyon modelleriyle çalışılmıştır. Çalışmalarda değişken obstrüksiyon süreleri kullanılmıştır. Ayrıca konjenital üreter patolojilerini taklit edebilmek böbrek gelişimi doğumdan sonra da kısa bir süre devam eden hayvanlarda (tavşan, koyun, domuz, civciv) fetal üreteral obstrüksiyon modelleri tanımlanmıştır.

Hayvan çalışmalarında önemli bir amaç da üreteral obstrüksiyonun giderilmesi sonrası renal fonksiyonda kaybının geri dönüşünü incelemek olmuştur. Yine obstrüksiyonun ortadan kalkmasıyla meydana gelen iskemi-reperfüzyon zararı da hayvan çalışmalarının konularından birisi olmuştur.

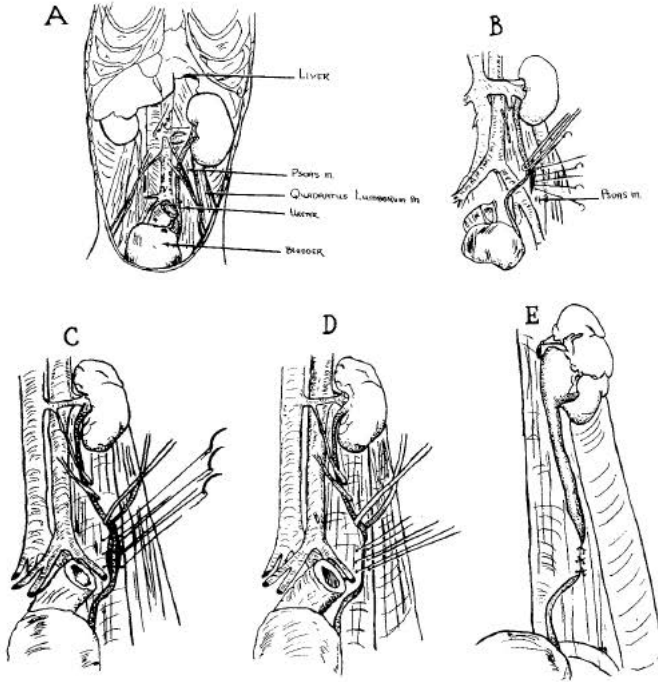
Örnek Modeller

DeneySEL üreteral obstrüksiyon ilk defa 1898 yılında Alman bilim adamı Linderman tarafından tanımlanmıştır (8). Linderman köpeklerde üreterin komplet ligasyonu ile böbrekte gerçekleşen morfolojik değişiklikleri tanımlamıştır. O günden bu yana yayınlanan çalışmalarda deney hayvanları etik prensiplerine uyum, preoperatif dönemde hayvanların metabolik hazırlıklarının standardize edilmesi, minimal invaziv modeller geliştirme ve daha çok moleküler sonuçları irdeleme alanlarında büyük ilerlemeler katedilmiştir.

Çalışmalarda transabdominal ya da transüretral yolla oluşturulan ve değişken süreler sonunda ortadan kaldırılan komplet ya da parsiyel üreteral obstrüksiyonun neden olduğu renal yapısal değişiklikler, biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikler ve immünolojik yanıtlar incelenmiştir.

Bu bölümde literatürde öne çıkan üreteral obstrüksiyon metodolojisi içeren hayvan çalışmaları amaç, materyal metod bulgularıyla özetlenecektir. Sollman ve ark. 19. Yüzyılın başında beş köpek üzerinde yaptıkları çalışmalarında, tek taraflı komplet üreter ligasyonunun her iki böbrekte de makroskopik etkilere neden olduğunu belirtmişlerdir. Üreteri açık operasyonla ortaya koyup renal pelvisten 5 cm uzaklıkta bağlayarak obstrüksiyon modeli oluşturmuşlardır (9). Ana sonlanım noktaları hidronefroz ve böbrekte izlenen makroskoik değişiklikler olmuştur.

İlk parsiyel üreteral obstrüksiyon modeli 1962 yılında Ulm ve ark. tarafından tanımlanmıştır (10). Yedi köpek üzerinde parsiyel üreteral obstrüksiyon modellerinin sonuçlarını intravenöz pyelografi (IVP) ile değerlendirmişlerdir. Preop 12 saat açlıktan sonra intravenöz anesteziyle köpekler uyutulmuş ve suprapubik orta hat insizyonu sonrasında periton mobilizasyonu ile köpeklerin sol üreterlerine ulaşılmıştır. Psoas majör kası boyunca bir tünel oluşturulmuştur ve orta üreter segmenti, psoas majör kasında oluş-



Resim 1. Parsiyel üreteral obstrüksiyon modeli

turulan longitudinal tünelin içine yerleştirilmiştir. Psoas majör kasında geçen sütürlerle üreterde parsiyel obstrüksiyon oluşturulmuştur (resim 1). Dört hafta sonra IVP ile hidronefroz gözlenmiştir. Çalışmaya devam edebilen 4 köpek yine uygun preop hazırlık sonrası uyutulmuş ve eski insizyon yerinden girilip sol üreterdeki sütürler kesilerek obstrüksiyon ortadan kaldırılmıştır. Dört hafta sonra tekrar IVP çekilmiş ve hidronefrozun gerediği gösterilmiştir (Resim 1).

Kronik inkomplet üreteral obstrüksiyon modellerinden 'Selofane sclerosis' modeli ilk olarak 1949 yılında Duncan ve ark tarafından tanımlanmıştır (11). Özetle bu teknik; üreteri diseke edip ortaya koyma, steril selofan materyal ile üreteri çepeçevre sarma ve selofan materyalin migrasyonunu engellemek için adipöz dokuya fikse etme aşamalarını içerir. Groeneveld bu modeli köpeklerde kullanmıştır, üreteral obstrüksiyon elde edilen deneklere dismembered ve non-dismembered pyeloplasti yapmış sonrasında teknikleri basınç profilleri, kontrastlı

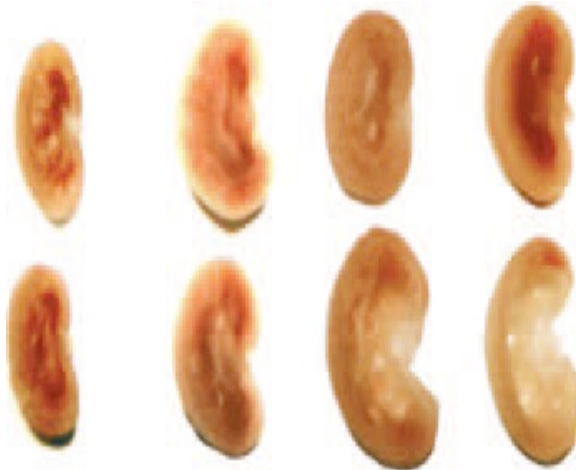
görüntülemeye morfoloji ve doku örneklerinde fibrozis parametreleriyle karşılaştırmıştır (12). Bowen ve ark. bu modeli 12-16 haftalık tavşanlarda kullanarak obstrüksiyona sekonder gelişen hidronefrozla diüretikli renogram bulguları arasındaki ilişki incelemiştir. Tavşanları genel anestezi altında supin pozisyonda explore edip sol üreterin etrafına 2*1*10 cm steril selofanı dolayıp metal klipsle ve sütürle selofanı adipöz dokuya tespit etmişlerdir. Haftalık renogram takiplerinde obstrükte patern tespit edilen tavşanlar sakrifiye edilerek böbrekleri mikroskopik olarak incelemeye alınmıştır (13).

Sıçanlar ve fareler deneysel üreteral obstrüksiyon modelleri için en sık kullanılan hayvanlar olmuştur. Dişilerde reproduktif organların üreterlerle olan yakın teması dolayısıyla erkek hayvanlar tercih edilmektedir. Deneylerde Sprague-Dawley ve Wistar cinsi erkek sıçanlar, 8-12 haftalık ve 200-300 gram ağırlığında tercih edilmişlerdir. C57BL/6 ve ICR fareler ise 6-8 haftalık ve 18-25 gram ağırlığında tercih

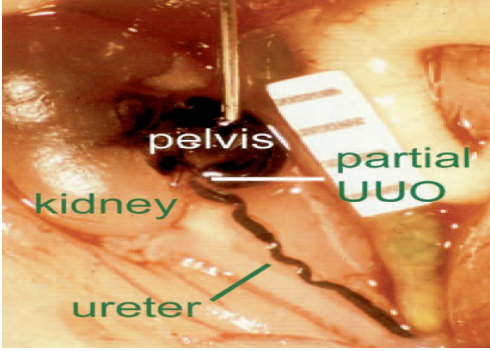
edilmişlerdir. Preoperatif dönemde fizyolojik beslenme ve ışık koşullarına maruz bırakılan hayvanlar Isoflurane, Sevofrane, Thiopental (100 mg/kg), Sodium pentobarbital (1.5 mg/kg), Ketamine/xylazine (100/10 mg/kg), Pentobarbital (75 mg/kg), 3.5%Chloral hydrate (350 mg/kg) ya da Ketamine/xylazine hydrochloride (80/8 mg/kg) ile uyutulmuşlardır (14). İzoflurane ve oksijen kombinasyonunun perioperatif mortaliteyi en az arttıran kombinasyon olduğu ifade edilmektedir (15). Paramedian ve orta hat insizyonu ile batına girilmiş ve büyük çoğunlukla sol üreter çalışma için tercih edilmiştir. Sol üreter 3:0, 4:0 ya da 5:0 emilemeyen sütürlere bağlanarak obstrüksiyon elde edilmiştir. Bazı yazarlar birden fazla noktadan bağlamayı ve/veya bağlanan segmentler arasında üreteral eksizyon yapmayı tercih etmişlerdir (16). Komplet üreteral obstrüksiyonunu ortadan kaldırılması için re-laparotomi ile üretere ulaşılır ve sütürlerin proksimalinden üreter tam kat kesilip idrar drenajı sağlanır (17).

Thornhille ve ark. sıçanlarda değişken parsiyel üreteral obstrüksiyon modelini tanımlamışlardır (4). Bu modelle insanlarda antenatal hidronefroza neden olan UPJ darlığı

ğının renal gelişim üzerine olan etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. 24-48 saatlik ratlar izoflurane+oksijenle uyutulmuş, nefrotoksisite endişesiyle antibiyotik kullanılmamıştır. Paramedian insizyonla sol üretere ulaşılmıştır. Üç mm boyunda ve çapları 0.25, 0.30, 0.35, 0.60 ve 0.95 mm olan kılavuz teller üreter duvarına bitleştirilip tel ve üreter beraberce 8:0 prolenle bağlanmıştır. Dügümler teli ve üreteri beraberce tutacak ancak lümeni akut olarak kapatmayacak şekilde aynı cerrah tarafından eşit gerilimle bağlanır. Takiben teller dışarı alınır ve üreterde parsiyel obstrüksiyon oluşturulmuş olur. Tellerin çapına göre parsiyel obstrüksiyon derecelendirilir; 0,25-0,30 şiddetli; 0,35 orta; 0,60-0,95 mm hafif tıkanıklık. Çalışmaya üretere sütür konmayan yalnızca diseksiyon yapılan sıçanlar sham grubu olarak ve üreterleri tamamen bağlanan sıçanlar ise tam obstrüksiyon grubu olarak dahil edilmişlerdir. Üreter çapında 70%-75% azalmanın neonatal böbrek gelişiminde ve glomerül sayısında %50-60'lara varan gerilemeye neden olduğunu ayrıca renal pelvis çap artışı oluncaya kadar tübeler atrofi ve interstisyel fibrozis sürecinin başladığını sonuçlarında belirtmişlerdir.



Resim 2. Sham, 0.35mm, 0.30 mm ve 0.25 mm ile daraltılmış böbreklerin karşı böbrekle kıyaslamalı görüntüleri



Resim 3. Thornhille ve ark. parsiyel obstrüksiyon modeli.

Ito ve arkadaşları 300-400 gram erişkin sıçanlarda yukarıda tanımlanan modellere uygun olarak akut komplet üreter obstrüksiyonu oluşturmuş ve üç gün sonra re-laparotomi ile ureteronostostomi yapmışlardır. Erişkinlerde gelişen akut üreter obstrüksiyonunun cerrahi onarımla ortadan kaldırılmasından sonra renal fonksiyonun iyileşmesine rağmen renal fibrozisin 14. ve 28. günlerde hala devam ettiği sonucuna varmışlardır (18).

Moon ve ark. üreter darlıklarının endoskopik insizyonu sonrasında kullanılan 7 ve 14 F üreter kataterlerinin etkinliklerini bir hayvan çalışmasıyla değerlendirmişlerdir (19). Çalışmalarında preop stresten uzak tutulmuş ve uygun koşullarda beslenmesi sağlanmış 20-30 kg. ağırlığında Yukatan mini-domuzları kullanılmıştır. Domuzlara intramuskular atropine sulfate (0.02 mg/kg), acepromazine maleate (0.25 mg/kg) ve ketamine hydrochloride (5 mg/kg) ile anestezi induksiyonu sağlanıp isoflurane (%1.5-2) inhalasyonuyla idame edilmiştir. Lito-tomi pozisyonunda üretere endoskopik olarak girilmiş ve basket katater aracılığıyla elektrotermal hasar sağlanmış ve parsiyel üreter obstrüksiyonu oluşturulmuştur. 6 hafta sonra endoskopik striktür insizyonu yapılan domuzlara üreteral DJ katateri yerleştirilmiştir (7F ve 14F üreter katateri grubuna 1:1 randomize edilmiş-

tir). 1 hafta sonra DJ kataterler alınmış ve üç hafta sonra da hayvanlara ötenazi uygulanarak üreter boylu boyunca eksize edilip incelenmiştir. 14F DJ stent kullanmanın bir üstünlüğü gösterilmemiştir.

Miyamma ve ark. ratlarda tek taraflı komplet üreter obstrüksiyonu sonrası gelişen fibrozisin TGF- β antikoru uygulaması ile olan ilişkisini bir sıçan modelinde incelemişlerdir. Spragur-Dawleys cinsi sıçanlarla standart bir model oluşturup sıçanlara değişken dozlarda TGF- β antikoru uygulayıp 14. günde ötenazi sonrası böbreklerde fibrozis ve apoptozis parametreleri çalışılmıştır. Fibrozis dokuda hydroxyproline ve mRNA (kollagen ve fibronektin) düzeyiyle incelenirken apoptozis ise deoxytransferase-uridine triphosphate düzeyiyle incelenmiştir. TGF- β uygulamasının üreteral obstrüksiyona sekonder gelişen fibrozis ve apoptozisi kontrol edebileceğine ilişkin umut vadeden sonuçlar bildirmişlerdir (20).

Diaz ve ark. üreteropelvik bileşke darlığı için tanımlanan laparoskopik hayvan modellerini incelemişlerdir (21). Toplamda 36 adet beyaz domuzda laparoskopik transperitoneal /retroperitoneal (LAPR, LAPT) ve tek port laparoskopik transperitoneal /retroperitoneal (LSPR, LSPT) yaklaşımla hem-O-lock klips kullanarak UPB darlığı oluşturulmuştur. On gün sonra bütün domuzlar dokuz iyi yetişmiş ürolog tarafından laparoskopik Anderson-Hynes pyeloplasti ameliyatına alınmıştır. Çalışma sonucunda ürologların hepsi laparoskopik UPB darlığı hayvan modelini uygulanabilir olarak değerlendirmişlerdir. Model oluşturma aşamasında en uzun süre LSPR grubunda hesaplanmıştır.

Üreteral obstrüksiyonun ortadan kalkması sonrası gelişen iskemi reperfüzyon hasarına (İRPH) ilişkin bir çalışma Ağartan ve ark. tarafından yayınlanmıştır. Sıçanlarda 24 saatlik obstrüksiyon sonrası İRPH tespiti için tiyobarbitürik asid ile reaksiyona giren madde (TBARS) ve okside olmamış proteinlerin sülfidril (RSH)

gruplarının doku düzeyleri bakılmıştır. Ayrıca ilgili renal vende BUN ve kreatinin düzeylerine bakarak böbrek işlevindeki etkiler izlenmiştir. Yazarlar obstrüksiyonun giderilmesinin İRPH yol açmadığını belirtmişlerdir. Literatürde benzeri metodolojiyle farklı sonuçlar elde eden çalışmalar da mevcuttur (23).

SONUÇ

Deney hayvanları çalışmaları üreteral obstrüksiyonun morfolojik, fonksiyonel ve histolojik sonuçları anlaşılincaya ve tedavi planlamaları oluşturuluncaya kadar pratiğimizin bir parçası olacaktır. Bugün için obstrüksiyon oluşturma ile ilgili yeterli bilgi birikimine literatürde ulaşmak mümkündür. Gelecekte çalışmalar daha minimal invaziv metodlar tanımlamak ve özellikle obstrüksiyonun yol açtığı fibrozisin ve parankim kaybının önüne geçebilmek amaçlı olacaktır.

Kaynaklar

1. Klahr S, Harris K, Purkerson ML. Effects of obstruction on renal functions. *Pediatr Nephrol* 1988; 2: 34-42
2. Yap E1, Salifu M, Ahmad T, Sanusi A, Joseph A, Mallappallil M. Atypical Causes of Urinary Tract Obstruction Case Rep *Nephrol*. 2019; 27:4903693.
3. Chu DI, Abraham AG, Tasian GE, Denburg MR, Ross ME, Zderic SA, Furth SL. J Urologic care and progression to end-stage kidney disease: a Chronic Kidney Disease in Children (CKiD) nested case-control study. *Pediatr Urol*. 2019 May;15(3):266.e1-266.e7.
4. Thornhill BA, Burt LE, Chen C, et al. Variable chronic partial ureteral obstruction in the neonatal rat: a new model of ureteropelvic junction obstruction. *Kidney Int* 2005;67:42-52.
5. Cachat FO, Lange-Sperandio B, Chang AY, et al. Ureteral obstruction in neonatal mice elicits segment-specific tubular cell responses leading to nephron loss. *Kidney Int* 2003;63:564-575.
6. Manucha W. Biochemical-molecular markers in unilateral ureteral obstruction. *Biocell* 2007; 31: 1-12
7. Zhang, J.; Xing, Z.-Y.; Zha, T.; Tian, X.-J.; Du, Y.-N.; Chen, J.; Xing, W. Longitudinal assessment of rabbit renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction using two-dimensional susceptibility weighted imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* 2018, 47, 1572–1577.
8. Lindemann, Zeitsch. f. klin. Med., 1898, xxxiv, 299
9. Sollmann T, Williams WW, Briggs CE EXPERIMENTAL ATRESIA OF THE URETER. *J Exp Med*. 1907 Jan 23;9(1):71-81.
10. ULM AH, MILLER F. An operation to produce experimental reversible hydronephrosis in dogs. *J Urol*. 1962 Sep;88:337-41.
11. Duncan GW. Goodwin WE. Experimental urinary tract obstruction produced by cellophane sclerosis. *Surgery* 1949;25,113-6
12. Groeneveld AE Experimental studies in pelviureteric obstruction and hydronephrosis. *Ann Acad Med Singapore*. 1984 Oct;13(4):571-84.
13. J. Bowen, H. Sharma, D.C.S. Goughs. Chronic hydronephrosis: renographic drainage patterns and renal morphology in an animal model *British Journal of Urology* (1994).74,26-30
14. Elena Martínez-Klimova, Omar Emiliano Aparicio-Trejo, Edilia Tapia, José Pedraza-Chaverri Unilateral Ureteral Obstruction as a Model to Investigate Fibrosis-Attenuating Treatments *Biomolecules* 2019, 9(4), 141;56
15. Chevalier, R.L.; Forbes, M.S.; Thornhill, B.A. Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy. *Kidney Int*. 2009
16. Kuwabara, N.; Tamada, S.; Iwai, T.; Teramoto, K.; Kaneda, N.; Yukimura, T.; Nakatani, T.; Miura, K. Attenuation of renal fibrosis by curcumin in rat obstructive nephropathy. *Urology* 2006, 67, 440–4
17. Young MR, Young IS, Johnston SR, Rowlands BJ. Lipid peroxidation assessment of free radical production following release of obstructive uropathy. *J Urol*.1996 156(5):1828-32.
18. Ito K, Chen J, El Chaar M, Stern JM, Seshan SV, Khodadadian JJ, Renal damage progresses despite improvement of renal function after relief of unilateral ureteral obstruction in adult rats. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004 Dec;287(6):F1283-93.
19. Moon YT, Kerbl K, Pearle MS, Gardner SM, McDougall EM, Clayman RV. Evaluation of optimal stent size after endourologic incision of ureteral strictures *J Endourol*. 1995 Feb;9(1):15-22.
20. Miyajima A, Chen J, Lawrence C, Ledbetter S, Soslow RA, Stern J, Antibody to transforming growth factor-beta ameliorates tubular apoptosis in unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int*. 2000 Dec;58(6):2301-13.
21. Díaz-Güemes Martín-Portugués I, Hernández-Hurtado L, Usón-Casaús J, Sánchez-Hurtado MA, Sánchez-Margallo FM Ureteral obstruction swine model through laparoscopy and single port for training on laparoscopic pyeloplasty. *Int J Med Sci*. 2013 Jun 21;10(8):1047-52.
22. C. Aldırmaz Agartan ve ark., Deneysel üreter obstrüksiyonunun açılması sonrası böbrekte geliflen iskemi-reperfüzyon hasarının incelenmesi. *Pediatric Cerrahi Dergisi* 15:70-73, 2001
23. Lin S, Juriasingani S, Sener A. Is hydrogen sulfide a potential novel therapy to prevent renal damage during ureteral obstruction? *Nitric Oxide*. 2018 Feb 28;73:15-21.

Hipospadias

43

Orhan ZİYLAN, Ünsal ÖZKUVANCI

Hipospadias, ikinci en sık görülen doğumsal anomalidir. Yaklaşık 1: 200–1: 300 erkek doğumda bir görülür. Hipospadias insidansı son 30 yılda iki katına çıkmıştır. Hipospadiasın cerrahi tedavisinde fonksiyonel ve kozmetik mükemmellik hedeflenmektedir. Amaçlanan ağır formlarda miksiyon ve cinsel fonksiyonların fizyolojik sınırlarda sürdürülmesi, daha hafif formlarda ise olası psikolojik etkilenmenin en aza indirilebilmesidir.

Hipospadiyasın etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Bununla birlikte, önde gelen hipotez, genetik duyarlılık yanında çevresel olarak endokrin bozuculara maruz kalma sonucu bu anomalinin geliştiği yönündedir. Kompleks ve multifaktöriyel etiyolojide androjenler yanında östrojen reseptör gen mutasyonlarının da (ERβ, ATF3, SRD5A2) yeri vardır. İnsan ve hayvan çalışmalarından edinilen bilgilere göre hipospadias patofizyolojisinde progesteronlar, östrojenler, loratidin, fitalatlar, vinklozolin ve proksimidon gibi antiandrojenik fungusitler dahil olmak üzere androjen blokajı yapan çeşitli ajanlar yer almaktadır.

Cerrahi tedavisini yaptıkları hipospadias ve inmemiş testis gibi sık görülen konjenital anomalilerin gelişimlerinin altında yatan patolojik

mekanizmaları hayvan modelleri ile incelemek çoğu pediatrik üroloğun ilgisini çeker. Ancak hayvanlardaki ürogenital sistemin normal ve anormal gelişimi hakkındaki bilgilerin sınırlı olması bu çalışmaların önündeki en büyük engeldir.

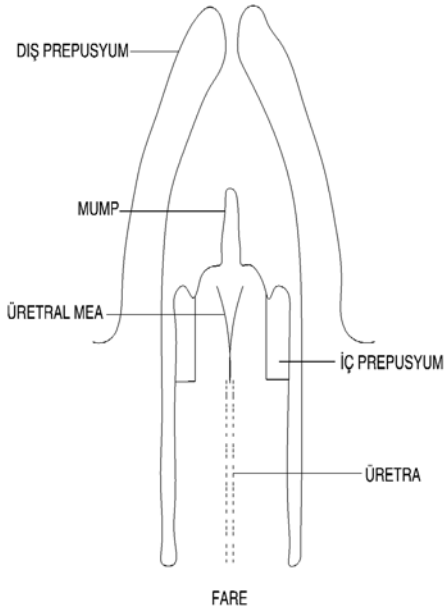
Hayvan deneylerinin sonuçlarının klinik pratiğe çevrilmesi bilgi ve tecrübe isteyen zor bir süreçtir. Türler arasındaki farklılıkların bilinmesi önemlidir. Fare ve sıçanın sanki çocukmuş gibi ele alındığı gen, hücre ve doku düzeyindeki çalışmalarda bu göz ardı edilebilse de, organ ve sistem gibi daha büyük yapıların çalışılması söz konusu olduğunda türler arası farklılık daha da önem kazanmaktadır. Yakın zamanda meyve sineğindeki embriyoner segmentasyonu kontrol eden Hox genlerinin benzer şekilde daha komplike olsa da insan embriyo segmentasyonunu da düzenlediği keşfi bir türün diğer bir türe nasıl esin kaynağı olduğunun en iyi göstergelerinden biridir.

Hayvanların biyolojisi insanlarla birebir aynı olmasa ve farklılıklar içerse de, insanlardaki biyolojik yapıya benzer. Hayvan türlerinde vücut şekilleri veya fonksiyonlarının insandan farklı olmasına rağmen embriyolojik süreçlerde temel benzerlikler bulunmaktadır. Çocuktaki üro-

genital anomali gelişiminin nedeni ve sürecini araştırmak amacıyla hayvan modellerinden yararlanmak için, fare veya sıçan gibi deney hayvanları ile insan arasındaki gelişim farklılıklarının bilinmesi gerekir.

Temel olarak hipospadias, penisin normal gelişiminin bir aşamada durmasıdır. Hipospadiaslı hastalarda, penis ventralindeki gelişim anomalisinin üç elemanı vardır, bunlar: Prepusyum defekti, üretra defekti ve ventral kurvaturdur.

Eskiden beri hayvan modellerindeki hipospadiasın insandakine uygunluğuyla ilgili kuşku vardır. Ancak hem sıçanlarda hem de farelerde hipospadias üzerine önemli miktarda yayınlanmış araştırma bulunmaktadır. Her hayvan modelinin, ayrıntılı olarak tartışılması gereken, avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Fare ve sıçan penisinin anatomisini tanımlayan terminoloji, insan penisini tanımlamak için kullanılanlardan oldukça farklıdır. Tüm türlerde, penisin dış kısmı vücut duvarından çıkıntı yapar



Resim 1. Fare penis koronal kesit.

ve iç kısmı vücut yüzeyi konturunun altında yer alır.

Fare penisinin, özellikle hipospadiaslı olanlarda bozulmuş olan distal üretra ve glans anatomisi iyi tanımlanmıştır. Farede, distal prepusyum içinde glans, os penis (penil kemik) ve MUMP olarak adlandırılan fibrokartilajen erkek ürogenital çiftleşme çıkıntısı yer alır. Ayrıca distal üretra düzeyinde, MUMP korpus kavernosa, korpus kavernosum glandis ve korpus kavernosum üretra olarak adlandırılan erektil yapıları içerir.

Fare ile sıçan glans penisi insan glans penisine benzemekle beraber daha uzun türe özel bir distal bölgeye sahiptir (Resim 1).

Sıçan penisinin anatomisini tanımlayan yayınlanmış araştırma sınırlıdır. Glans ve üretral meatusun distalini oluşturan türe özel yapılar ile ilgili bilgiler yetersizdir. Hem fare hem de sıçan penisleri, duvarları perinede belirgin bir çıkıntı oluşturan prepusyal boşluk içine yerleşmiştir. Bununla birlikte, fare penisine karşı sıçan penisinin makroskopik ve mikroskopik anatomisinde önemli farklılıklar vardır. Sıçan penisini oluşturan elemanlar (fareninki gibi), proksimalde os penis ve distal de ise fibrokartilajen yapıdan (Sıçan MUMP'sinin fare homologu) oluşur. Fare fibrokartilajen MUMP'ı distale uzanır ve üretral meatusun altında sonlanır. Buna karşılık, sıçanda bu fibrokartilajen yapı, proksimalden distale kadar üretra ile bağlantılı olarak uzanır. Diğer fare erektil yapılarının (MUMP, korpus kavernosa glandis ve korpus kavernosum üretra gibi) sıçaninkine benzerlikleri henüz belirlenmemiştir. Bu nedenle, glans ve ilişkili üretral meatusun distalinin morfolojik yapısı sıçanlarda farelerinkine göre büyük ölçüde farklıdır ve halen sıçan penisi ile ilgili bildiklerimiz sınırlıdır. Ekzojen östrojenler veya androjen blokerleri gibi hipospadiası indükleyen ajanların üretral meatusun yanı sıra, farelerde bulunan iç penil yapıların çoğunun yerleşimini ve farklılaşma-

sını etkilediği gösterilmiştir. Bu tür çıkarımlar sıçanlarda yapılamamaktadır, çünkü normal sıçan penil morfolojisi hakkında bildiklerimiz yetersizdir.

İnsan penisinin normal gelişimi:

Yaygın embriyolojik teoriye göre, penis derisi ektodermden, üretral epitel endodermden ve penil korporeal cisimler, damarlar, bağ dokusu ve dermis mezodermden oluşur. İnsan dış genital gelişimi, erkek ve kadınlarda aynı şekilde başlar ve primordial perikloakal kabarıklıklar, orta hatta genital tüberkül ve her iki tarafta genital şişliklerin oluşması ile sonuçlanır. Hem erkek hem de dişi embriyolardaki bu farklılaşmamış yapılar, genital gelişimin biseksüel aşamasını oluşturur. Genital tüberkül hem penisin hem de klitoris primordiumudur. Erkeklerde genital şişlikler, fetal testisten salınan androjenlerin etkisiyle skrotumu oluşturmak için orta hatta birleşir. Erkek genital tüberkülü, penisini oluşturmak için uzadıkça aynı zamanda, solid epitel üretral plak, glans içine distale uzanır ve lateralde uzanan üretral kıvrımlar üretral oluğu oluşturmak üzere proksimalden distale tübularize olur. Penil üretra, üretral kıvrımların orta hat füzyonunun bir sonucu olarak oluşur. Kanıtlar, insan hipospadiasının üretral kıvrımların oluşumu veya füzyonunun bozulmasından kaynaklandığını göstermektedir.

Fare penisinin normal gelişimi:

Farelerde dış cinsel organ gelişimi, insanlarda olduğu gibi, solid üretral bir tabaka içeren biseksüel genital tüberkülün oluşumu ile başlar. İnsanlarda, üretral tabanın kanalizasyonu, üretral kıvrımların penil üretrayı oluşturmak için orta hatta birleşmesi ile olur. Buna karşılık, farelerde üretral taban, penil üretranın çoğunu oluşturmak üzere doğrudan kanalize olmaktadır. Bununla birlikte, yetişkin bir fare

penisinde hafif bir ventral penil raphe belirginidir. Raphe'ler fetal füzyon olaylarının yetişkindeki dışavurumlarıdır; Bununla birlikte, farede ventral penil raphe'nin tam kökeni ve önemi henüz bilinmemektedir. Doğum sonrası, fare üretral meatusu, insan penil gelişiminde gözlemlenenlere benzer şekilde füzyon yoluyla gelişir, ancak farede açık distal oluğun ve ilişkili katların üretral-prepusyal oluk olarak adlandırılması dışında ve bu kıvrımların füzyonu ile hem distal üretranın, hem üretral meatusun hem de prepusyum gelişimi tamamlanır. Dolayısıyla, fare penil üretra gelişiminin iki aşamada gerçekleştiğine inanılmaktadır. Doğum öncesi olarak, penil üretra genital tüberkül içinde gelişir, muhtemelen üretral tabanın kanalizasyonu yoluyla penil üretranın çoğu oluşur. Doğum sonrası, bu füzyon işlemi, yetişkin fare üretral meatusunu yapan yapıların raphede orta hatta kıvrımların birleşmesi ile sonuçlanır. Her iki teori de kayda değer kanıtlarla desteklenir, ancak "penil şaft" içinde fare üretrasının oluşum mekanizmasının (doğum öncesi gerçekleşen) üretral meatus oluşumundan (doğum sonrası gerçekleşen) farklı olduğu şekliyle bakılmalıdır. Fare üretral meatusun doğum sonrası oluşumu, çoklu epitelyal füzyon olayları içerdiği ve bu nedenle glans şaftı içindeki doğum öncesi üretral gelişimden büyük ölçüde farklı olduğu görülmektedir. Yetişkin fare üretral meatusu, erkek genital çiftleşme çıkıntısının (MUMP) distalinde bulunur. Böylece, fare üretral meatusu, erkek ürogenital çiftleşme çıkıntısının distaldeki füzyonu sonucu doğum sonrası oluşur.

Bu şekilde oluştuğunu gösteren belirgin bir ventral yarık vardır. Ürogenital çiftleşme çıkıntısının detaylı incelenmesi sonucunda çeşitli yönlerde yarıklarla ayrılmış birkaç yapının füzyonu ile oluştuğu gösterilmiştir. Böylece fare üretral meatusun ve prepusyumun postnatal gelişimi öncelikle epitel-epitel etkileşimi sonrası üretral-prepusyal kıvrımların ventral orta

hatta birleşmesi ile oluşur. İnsanlardaki prepusyal gelişim farelerdeki benzer şekildedir. Sonuçta epitel füzyonunun başlangıç noktası orta hatta olup, insan penis üretra ve prepusyumun prenatal gelişimi farelerdekinin aynısıdır.

Sıçan penisinin normal gelişimi:

Sıçan penis gelişimi fareninki gibi prenatal olarak başlar ve postnatal olarak tamamlanır. İnsan penis gelişiminin prenatal 20. hafta tamamlandığı göz önüne alındığında bu önemli bir farklılıktır. Bu rodentlerin gestasyon uzunluğunun kısa olmasından kaynaklanmaktadır. Sıçan penis üretrasının prenatal gelişimi kloakal lümenin genital tüberkül ventralinde distal uca kadar uzanması ile oluşur. Açık üretral tabanın kanalizasyonu meydana gelmez. Ancak farelerdeki gibi postnatal üretral meatus füzyon ile oluşur. Erişkin fare ve sıçan penislerindeki belirgin ventral raphenin varlığı bu füzyonun olduğunun kanıtı olabilir. Sıçan postnatal üretra gelişimi ile ilgili çalışma olmaması üretral meatus gelişimi hakkında bilgi yetersizliğine yol açmaktadır. Fare ve sıçan penis-üretra gelişiminin daha ayrıntılı tanımlayan çalışmalara ihtiyaç vardır.

Fare ve Sıçan hipospadias modelleri:

Fare ve sıçanlardaki üretral anomaliler elektron mikroskopu, makro fotoğraf, histolojik seri ince kesitlerin 3D rekonstrüksiyonları veya optik projeksiyon tomografileri ile değerlendirilebilmektedir. Kesitlerin mikroskop ile yapılan değerlendirmesi bu anomalilerin tanınmasını sağlayabilmektedir. Sıçan ve farelerde hipospadias çeşitli ajanların uygulanması ile oluşturulabilmektedir. Bu ajanlar esas olarak iki kategori altında toplanmaktadır. Bunlar östrojenik ajanlar ve androjen blokajı yapan ajanlar olarak ayrılırlar.

Fare modellerinde hipospadias birçok östrojenik etkili ajan ile yapılabilir. Bu amaç-

la en sık DES (Dietilstilbestrol) kullanılmaktadır. Androjen blokajı ise antiandrojenler (flutamide, vinklozin ve proksimidone), 5 alfa redüktaz inhibitörleri (finasteride), testosteron üretimini bloke eden fitalatlar ile sağlanabilir. Farelerde sıklıkla östrojen ile indüklenmiş hipospadias oluşumu kullanılmaktadır. Bunun yanında sıçanlarda da östrojen indüklenmiş hipospadias modelleri bulunmaktadır. Farelerde östrojenin teratojenik etkisi uygulamanın prenatal ya da neonatal olmasına bağlı olarak birbirlerinden farklılık taşımaktadır. Çalışmalarda prenatal olarak DES uygulanan farelerde postnatal 5 ve 10. günlerde elde edilen penis üretra dokularında özellikle distal penis yapılarında ve üretral meatusda gelişim defektleri tanımlanmış ve bu defektlerin erişkin dönemde de devam ettiği rapor edilmiştir. Ancak hiçbir denekte proksimal penis şaftta hipospadias benzeri defekt oluşturulamamıştır. Deneklerde penis şaft hipospadias ventral yapıların (cilt, üretra ve üretrayı saran erektil dokular) gelişmemesi olarak tanımlanmaktadır. Postnatal 25-30. güne kadar oluşumu tamamlanamamaktadır.

Penis şaft hipospadias benzeri defektlerin 5 α redüktaz inhibitörleri, anti-androjenler veya neonatal olarak uygulanan DES ile farelerde oluşturulup oluşturulamayacağı tam olarak bilinmemekle birlikte bu soruya odaklanmış çeşitli çalışmalar vardır.

Neonatal DES uygulamasının erişkin farelerin dış genital organlarının gelişimi üzerine etkilerinin çalışıldığı bir çalışmada östrojen duyarlı olan ve olmayan erkek farelere postnatal ilk 10 gün, gün aşırı DES (200ng/g/5 μ l) enjeksiyonu sonrası postnatal 5, 10 ve 60. günlerde sakrifikasyon yapıp penis dokular hipospadias açısından değerlendirilmiştir. Raporda tanımlanmış olan defektler: glans ve prepusyumun kısa kalması (trunkasyonu), üretral meatus anomalileri, ventral kurvatur, azalmış penis uzunluğu, düşük glans çapı, üretral fleplerin gelişmemesi ve erektil yapılarında olan diferansi-

asyon defektleri şeklinde özetlenebilir. Sonuçta DES ile indüklenen hipospadiasın oluşumu penis ve üretranın gelişimindeki büyüme ve füz-yon defektlerine bağlı olarak gelişmektedir.

Özetlenen bu çalışmalar daha çok hipospadias ya da konjenital genital anomali oluşturma üzerine odaklanılmıştır. Ancak son zamanlarda yapılmış bir çalışmada oluşturulan genital defektin ağırlığı üzerine odaklanılmış ve M.O.U.S.E (Mouse objective urethral severity evaluation) adında skorlama sistemi tanımlanmıştır. Araştırmacılar çalışmalarını fareler üzerinde bir antiandrojen olan vinklozin uygulayarak yapmışlardır. Sonuçta normal penil gelişim ile genital feminizasyon arasında oluşan genital defektleri tanımlayarak skorlamışlardır. Böylece bunun genital sistem gelişim çalışmalarını daha standardize ve anlaşılır olmasını sağlayacağını bildirmişlerdir.

Özet olarak kemirgenler ile insan penis ve üretrası gelişimi arasında anatomik ve gelişim zamanı açısından farklılık vardır. İnsan üretrası prenatal 8-20 hafta arasında gelişirken, kemirgenlerde prenatal son 15. gün ile postnatal ilk 10 gün arasında özellikle distal yapılar gelişmektedir. Penis gelişiminin hormonal kontrolü sadece androjenlerin etkisinde değildir. Aynı zamanda östrojenlerde etkin olarak rol almaktadırlar. Östrojen α ve β reseptörleri penil dokuda bol miktarda mevcuttur özellikle distal kısımda, glans, prepusyum ve üretral meatus da hem farelerde hem de insan da benzerdir. Anormal östrojenik etki distal anomalilerin oluşumundan sorumlu iken proksimal olanlardan daha çok androjenlerin yetersizliği sorumludur.

Çok yakın zamanda, kobayda (Guinea pig) genital organ anomalileri ve hipospadias gelişim mekanizmalarının değerlendirildiği bir çalışmada, prenatal kobaylara uygulanan antiandrojenlerin (Bicalutamide) etkisi ile oluşturulan hipospadiasın proksimalden distale olan üretral tübularizasyondaki duraksama ile

insan üretra gelişim teorisi olarak ileri sürülen double zipper modeline (endodermal diferansiyasyon teorisi) benzer olarak geliştiği bildirilmiştir. Bu modelde ilk olarak proksimalden distale üretral kıvrımların açılmasıyla üretral taban oluşur. İkinci aşamada proksimalden distale üretral taban her iki taraftan kapanarak tübularizasyon oluşur.

Kobaylara prenatal 26-30. günler arasında antiandrojenler uygulandığında hipospadias gelişmektedir. Kobayların penis yapıları farelerine benzer iken, üretral groove ve üretra tübularizasyonu insanlarınkine daha çok benzer. Sonuçta kobaylar hipospadiasın patofizyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla daha uygun bir model olabilirler.

Hipospadiasın etyolojisi ve oluşum mekanizmalarının çalışıldığı yukarıda bahsedilen hayvan modelleri yanında literatürde birçok hayvanın sağlam üretrası üzerinde hipospadias benzeri defektler oluşturup çeşitli operasyon yöntemlerinin karşılaştırılarak incelendiği hayvan çalışmaları vardır. Sağlam üretranın kullanılması bu çalışmaların sonuçlarının tartışılabilir olmasına yol açmaktadır.

Kaynaklar

1. Baskin, L. S. Hypospadias and urethral development. *J. Urol.* 163, 951–956 (2000).
2. Cunha, G. R., Sinclair, A., Risbridger, G., Hutson, J., Baskin, L.S. Current understanding of hypospadias: relevance of animal models. *Nat. Rev. Urol.* 12, 271–280 (2015).
3. Kalfa, N., Philibert, P., Baskin, L. S. & Sultan, C. Hypospadias: interactions between environment and genetics. *Mol. Cell. Endocrinol.* 335, 89–95 (2011).
4. Yiee, J. H. & Baskin, L. S. Environmental factors in genitourinary development. *J. Urol.* 184, 34–41 (2010).
5. Buckley, J., Willingham, E., Agras, K. & Baskin, L. S. Embryonic exposure to the fungicide vinclozolin causes virilization of females and alteration of progesterone receptor expression *in vivo*: an experimental study in mice. *Environ. Health* 5, 4 (2006).
6. van der Zanden, L. F. *et al.* Aetiology of hypospadias: a systematic review of genes and environment. *Hum. Reprod. Update* 18, 260–283 (2012).

7. Jesmin, S. *et al.* Aromatase is abundantly expressed by neonatal rat penis but downregulated in adulthood. *J. Mol. Endocrinol.* 33, 343–359 (2004).
8. Kim, K. S. *et al.* Induction of hypospadias in a murine model by maternal exposure to synthetic estrogens. *Environ. Res.* 94, 267–275 (2004).
9. Mahawong, P. *et al.* Prenatal diethylstilbestrol induces malformation of the external genitalia of male and female mice and persistent second-generation developmental abnormalities of the external genitalia in two mouse strains. *Differentiation* 88, 51–69 (2014).
10. Mahawong, P. *et al.* Comparative effects of neonatal diethylstilbestrol on external genitalia development in adult males of two mouse strains with differential estrogen sensitivity. *Differentiation* 88, 70–83 (2014).
11. Goyal, H. O., Braden, T. D., Williams, C. S. & Williams, J. W. Role of estrogen in induction of penile dysmorphogenesis: a review. *Reproduction* 134, 199–208 (2007).
12. Li, X. *et al.* Altered structure and function of reproductive organs in transgenic male mice overexpressing human aromatase. *Endocrinology* 142, 2435–2442 (2001).
13. Foster, P. M. & Harris, M. W. Changes in androgen-mediated reproductive development in male rat offspring following exposure to a single oral dose of flutamide at different gestational ages. *Toxicol. Sci.* 85, 1024–1032 (2005).
14. Gray, L. E. *et al.* Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Hum. Reprod. Update* 7, 248–264 (2001).
15. Christiansen, S. *et al.* Combined exposure to antiandrogens causes markedly increased frequencies of hypospadias in the rat. *Int. J. Androl.* 31, 241–248 (2008).
16. Christiansen, S. *et al.* Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens. *Environ. Health Perspect.* 117, 1839–1846 (2009).
17. Bowman, C. J., Barlow, N. J., Turner, K. J., Wallace, D. G. & Foster, P. M. Effects of *in utero* exposure to finasteride on androgen-dependent reproductive development in the male rat. *Toxicol. Sci.* 74, 393–406 (2003).
18. Clark, R. L. *et al.* Critical developmental periods for effects on male rat genitalia induced by finasteride, a 5 α reductase inhibitor. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 119, 34–40 (1993).
19. Fisher, J. S., Macpherson, S., Marchetti, N. & Sharpe, R. M. Human ‘testicular dysgenesis syndrome’: a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Hum. Reprod.* 18, 1383–1394 (2003).
20. Foster, P. M. Disruption of reproductive development in male rat offspring following *in utero* exposure to phthalate esters. *Int. J. Androl.* 29, 140–147 (2006).
21. Klinefelter, G. R. *et al.* Novel molecular targets associated with testicular dysgenesis induced by gestational exposure to diethylhexyl phthalate in the rat: a role for estradiol. *Reproduction* 144, 747–761 (2012).
22. Rodriguez, E. Jr *et al.* Specific morphogenetic events in mouse external genitalia sex differentiation are responsive/dependent upon androgens and/or estrogens. *Differentiation* 84, 269–279 (2012).

İnmemiş Testis

44

Caner EDİZ, Ömer YILMAZ

İnmemiş testis (Kriptorşidizm), erkek yenidoğanların %0.1-4.3'ünü etkileyen, sık görülen konjenital bir anomalidir. %0.8-1.1 infantta 3. ayın tamamlanmasına rağmen durum devam eder ve bunların çoğunluğu tedavi gerektirir.

İnmemiş testis tedavisinin 1 yaşa ulaşıldığında tamamlanmış olması amaçlanmaktadır. Tedavide hedef fertilizasyon yeteneğinin korunması, malignite riskinin azaltılması, kozmetik bütünlüğün sağlanması şeklinde özetlenebilir.

Hayatın erken dönemlerinde yapılan tedavinin, özellikle fertilité üzerindeki etkinliğinin, uzun yıllar sonra ortaya çıkması nedeni ile bu hastalarda takip, bilimsel verilerin sağlıklı bir şekilde toplanarak kayıt edilmesi işlemi zorluklar ihtiva etmektedir. Hastalığın gelişimsel süreçlerinin ve patofizyolojisinin ortaya konabilmesi için yapılması gereken araştırmalar, gerek intrauterin süreçleri gerekse yenidoğan ve erken çocukluk dönemlerini kapsamalıdır. Bu nedenle, çalışmaların insanlar üzerinde yapılabilirliği zorluklar ihtiva etmektedir.

Testiküler biyopsi için, kan testis bariyerini bozarak antisperm antikoruna gelişimine neden olabileceğine dair çekinceler bulunmakla birlikte, yapılan araştırmalarda bu tür bir sonucun

olmayacağı ortaya konmuştur. Ancak kanama, enfeksiyon atrofi, parankimal değişiklikler gibi olumsuz etkilerin olabileceği fikri nedeni ile fertilité potansiyelinin tahmini ve malignite riskinin ortaya konulması açısından testis biyopsisi, kar-zarar değerlendirmesi yapılarak karar verilmesi gereken bir durum olma özelliği taşımaktadır. Bunun yanında bilimsel çalışma amacıyla testis biyopsisinin etik açıdan sorun teşkil edeceği açıktır.

Özellikle bilimsel çalışmaların insanlar üzerinde yapılmasındaki zorluklar ve kriptorşidizmin etkilerinin ortaya çıkması için insanlarda uzun bir süreç gerektirmesi nedeni ile inmemiş testis ile ilgili çalışmalar genellikle hayvanlar üzerinden yürütülmüştür. Memelilerin büyük çoğunluğunda testiküler iniş süreci temelde benzerlikler göstermektedir. Testiküler fonksiyonların normal olarak devamı için skrotal ortamda bulunması önem arz etmekte ve tüm memelilerde testisler vücut ısısından daha soğuk bir ortam olan skrotal kavitede bulunmaktadır.

Tüm memeliler arasında testis yerleşimi, temel olarak transabdominal ve inguioskrotal olmak üzere iki ana kategoriye ayrılmıştır. Bu kategoriler de 1: Embriyonik (embriyonik

pozisyonda kalarak inmeyen), 2: Intermediate (kısmen inen ancak intraabdominal kalan), 3: İnternal inguinal, 4: İnguinal ringden kısmen çıkmış, 5: Eksternal inguinal ringden çıkmış ancak skrotuma inmemiş, 6: Skrotal olmak üzere toplam altı alt kategoriye ayrılarak sınıflandırılmıştır. Kriptorşidizm tanımı tüm memelilerde skrotumda olmayan testis için kullanılmaktadır. Yine tüm türlerde tek veya her iki testisin birlikte etkilenmesi sözkonusudur. Memeliler irdelendiğinde kriptorşidizm %0.1-1.2 sıklığında görülmesine rağmen en sık etkilenenler türler atlar, kediler, köpekler ve domuzlar olarak karşımıza çıkar. Geviş getiren türler ise en az etkilenenler olarak kabul edilmektedir.

Tam mekanizması aydınlatılamamış olsa da memelilerdeki kriptorşidizmin genetik, anatomik ve endokrin sistem defektlerine dayanan süreçler sonunda ortaya çıktığı kabul edilmektedir. Bütün türlerde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; testisin skrotum dışı yerleşimi, maruz kaldığı ısı seviyesini yükseltmekte ve matür germ hücre sayısını azaltarak spermatogenezi olumsuz etkilemektedir. İlave olarak, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, ektoptik yerleşimli testislerde testiküler malignitenin çok daha yüksek oranda geliştiğini ortaya koymuştur.

Çalışmalarda memelilerin kriptorşid testis histomorfolojilerinin normal yerleşimli testislerden farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Hayvanlarda testisin yerleşim yeri ve skrotum dışında geçirdiği süreye bağlı olarak, mikroskopik değişiklikler fibrozis, tübüler hipoplazi, az diferansiye olmuş germinal epitel ve değişik derecelerde hücre içi organellerin etkilenmesi şeklinde özetlenebilir. Özellikle bu değişiklikler puberte sonrası belirginleşmektedir.

Son yıllarda kriptorşidizmin fizyopatolojisinde endokrinopatinin önemli bir etken olabileceği fikri ön plana çıkmış olup, özellikle gelecekteki fertilitate potansiyelinin korunması için tedavinin yalnızca cerrahi olarak testisin skro-

tuma indirilmesiyle yetinilmemesi gerektiği, iniş sürecini de etkileyen hormonal eksikliğin ilave hormonal tedavi ile desteklenmesi gerekliliği, bazı araştırmacılar tarafından dile getirilmektedir. Bu durumun izahı, doğum sonrası erkek çocuklarda yaklaşık 3. ayda gerçekleşen ve mini-puberte olarak adlandırılan gonadotropin pikinin sebep olduğu primer gonositlerin, gelecekteki spermatogenezin hafıza hücreleri olarak kabul edilen koyu spermatogonia A'lara (Ad) dönüştüğü dönemin, kriptorşidizm durumunda yetersiz olduğunun kanıtlanmasıyla yapılmaktadır.

Tüm bu bilgiler ışığında kriptorşidizmin patofizyolojisinin, gelecekteki fertilitate etkilerinin, maligniteyle ilişkisinin, tedavisinde cerrahi dışı olası medikal tedavilerin geliştirilmesi amacıyla çalışmalara ihtiyaç vardır. Ancak testiküler matürasyonun intrauterin hayatın çok erken safhalarında başlayan ve erişkin döneme kadar süren uzun bir periyodunun olması nedeniyle, konunun hayvan modelleri üzerinde yürütülen çalışmalarla aydınlatılması, cevapların çok daha kısa süreler içerisinde elde edilebilmesine olanak vermektedir. Ancak testiküler iniş mekanizmalarının tüm memelilerde ana hatlarıyla benzer olmasına karşın, türler arasında anatomik ve fizyolojik farkların olduğu ve insandaki sürecin birebir aynısı olmayacağı da akılda tutulmalıdır. Her ne kadar farklılıklar olsa da hayvan deneyleriyle elde edilen bilgiler yeni fikirlere ışık tutması açısından son derece faydalıdır.

Literatürdeki inmemiş testis modeli oluşturulan çalışmalar incelendiğinde, değişik memeli türlerinin kullanıldığı görülmektedir. Deney hayvanlarının kullanıldığı inmemiş testis modeli olarak, ya zaten kriptorşid olan hayvanlar kullanılabilir ya da sonradan cerrahi olarak testisin skrotum dışına alınmasıyla elde edilen sekonder deneysel kriptorşidizm modeli kullanılabilir. Özellikle yetişkin çağdaki hayvanların kullanıldığı sekonder inmemiş testis modeli,

testisin yeni yerinde maruz kaldığı daha yüksek ısıнын zaten devam eden spermatogenez ve testiküler morfolojiye etkisinin araştırılması için ideal olabilir. Yine kriptorşidizmin sağlam karşı taraf testis üzerine etkileri için de oldukça uygun bir modeldir. Ancak bu modelin insanlarda doğumdan hemen sonradan itibaren mini-puberte dönemini de içine alan henüz spermatogenezin başlamadığı süreçlerde kriptorşidizmin testis üzerine etkilerinin araştırılacağı konular için uygun olmayan bir metod olduğu söylenebilir.

Kemirgenler gibi bazı türlerde, testisin skrotuma inişi, doğum sonrası gerçekleşir. Primer deneysel inmemiş testis modeli olarak adlandırılan bu modelde, inişini tamamlayan ve henüz karın içi pozisyonunda olan testislerin karşılaştırmalı çalışmaları yapılabilir. Buradaki dezavantaj, kemirgenlerde spermatogenezin doğumu takiben yaklaşık 1 hafta sonra başlamasıdır. Yine postnatal 14-16. günlerde pakiten spermatozoidler de mevcuttur. Oysa insanda doğumda yalnızca gonosit ve spermatogonialar mevcuttur ve spermatogenez başlamamıştır. Bu dezavantaj, domuzlarda spermatogenez puberte ile başladığı için, kullanılacak hayvan türünün seçimi ile çözümlenebilir.

Deneysel inmemiş testis oluşturmak için kullanılan diğer bir metod, intrauterin dönemde östrojen uygulamasıdır. Ancak östrojenin testis ve üreme organları üzerine etkilerinin olduğu bilinmelidir. Oluşan değişikliklerin kriptorşidizm kaynaklı mı yoksa östrojenin etkisi mi olduğunun ayırımı net yapılamayabilir.

Deneysel kriptorşidizm modelleri arasında testis inişinde etkili faktörlere (İnsülin benzeri büyüme faktörü 3 gibi) ait genlerin olmadığı farelerin (transgenik ve knock out) kullanılması da mümkündür. Bu modellerde etyoloji ve kriptorşidizmin sebep olduğu geriye döndürülebilir testiküler etkilenmeler üzerinde çalışmalar gerçekleştirmek mümkündür.

Diğer bir inmemiş testis modeli ise spontan kriptorşidizm görülen maymun, domuz ve köpek gibi türlerin kullanılmasıdır. Buradaki avantaj, aynı gelişimsel evredeki immatür erkek çocuklardaki testis benzeri yapıda olmasındadır.

Deneysel inmemiş testis oluşturularak etyoloji, patofizyoloji ve tedavi ile ilgili araştırmalar yapmak mümkündür.

Deney hayvanları ile yapılan inmemiş testis modellerinin avantajları vardır. İnsanlara oranla bu hayvan türlerinin hayat döngüleri kısadır. Bu yüzden araştırılan konuların uzun dönem etkilerini test etme kabiliyeti oluşturmaktadır. En sık seçilen kemirgenler grubu hayvanların özellikle üreme kabiliyetleri yüksek ve testisleri belirgindir. Ayrıca vücut ebatları düşük olduğu için de besleme, barındırma ve cerrahi işlemler açısından kolaylık sağlamaktadır. Yine etik açıdan bazı çalışmaların direkt insanlar üzerinden yapılamayacağı düşünüldüğünde deneysel inmemiş testis modelleri tek seçenek olarak kalmaktadır. Deneysel inmemiş testis modeli için en sık kullanılan kemirgenlerin temel özellikleri Tablo-1 'de yer almaktadır.

Tablo 1. Deneysel inmemiş testis modeli hayvanların özellikleri

Tür	Doğum ağırlığı	Ergen ağırlık	Puberte	Doğumda testis yeri	Testisin skrotuma inişi
Fare	0.5-1.5 gr	20-40 gr	5 hf	İntraabdominal	Doğum sonrası 5-7 g
Rat	5 gr	300-500 gr	6-8 hf	İntraabdominal	Doğum sonrası 7-10 g

Tablo 2. Deneysel inmemiş testis hayvan modeli için uygulanabilen anestezikler

Anestezi	Fare(mg/kg)	Rat(mg/kg)	Tavşan(mg/kg)	Domuz(mg/kg)
Ksilazin+Ketamin	5-16+100-200 IP, IM	5-8+75-90 IP, IM	2,5-10+20-40 IM	1-2+6-10 IM
Diazepam+Ketamin	3-5+50-150 IP, IM	5-10+45-60 IP	5-10+30-60 IM	1-2+10-18 IM
Thiopental	25-50 IP, IV	20 IV	15-30 IV	6-15 IV
Pentobarbital	30-90 IP, IV	30-40 IV	20-60 IV	20-30 IV
Tiletamin+Zolezepam	50-100 IP	5-25 IV	32-64 IM	4,4 IM
Propofol	20-30 IV	7-10 IV	5-10 IV	3 IV

IP: İntraperitoneal IM: İntramüsküler IV: İntravenöz

Anestezi

Deneysel inmemiş testis modeli için en sık kullanılan türlere uygulanabilen anestezikler Tablo 2’de verilmiştir. Anestezisiz cerrahi girişim etik olarak kabul edilemez ve uygulanmamalıdır. Anestezi esnasında deney hayvanının ölmemesi için özellikle hipotermiye önlem alınmalıdır.

Cerrahi teknik

Deneysel inmemiş testis cerrahi yöntem ile oluşturulacak ise anestezi altında inguinal ka-

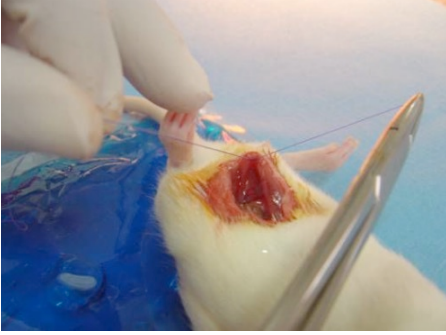
nal abdominal kavite bileşkesi üzerine yapılacak insizyon yeri için bölge tüylerden arındırılmalı ve ardından insizyon yapılmalıdır. Fare ve ratlarda inguinal kanal açıktır ve insizyondan skrotumdaki testis ve epididim rahatlıkla doğurtularak manüple edilebilir. Testis ve ekleri batin içerisine alındıktan sonra inguinal kanalın sütür ile oblitere edilmesi gerekmektedir (Resim 1-4). İntraperitoneal yolla uygulanan anestezinin ardından ratlarda oluşturulan deneysel inmemiş testis modelinin cerrahi basamaklarını göstermektedir.



Resim 1. Abdominoinguinal kesi.



Resim 2. Testis ve epididimin batin içine alınması



Resim 3. İnguinal kanalın sütür ile kapatılması



Resim 4. Abdominoinguinal kesinin kapatılması

Kaynaklar

1. M.A. Mahmud, J.E. Onu, S.A. Shehu, M.A. Umar, A.Bello, A.Danmaigoro. Cryptorchidism in Mammals-A Review Global Journal of Animal Scientific Research. 3(1):128-135. 2015
2. A.Bergh, O.Söder. Studies of cryptorchidism in experimental animal models. Acta Paediatrica(96): 617-621.2007
3. R.P.Amann, D.N.R.Veeramachaneni. Cryptorchidism and associated problems in animals. Anim. Reprod.,(3):108-120, April/June. 2006
4. R.P.Amann, D.N.R.Veeramachaneni. Cryptorchidism in common eutherian mammals. Reproduction (133): 541–561.2007
5. J.M.Hutson, L.S.Baskin, G.Risbridger, G.R.Cunha. The power and perils of animal models with urogenital anomalies: Handle with care. J Pediatr Urol. 10(4): 699–705. August ;2014
6. A.Faure, A.Bouty, M.O'Brien, J.Thorup, J.Hutson, Y.Heloury. Testicular biopsy in prepubertal boys: a worthwhile minor surgical procedure? NATURE REVIEWS | UROLOGY(13): 141-150. March 2016
7. J.K. Kim, M.Chua, J.M.Ming, J.Dos Santos, E.Zani-Ruttenstock, A.Marson, M.Bayley, M.A. Koyle. A critical review of recent clinical practice guidelines on management of cryptorchidism. Journal of Pediatric Surgery (53); 2041–47. 2018
8. Hutson JM, Southwell BR, Li R, Lie G, Ismail K, Haris G, Chen N. The regulation of testicular descent and the effects of cryptorchidism. Endocr Rev.;34(5):725-52. October 2013.

Testis Torsiyonu

45

Tayfun OKTAR, M. İrfan DÖNMEZ

Giriş

Testis torsiyonu, testisin gubernakulum yoluyla tunica vaginalise yetersiz/anormal fiksasyonu sonucu testisin kendi eksenini etrafında dönmesi durumudur. Testisin torsiyonu öncelikle venöz kompresyona yol açar. Bunu takiben ödem ve son olarak da arteriyel oklüzyon sonucunda testis iskemisiyle sonuçlanabilir. Testis torsiyonu erken ve geç dönemde testis kaybında sebep olabilmesi sebebiyle acil müdahale edilmesi gereken bir durumdur. Sıklıkla adolesan dönemde görülmekle birlikte genç erişkinlikte de gözlemlenmektedir.

Çocuk ürolojisi ve androloji açısından testis torsiyonunun fizyopatolojisini anlamak, kısa ve uzun dönemde testis sağ kalımı ve testiküler fonksiyon korunumu hedefleriyle çeşitli cerrahi teknik ve moleküllerin kullanımı her daim ürologların ilgisini çekmiştir. Bu sebeple yapılmış 100'ün üzerinde hayvan deneyi çalışması mevcuttur. Son yıllarda literatürde testis torsiyonu sonrasında gözlenen sperm parametre bozukluklarının engellenmesi amacıyla çok çeşitli moleküllerin denendiği çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda torsiyon uygulandıktan sonrası belirli bir zaman diliminde (genellikle detorsi-

yon öncesi) çalışılan molekül çeşitli yollarla deney hayvanına verilmektedir (1, 2). Bu sayede testiküler histolojik değişiklikler ve çeşitli biyobelirteçlerin kan seviyeleri açısından değerlendirme yapılarak testis torsiyonu komplikasyonlarının en aza indirilecek yöntemler bulunmaya çalışılmaktadır.

Modelin Oluşturulması

Bu bölümde testis torsiyonu modelleri hakkında genel bilgilendirme ve çalışma yapılırken dikkat edilmesi gereken durumların ortaya konması hedeflenmektedir.

Testis torsiyon modelinde ilk dikkat edilmesi gereken konu deney hayvanının seçilmesidir. Oluşturulacak model için tekrarlayan anestezi-lere dayanaklı, testis manipülasyonunun kolay olduğu bir hayvanın seçilmesi deneyin optimal bir şekilde yapılabilmesi için önemlidir. Bu faktörler göz önüne alındığında testis torsiyonu modeli için en uygun hayvanın sıçan (rat) olduğu görülmektedir. Farelerde intraabdominal yerleşimli testisleri nedeniyle cerrahi manipülasyon zorluğu mevcuttur. Tavşanlar da nispeten anesteziye dayanıksız olmalarından dolayı tekrarlayan anestezi gerektiren deneylerde tercih

gereken hususlardan belki de en önemlisi torsiyon yönüdür. İnsan testis torsiyonunu taklit edebilmek amacıyla sol testis saat yönünün tersine, sağ testis saat yönüne çevrilerek torsiyon yapılmalıdır. Torsiyon yapılırken testislerin kaç derece döndürüleceği deneye göre değişebilmekle birlikte çalışmalarda genellikle 720-1080 derece arası döndürülme yapılmaktadır (4, 7). Testis torsiyonu yapıldıktan sonra testisin istenen süre boyunca torsiyone halde kalmasını sağlamak amacıyla internal spermatik fasyaya en az 1 yerden tespit edilir. Tespit için hayvanların yaşına göre 3/0, 4/0 veya 5/0 dikiş kullanılabilir. Torsiyon modelinde torsiyon süreci uzun planlanmadıysa dikiş türünün önemi fazla olmamakla birlikte (ipek, vicryl) uzun dönemli torsiyon modeli planlanıyorsa emilmeyen (non-absorbable) dikiş kullanılması daha uygundur. Bahsedildiği üzere, yapılacak olan deneyin türüne göre torsiyon süresi değişebilmektedir. Ancak literatürde 1-4 saat arası torsiyon süresinin tercih edildiği görülmektedir (7, 8). Aslında burada dikkate alınması gereken önemli bir bulgu sıçanların yaşam döngüsüyle insan yaşam döngüsünün farkıdır. Pre pubertal dönemdeki bir sıçanın (38-42 gün) 1 saati prepubertal bir insanın yaklaşık 4.5 gününe denk gelmektedir. Bunun yanında erişkin bir sıçanın 1 saati erişkin bir insanın 1.6 gününe denk gelmektedir (9). Bu bilgiler göz önüne alındığında 1 saatlik testis torsiyon süresi beklenen histopatolojik/biyokimyasal değişikliklerin oluşması için yeterli gibi gözükmektedir. Ancak yine de torsiyon süresi, yapılacak deneyin özelliklerine göre belirlenmelidir.

İşlemin ardından skrotum cildi yine hayvanın yaşına uygun dikiş kullanılarak kapatılır. Hayvanın derlenmesi sonrası deney protokolündeki süre geçtikten sonra detorsiyon işlemi için önceden tarif edilen yöntem izlenerek testise ulaşılır, tespit dikişi kesilerek testis detorsiyone edilir. Eğer orşiektomi yapılacak ise korda klemp konulur, dönülerek bağlanır ve testis eksize edilir. Eğer detorsiyon sonrası testis belli bir süre skrotumda içinde kalacak ve daha sonra eksize edilecek ise testis orijinal pozisyonuna konur. Testisi sabitlemek amacıyla tespit dikişi konulması opsiyoneldir. Deneyin bitiminde daha önce tarif edilen yöntem ile orşiektomi yapılır.

Spesimen çıkartıldıktan sonra histopatolojik/biyokimyasal değerlendirmelerin sağlıklı yapılabilmesi için histoloji/biyokimya/patoloji bölümleriyle görüşülerek inceleme öncesinde istenen saklama ortamında (serum fizyolojik, formaldehit vb.) ve istenen sıcaklıkta (oda sıcaklığı, +4, -80 vb.) muhafaza edilmelidir. Doku bozunumunun spesimenin çıkarılmasıyla birlikte başladığı unutulmamalıdır.

Torsiyon modellerinde yapılabilen bir diğer deney ise torsiyon esnasında ve sonrasında testiküler basınç değişimi üzerinedir. Bu deneyde, daha önce tariflenen şekilde testis torsiyonu oluşturulduktan sonra testisin tunica albugineası yalnızca insize edilerek veya insizyon sonrası tunica vaginalis flepi kullanılarak testiküler basınç değişimleri ve bunun testis fonksiyonlarıyla histolojisi üzerine etkileri karşılaştırılabilir (10). İntratestiküler basınç ölçümü çeşitli katı sistem basınç ölçerleriyle yapılabilmektedir (Resim 2).



Resim 2. Testis detorsiyonu sonrası intratestiküler basıncın ölçülmesi de testis torsiyon modelinde yapılan deneylerden biridir. Resimde testis detorsiyonu sonrası tunica vaginalis flepi ve katı basınç ölçer görülmektedir.

Kaynaklar

1. Lee JW, Lee DH, Park JK, Han JS. Sodium nitrite-derived nitric oxide protects rat testes against ischemia/reperfusion injury. *Asian J Androl.* 2018 Oct 12. PubMed PMID: 30319134. Pubmed Central PMCID: PMC6337950. Epub 2018/10/16.
2. Ekici S, Dogan Ekici AI, Ozturk G, Benli Aksungar F, Sinanoglu O, Turan G, et al. Comparison of melatonin and ozone in the prevention of reperfusion injury following unilateral testicular torsion in rats. *Urology.* 2012 Oct;80(4):899-906. PubMed PMID: 22950989. Epub 2012/09/07.
3. Iguchi N, Donmez MI, Malykhina AP, Carrasco A, Jr., Wilcox DT. Preventative effects of a HIF inhibitor, 17-DMAG, on partial bladder outlet obstruction-induced bladder dysfunction. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2017 Nov 1;313(5):F1149-F60. PubMed PMID: 28768664. Pubmed Central PMCID: PMC6148299. Epub 2017/08/05.
4. Kara O, Sari E, Aksit H, Yay A, Aksit D, Donmez MI. Effects of selenium on ischaemia-reperfusion injury in a rat testis model. *Andrologia.* 2016 Dec;48(10):1267-73. PubMed PMID: 26992892. Epub 2016/03/20.
5. Kurt O, Yazici CM, Erbogga M, Turan C, Bozdemir Y, Akbas A, et al. Mannitol has a protective effect on testicular torsion: An experimental rat model. *J Pediatr Urol.* 2016 Jun;12(3):167 e1-8. PubMed PMID: 26879410. Epub 2016/02/18.
6. Zhou XL, Yang QS, Ni SZ, Tu XP, Zhao Y, Xu B, et al. Protective effects of lipoxin A4 in testis injury following testicular torsion and detorsion in rats. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:898056. PubMed PMID: 24904198. Pubmed Central PMCID: PMC4034656. Epub 2014/06/07.
7. Ozkisacik S, Yazici M, Gursoy H, Serter M, Culhaci N. The effects of short-interval postconditioning in preventing testicular ischemia-reperfusion injury in rats. *J Pediatr Surg.* 2011 Mar;46(3):546-50. PubMed PMID: 21376207. Epub 2011/03/08.
8. Yazdani I, Ghazi-Khansari M, Saeedi Saravi SS, Nobakht M, Majdani R, Rezayat SM, et al. Nortriptyline protects testes against germ cell apoptosis and oxidative stress induced by testicular ischaemia/reperfusion. *Andrologia.* 2017 Mar;49(2). PubMed PMID: 27147301. Epub 2016/05/06.
9. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med.* 2013 Jun;4(6):624-30. PubMed PMID: 23930179. Pubmed Central PMCID: PMC3733029. Epub 2013/08/10.
10. Oktar T, Kucukdurmaz F, Erdem S, Kilicaslan I, Ceylan C, Sanli O, et al. Tunica albuginea decompression fails to alter the injury of prolonged arterial occlusion during testicular torsion. *The Journal of urology.* 2013 Jul;190(1):239-43. PubMed PMID: 23313196. Epub 2013/01/15.

KISIM 9

ÜRİNER SİSTEM ENFEKSİYONLARI İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: Hakkı Mete ÇEK

Enfeksiyon Modellerinin Tarihçesi

46

Hakkı Mete ÇEK, Orhun SİNANOĞLU

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) eski çağlardan beri bilinen hastalıklardandır; Milat'tan önce 1550 yıllarında yazılı olarak Ebers Papirüslerinde tanımlanmıştır (1). Bir belgede sistit hastalığı, Mısırlılar tarafından "mesaneden dışarıya kızgınlık çıkışı" olarak tarif edilmiştir (2). Antibiyotiğin geliştirildiği 1930'ların öncesinde ÜSE'de etkili bir tedavi ve tanı yöntemi mevcut değildi, bitkisel uygulamalar ve kan akıtma gibi yöntemler uygulanmaktaydı (1). Enfeksiyöz patoloji gibi bir tıbbi disiplinin geliştirilmesinde, çeşitli basamaklarda en önemli katkılar hayvan modelleriyle olmuştur. Bu deneysel modeller, insan enfeksiyon etmenlerinin anlaşılmasını sağlayan uzun bir tarihsel gelişmeden sonra kurulabilmiştir. Enfeksiyon hastalıklarında deneysel hayvan çalışmaları, kitlesel sağlık sorunlarına yol açan çiçek hastalığı, kızamık, veba, sıtma, syphilis, tuberküloz ve menenjit etkenleri ile ilgili olarak ÜSE araştırmalarından çok daha önceki yıllarda başlamıştır. ÜSE deneysel çalışmaları 19. Yüzyılın sonunda önce tavşan modellerinde başlamıştır. Koliform basilin idrar yolunda oluşturduğu lezyonlar ile ilgili ilk bildirilmiş deneysel çalışma, 1888 yılında Albarran ve Hallé tarafından yapılmıştır. Bu araştırma-

cılar mesane içine bir bakteri emülsiyonunun enjeksiyonu ardından tavşan üretrasının bağlanması ile sistitin meydana geldiğini bulmuşlardır. Benzer bir sonuç, idrar akışının obstrüksiyonu olmaksızın da elde edilmiş, ancak mesane mukoza zedelenmesinin, idrar enjekte edildiği anda mesaneye yabancı bir cismin de sokulmasıyla oluşabildiği görülmüştür. Ayrıca, üreter içine mikroorganizmalar enjekte edildikten sonra bu üreter bağlanarak tek taraflı piyelonefrit oluşturulmuş ve işlem yapılmayan karşı böbrekte de piyelonefrit geliştiği gösterilmiştir (3).

Yine aynı yıllarda Hess, o güne kadar kullanılmış olan tüm deneysel yöntemleri yeniden araştırmış ve 1913'de tavşan mesanesine veya üretrasına herhangi bir müdahale olmadan intraüretral basil enjeksiyonu ile geçici bir sistit meydana getirmiştir. Üriner sistemin erken dönem deneysel enfeksiyonları ile ilgili çalışmaları sırasında, Guyon ve Albarran'ın 1890'da, Brewer'ın 1911'de, daha sonra Lepper'ın 1921'de gösterdiği gibi, enfekte olmuş böbreğin ağır hasar görmesinde mekanik obstrüksiyon etmeninin önemli rol oynadığı kabul edilmiştir (5). 1918'de David, "Obstrüksiyonsuz bir mesanede, enfeksiyonun mesaneden yukarı seviyelere

geçmesiyle, üst idrar yolunu enfekte etmenin mümkün olduğu sonucu"na vardığı bir dizi deney yaptı (6).

Brown ve Pearce in 1920-21'de yaptığı çalışmalarda tavşan testisleri içine aşılanmış sifilis enfeksiyonu, insan sifilisinin birincil ve ikincil aşamalarını kusursuz bir şekilde taklit etmiştir günümüzdeki mevcut trepanoma pallidum enfeksiyon patofizyolojisine dair bilginin çoğu bu deneysel modelden kaynak almıştır (5).

1950-1980 yılları arasında ÜSE hayvan çalışmalarının çoğu, ekonomik ve teknik nedenlerle ratlarda gerçekleştirilmiştir. Rat temini ve bakımının kolay olması, boyutundan dolayı manipülasyona elverişli olması, ÜSE indüklemenin kolay olması, ve ürotelyuma bakteriyel adezyonun, lokal ve sistemik immün yanıtlarının ve histopatolojinin değerlendirilebilmesi için çok sayıda rat kurbanı edilebilmesi, bu modelin yaygınlaşmasına neden olmuştur. Aşılama ve antibiyotik tedavisinin, bakteriyel ve konakçı faktörlerin ÜSE gelişimi üzerindeki etkileri rat modellerinde çalışılmıştır. Mesane enfeksiyonu rat modelinde mesaneye transüretal ve direkt inokülasyon (açık cerrahi) ile uygulanmıştır. Vivaldi ve ark., 1959'da normal koşullardaki ratlarda asendan enfeksiyon oluşturdıklarını göstermişlerse de, çoğu araştırmacı rat idrar torbasını enfeksiyona duyarlı hale getirmek için çeşitli manipülasyonları kullanmak zorunda kalmıştır (6). Bu manipülasyonlar, mesane çıkışının bakteriyel inokülasyon sonrası belli bir süre bloke edilmesi, üreteral reflüyü artırmak için mesane masajı, bakteriyel bulanmış agar topakları ve poliakrilamid küreciklerinin mesaneye koyulması, inoküle sünger cisimlerinin ve tel parçaların mesaneye yerleştirilmesi, cerrahi olarak mesane divertikülü oluşturulması gibi yöntemlerdir (7-9).

Ratlar idrar yolu enfeksiyonlarına dirençli olduğundan, çalışmaların çoğunda bakteriyel inokülasyondan 2-4 saat sonra devam eden

bakteriüriye neden olacak şekilde üretral meatus klemplenerek tıkanmıştır. Farklı araştırmacılar, parafin, metal klip veya bir hemostat ile üretra çıkışını bloke etmişlerdir (8,9). Bir çok başka kemirgen ve hayvan modelinde olduğu gibi, ratlarda da doğal yoldan ÜSE gelişmemesi, ÜSE'ye dirençli olmaları, farklı introitus yapısına sahip oluşları, üriner enfeksiyon yokluğunda da doğal fizyolojik vezikoüreterik reflülerinin olması, 1980'lerin başından itibaren, rat enfeksiyon modelinin ideal model olmadığını ortaya koymuştur (10).

Aynı dönemde moleküler çalışmaların ilerlemesi sayesinde, E. coli suşlarının insan ve fare üroepitelyal hücrelerine bakteriyel bağlanmasının özgülüğü ve yoğunluğunun benzer olduğu anlaşılacak şekilde fare ÜSE deney modelleri kullanılmaya başlanmıştır (11, 12). İnsan ÜSE'lerinin ilk fare modeli 1975'te Kalmanson ve ark. tarafından bildirilmiştir. 1982'de Iwahi ve ark., 1983'te Hagberg ve ark., 1985'te O'Hanley ve ark. ve son olarak 2009'da Hung ve ark.'nın, bu orijinal fare ÜSE modeli üzerinde yaptığı iyileştirmeler ve uyarlamalar, bu modelin insandaki ÜSE patofizyolojisini nasıl yansıttığını tanımlamaya yardımcı olmuştur. Fare modelleri kullanılmaya başladıktan sonra memeli ÜSE'lerinin başlangıcı, ilerlemesi ve tedavisi hakkında çok şey öğrenilmiştir. Fareler, kolayca temin edilebilen reaktifler ve mediyatörler ile kullanılabilir. Günümüzde tek gen fonksiyonunu incelemek için genetiği değiştirilmiş türler ayrıca önemli faydalar sağlayarak ve giderek artan şekilde ÜSE patogenezi çalışmaları için kullanılmaya başlamıştır. Son olarak bugüne kadar çoğunlukla kemirgenler ÜSE modeli olarak kullanılsa da bazı özel araştırmalar için 20. Yüzyılın başından bugüne kadar zaman zaman köpek ve domuz araştırma modelleri kullanılmıştır. Büyük hayvan ÜSE modellerinde, bu hayvanların serum, gövde ve organ hacimlerinin yüksek olması avantajıyla antibiyotiklerin ürogenital

organlardaki dağılımı, farmakokinetiği ve farmakodinamiği, üriner sistemde yapılan cerrahi manipülasyonların konak enfeksiyon cevabına etkileri, üriner sisteme yerleştirilen kateter ve protezlerin enfeksiyon komplikasyonları değerlendirilmiştir.

Kaynaklar

1. A-Achi, Antoine. An introduction to botanical medicines: history, science, uses and dangers. Westport, Conn.: Praeger Publishers. 2008 p.126.
2. Wilson, (general ed.: Graham Topley and Wilson's Principles of bacteriology, virology and immunity: in 4 volumes(8. ed.). London: Arnold.1990 p.198.
3. Albarran, J., and Hall N, " Note sur une bacterie pyogene et son role dans l'infection urinaire," Bull. Acad. de Med., Paris, 3rd Series, 1888, tome xix.-xx. p. 310.
4. Hess, Untersuchungen uber die Bakt. coli-Infektion der Harnorgane," Mitteil a. der Grenzgeb. d. Med. u. Chir., 1913, Bd. xxvi. S. 1355-
5. A Contrepoids and A.M. Moulin. Early history of animal models of infection, Handbook of Animal Models of Infection 1999. Elsevier Ltd.
6. David V. C. "Ascending Urinary Infections, an Experimental Study," Surg. Gyn. and Obstet., 1918, vol. xxvi. p. 159.
7. Vivaldi, E., Cotran, R., Zangwill, D. P., Kass, E. H. (1959) Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non-obstructive pyelonephritis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 102,242-244.
8. Fader, R. C., Davis, C. P. (1980) Effect of piliation on Klebsiella pneumoniae infection in rat bladders. Infect. Immun., 30, 554-561.
9. Balish, M. J., lensen, I., Uehling, D. T. (1982) Bladder mucin: a scanning electron microscopy study in experimental cystitis. J. Urol., 128, 1060-1063.
10. Jensen J, Balish E, Mizutani K,Uehling DT.J Urol. Resolution of induced urinary tract infection: an animal model to assess bladder immunization1982 Jun;127(6):1220-2.
11. Hagberg L, Engberg I, Freter R, Lam J, Olling S, Svanborg Edén C. Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic Escherichia coli of human origin. Infect Immun. 1983 Apr;40(1):273-83.
12. Johnson, D. E., Russell R. G., and Warren J. W. 1996. Animal models of urinary tract infections, p. 377–405. In H. T. L. Mobley and J. W. Warren (ed.), Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management. ASM Press, Washington, D.C.
13. Kalmanson GM, Harwick HJ, Turck M, Guze LB. (1975). Urinary-tract infection: localisation and virulence of Escherichia coli. Lancet 1: 134–6
14. Iwahi T, Abe Y, Tsuchiya K. (1982). Virulence of Escherichia coli in ascending urinary-tract infection in mice. J Med Microbiol 15: 303–16.
15. Hagberg L, Engberg I, Freter R, et al. (1983). Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic Escherichia coli of human origin. Infect Immun 40:273–83.
16. O'Hanley P, Lark D, Falkow S, Schoolnik G. (1985). Molecular basis of Escherichia coli colonization of the upper urinary tract in BALB/c mice. Gal–Gal pili immunization prevents Escherichia coli pyelonephritis in the BALB/c mouse model of human pyelonephritis. J Clin Invest 75:347–60.
17. Hung CS, Dodson KW, Hultgren SJ. (2009). A murine model of urinary tract infection. Nat Protocols 4:1230–43.
18. Frimodt-Møller PC, Dørflinger T, Madsen PO. Distribution of ciprofloxacin in the dog prostate and various tissues. Urol Res. 1984;12(6):283-6.
19. Shimizu T, Harada K, Manabe S, Tsukamoto T, Ito N, Hikasa Y. Assessment of urinary pharmacokinetics and pharmacodynamics of orbifloxacin in healthy dogs with ex vivo modelling. J Med Microbiol. 2017 May;66(5):616-621. doi: 10.1099/jmm.0.000476. Epub 2017 May 4.
20. Coulthard MG1, Flecknell P, Orr H, Manas D, O'Donnell M. Renal scarring caused by vesicoureteric reflux and urinary infection: a study in pigs. Pediatr Nephrol. 2002 Jul;17(7):481-4. Epub 2002 Jun 6.

Kateter Kullanımına Bağlı Asendan Enfeksiyon

47

Adem FAZLIOĞLU, Orhun SİNANOĞLU

Üriner sistem enfeksiyonları (ÜSE) klinik uygulamada en sık gözlenen enfeksiyonlar arasındadır, ÜSE'lerin çoğu şiddetli olmaktan uzaktır. Ancak, böbrekler enfeksiyona dahil olduğunda, geri dönüşü olmayan böbrek dokusu hasarı ve artmış bir bakteriyemi riski vardır (1). Sistit tedavileri konusunda, özellikle bir dizi antibiyotik ile kısa süreli tedavi ile ilgili farklı stratejiler yerleşmişken, piyelonefrit tedavisinde hem tedavi süresi ile ilgili fikir birliği yoktur, hem de piyelonefrit tedavisinde başarısızlık oranı ile %30'lardadır (2). Son birkaç on yılda obstrüksiyonsuz üriner sistem enfeksiyon fare modelleri, bakterinin üriner sistemi asendan olarak kolonize etmesini sağlayan faktörleri incelemek için kullanılmıştır (3, 4). Fareler, bu enfeksiyon modelleri için seçilmiştir, çünkü insanlardaki ÜSE'ye neden olan aynı bakteriyel özelliklerin çoğuna karşı hassas görünmektedirler, buna ilaveten fare dışındaki kemirgenlerde, doğal veziköüretal reflü, enfeksiyon olmadan da mevcuttur (5). Eskiden yapılan deneysel çalışmalarda, piyelonefrite yol açan asendan ÜSE, mesanenin laparotomik olarak açılıp etiyolojik faktörün üriner sisteme uygulanması, böbrek parankimine doğrudan veya intravenöz enjeksiyonla verilmesi ile indüklenmiştir (6). Ancak

bu yöntemlerle kontaminasyon ve/veya komplikasyon oranları yüksektir. Asendan piyelonefrit indüksiyonu için transüretal inokülasyon fare modeli, insanlarda üst ÜSE patogenezini doğru bir şekilde taklit eder. Güncel fare modelinde, anestezi dışındaki tek invaziv prosedür, komplikasyon riskini en aza indiren üriner kateterizasyonudur. Prosedürün minimal invazivitesi ve organ hasarı olmaması nispeten düşük morbiditeye neden olur. Üriner sistem asendan invazyon fare modelindeki koşullar birçok yönden, idrar sondası olan hastalardakine benzerdir. Bu fare modelindeki yabancı cisim, idrar sondalarına benzer olarak lümeni ve dış yüzeyi polietilen olan bir borudur (7). İnsan üriner kateterlerinde olduğu gibi, polietilen tüpün lümen yüzeyini kolonize eden organizmalar, konağın bakteriyel savunma mekanizmalarından kaçabilirler. Aşağıda asendan üriner ve kateter enfeksiyonları fare modelinin gereç ve yöntemlerinden bahsedilmiştir.

Hayvan türleri

6-8 haftalık 20-22 gr'lık dişi Albino fareler kullanılır. Erkek fare üretrası kateterizasyona engel olduğundan sadece dişi fare kullanılır. Özel konaklama koşulları veya bakım gerekmemek-

tedir. Deney öncesi bakteriüri olup olmadığını anlamak için idrar örneği alınıp kültüre gönderilir. Hayvanların spontan işedikleri idrar da alınabilir ancak bu durumda periüretral alandan kontaminasyon nedeniyle yalancı pozitiflik çok olur.

Kısa dönem kalıcı kateter modeli

Fareler, izofluran veya methoksifluran inhalasyonu ile induksiyon sonrası intraperitoneal 50 mg / kg pentobarbital (0.04-0.05 ml 25 mg / ml pentobarbital solüsyonu) ile anestezi edilir. Hayvanlar 5 dakika içinde anesteziye cevap verirler ve 20-30 dakika süreyle anestezi altında kalırlar. Özellikle pentobarbital kullanımı sırasında hipotermiden korunma önemlidir. Ketamin (200 mg/kg i.m.) + xylazine (10 mg/kg i.p.) pentobarbitala alternatif olabilir. Anestezi yapılan fareler sırtüstü tespit edilir, periüretral alan povidon iyodin ile solüsyonu ile temizlenir, steril su ile yıkanır. Belli sayıda 4 mm uzunluğunda (bir radyopak şerit veya başka bir siyah işaretli) ve 25 mm uzunluğundaki bir polietilen kateter segmenti oluşturulur (iç çapları 0.28 mm dış çapları 0.61 mm olmalıdır) ve bu kateter segmentleri 50 mm uzunluğunda, 0.25 mm çapında metal stileler üzerine geçirilir. Kateter segmentleri mesaneye sokulmadan önce etilen oksit ile sterilize edilir ve manipüle edilirken sterilitte korunur. Dört mm uzunluğundaki kateter segmentinin stilenin uç kısmından biraz fazla çıkması sağlanır ve 25 mm uzunluğundaki segment forseps ile stile üzerinde tutularak, 4 mm uzunluğundaki segmentin dibine oturmasını sağlamak için özen gösterilir (Resim 1A). Üretral mea forseps ile nazikçe kavranır, vücuda paralel olacak şekilde hafifçe öne doğru çekilir. İyi bir görme sağlamak için binoküler luplardan yararlanır. 4 mm uzunluğundaki kateter segmentinin içine sokulan stilenin ucu nazik ve dikkatli bir şekilde üretra içine hafif bir açıyla yerleştirilir ve daha sonra pelvik kavisin

altından hayvan vücuduna paralel olarak hareket ettirilir. Tüm aparat en uç kısım mesanede olana kadar ilerletilir (Resim 1B). İşlem sırasında direnç hissedilmemelidir, eğer direnç varsa, aparat geri çekilir, pozisyon yeniden ayarlanır. 25 mm uzunluğundaki kateter daha sonra stile üzerinde, 4 mm uzunluğundaki segmenti mesaneye itmek için stile boyunca ilerletilir (25 mm lik parça itici olarak, stile ise kılavuz olarak kullanılır, Resim 1C). 25 mm uzunluğunda kateter segmenti ile birlikte stile, 4 mm'lik segmentleri mesanede serbest bırakarak çıkarılır (Resim 1D).

Uzun dönem kalıcı kateter modeli

Uzun dönem modelde, 4 mm'lik kateter tek bir sütünle mesaneye sabitlenir. Fareler anestezi altında iken abdomen povidon iyodin ve alkolle dezenfekte edilir, orta hat insizyonu ile mesane açılır. Saydam yapıdaki mesane duvarından siyah çizgilerle işaretlenmiş 4 mm'lik kateteri görüp 5/0 propilen sütün mesane duvarından ve kateter lümeninden geçirilir (Resim 1E), tekrar mesane duvarından çıkarılır, 4 mm lik ve mesanenin serozal tarafına yerleştirilen ikinci bir kateterden geçilir ve gevşek olarak bağlanır (Resim 1F). İkinci kateter segmenti sütünün mesane duvarının serozal tarafına erozyonunu önlemek için kullanılır. Bu işlem yapılırken mesane düz forsepsle nazikçe kavranmalı ve kateter segmenti mesane içinde stabil tutulmalıdır. Mesane ve kateterden 5/0 sütün geçerken çok dikkatli olunmalı, çünkü kateter kolaylıkla mesaneyi yırtabilir. Prolen sütün mesane duvarının karşı tarafında yavaşça çekilirken mesanenin serozal yüzeyine karşı ikinci bir forseps kullanılır; yerinde bağlanmadan önce çekme yapmanın diye bir hemostat sütün materyalinin serbest ucuna bağlanır. Mesane abdomene geri bırakılır, kas ve fasya 5/0 vikril sütün ile matris olarak kapatılır; cilt 9 mm paslanmaz çelik staplerle kapatılır. Cerrahi sonrasında fareler 37.4

derecede tutulan temiz kafeslere döndürülür. Prosedür sırasında girmiş olması mümkün mikroorganizmaları engellemek için 0.5 mg/ml konsantrasyonda olmak üzere hayvanların içme sularına 7 gün boyunca ampisilin konulur. Yedi gün sonra staplerler alınır. Postop 2. haftada mesaneler artık histolojik olarak normaldir ve fareler deneye hazırdır.

Bakteri hazırlığı ve inokülasyon işlemi

Fareleri enfekte etmek için kullanılan *E. coli*, filtre sterilize edilmiş insan idrarında üremiş ve üç kez pasaj yapılmış olmalıdır. 10^{10} CFU/ml. Bakteri $37^{\circ}C$ 'de inkübe edilir, 200 devir/dakika gece boyunca çevrilir sonrasında 10 dakika boyunca 6,500 3 g'de santrifüjlenir. Pellet, fosfat tamponlu izotonik (PBS) içinde yaklaşık 10^{10} CFU / ml. konsantrasyonda süspansiyon haline getirilir. *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* uygulanacaksa patojenlerin hazırlığı için mikrobiyoloji anabilim dalı ile koordinasyon uygun olacaktır.

Fareler 50 mg/kg pentobarbital i.p ile anestezi edilirler ve supin konumlandırılırlar. Perüretal alan povidon iyodin ile temizlenir. 25 mm uzunluğundaki polietilen kateter daha önce açıklandığı gibi üretraya sokulur. Bu katetere uyacak çapta hipodermik iğne kateter açıklığına sokulur, iğne uzatma tüpüne bağlanır bu tüp de 1 ml lik enjektöre bağlanır, buradan 30 saniye içinde 50 mikrolitre inokulum verilir. Kateter hemen çekilir hayvanlar kafeslerine döndürülür.

Enfeksiyon takibinde ana parametreler

İdrar yolu enfeksiyonu, mesane ve böbrek homojenatlarının kantitatif kültürleri ve histolojik

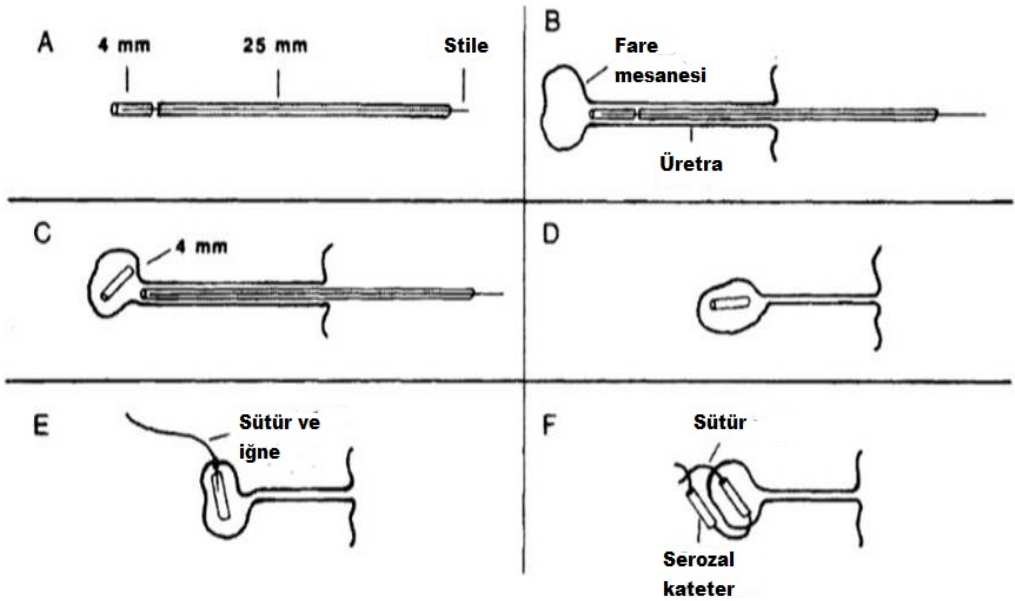
değişiklikleri değerlendirmek için mesane ve böbrek bölümlerinin açık bir şekilde incelenmesiyle belgelenir. Üropatojenler idrar yolunda 2 hafta veya daha fazla kalıcı olur ve mesane ve böbreklerde histolojik değişiklikler gözlenir. Mesanede kateter segmentlerinin varlığı, üropatojenlerin kalıcılığını uzatır ve histolojik değişiklikleri yoğunlaştırır. İdrar kültürlerinin sonuçları idrar yolu enfeksiyonu ilerlemesini değerlendirmek için uygun değildir. Enfeksiyonun idrar yolunun dışında yayılması, kandaki kantitatif kültürler ve / veya karaciğer ve / veya dalak homojenleri ile belgelenebilir. *P. mirabilis* ile yapılan çalışmalar haricinde, mortalite genellikle bir sonlanma noktası değildir ve diğer patojenlerle oluşturulan enfeksiyonda böbrekteki mikroorganizma sayımı 10 s cfu / g'yi aşan olan fareler genellikle normal olarak görünmektedir.

Antibiyotik tedavisi

Model, antimikrobiyal tedavinin kateter ilişkili idrar yolu ve asendan üriner enfeksiyonların üzerindeki etkisini değerlendirmek için en iyi koşulları sunmaktadır. Oral bileşikler, fare içme suyuna eklenebilir veya intragastrik infüzyon yoluyla uygulanabilir. Deri altı, kas içi ve intravenöz uygulama yolları da kullanılabilir.

Bu modelin artıları ve eksileri

Kısa dönem modelini kurmak daha az zaman alıcıdır, ancak normal işeme ile zaman içinde kateter segmentlerinin eliminasyonunu dezavantajına sahiptir. Uzun süreli modelde mesane lümenindeki kateter segmentinin güvenli hale getirilmesi zaman alıcıdır (deneyimli bir teknisyen tarafından günde 15 hayvan), ancak segment 1 yıla kadar yerinde kalır.



Resim 1. Fare mesanesine kateter segmentinin yerleştirilmesi

A. Kateter segmenti stile üzerine geçirilir. **B.** Aparat üretraya sokulur distal uç mesaneye ilerletilir. **C.** 25 mm uzunluğundaki kateter segmenti, stile sabitken, üzerinden ilerletilerek, 4 mm lik segment mesaneye itilir. **D.** Önce stile sonra 25 mm uzunluğundaki kateter segmenti üretradan çıkartılır, 4 mm lik segment mesanede bırakılmış olur. **E, F.** Orta hat kesisi ile mesane ortaya çıkarılır, mukozal ve serozal segmentler sütürle sabitlenir (8).

Kaynaklar

- Bergeron, M. G. Treatment of pyelonephritis in adults. *Med. Clin. N.Am.* 1995 75:619–649.
- Hvidberg H, Struve C, Kroghfelt KA, Christensen N, Rasmussen SN, Frimodt-Møller N. development of long term ascending urinary tract infection mouse model for antibiotic studies *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Jan;44(1):156–63.
- Hagberg, L., I. Engberg, R. Freter, J. Lam, S. Olling, and C. Svanborg-Edén. Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic *Escherichia coli* of human origin. *Infect. Immun.* 1983.40:273–283.
- Johnson, J. R., and J. C. Manivel. Vesicoureteral reflux induces renal trauma in a mouse model of ascending, unobstructed pyelonephritis. 1991. *J. Urol.*145:1306–1311.
- Johnson, D. E., R. G. Russell, and J. W. Warren. 1996. Animal models of urinary tract infections, p. 377–405. *In* H. T. L. Mobley and J. W. Warren(ed.), *Urinary tract infections: molecular pathogenesis and clinical management.* ASM Press, Washington, D.C.
- Vivaldi, E., Cotran, R., Zangwill, D. P., Kass, E. H. Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non-obstructive pyelonephritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1959 102,242–244.
- D.E. Johnson and C. V. Locketell *Handbook of Animal Models of Infection* 1999
- Johnson, D. E., Locketell, C. V., Hall-Craggs, M. and Warren, J. W. Mouse models of short- and long-term foreign body in the urinary bladder: analogies to the bladder segment of urinary catheters. *Lab. Anim. Sci.*, 1991. 41,452

Akut Sistit

48

Fatih Osman KURTULUŞ

Sağlıklı bir üriner sistem, bakteriyel invazyona oldukça dayanıklıdır. Buna rağmen üriner sistem enfeksiyonları insanlarda oldukça sık görülmektedir. Üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC), tüm tanı konulan üriner sistem enfeksiyonlarının (ÜSE) çoğuna neden olur ve hem toplum kökenli hem de sağlık kurumları ile ilişkili ÜSE'lerin önde gelen nedenidir (1). Mea ya da vajen mukozasında kolonize olan mikroorganizmalar üretradan asendan yolla mesaneye ulaşmaktadır. UPEC, mesanede (sistit) ve böbreklerde (piyelonefrit) hastalığına neden olan en belirgin hastalık etmenidir. Geçmiş yıllarda fareler, sıçanlar, tavşanlar, domuzlar, köpekler ve maymunlar kullanılarak sistit ve piyelonefrit hayvan modelleri geliştirilmiştir (2).

Araştırmacılar ekonomik ve teknik sebeplerden dolayı genellikle normal sıçanlarda üriner sistem enfeksiyon modeli oluşturmayı denemişlerdir. Sıçan üriner sistemi enfeksiyona dirençli olduğundan, mekanik üretral oklüzyon, mesane masajı, agar topaklarıyla üretra tıkanması gibi manipulasyonlar ile üretral obstrüksiyon sağlayarak enfeksiyon oluşturabilmişlerdir (3). Sonraki yıllarda başka hayvan modelleri incelenirken fare ÜSE modelinin

insandakinin analogu olduğu tespit edilmiştir. Fare modelleri kullanılmaya başladıktan sonra memeli ÜSE'lerinin başlangıcı, ilerlemesi ve tedavisi hakkında çok şey öğrenilmiştir. Kısacası, çeşitli özelliklere sahip dişi fareler geçici olarak anestezi edilebilir ve üropatojenler kateterizasyon yoluyla mesaneye iletilebilir. Deneyimli ellerde, her fare için sadece 2–3 dakikaya ihtiyaç duyulan prosedürün ardından, hayvanlar kan ve idrar alınarak ayrıca klinik olarak izlenebilir. Fareler, enfeksiyonu takiben belirlenmiş zamanlarda sakrifiye edilir ve vücut sıvıları (kan ve idrar) ve organlar (böbrekler ve mesane) alınır, çok çeşitli hücresel ve çözünür analizler yapılır (örneğin, bakteriyel yükler, doku mikroskopisi, histoloji, lökosit ve doku popülasyonları, serum sitokinleri) (4). Mesane yapısı ve hücresel bileşimi insan mesanesininkine çok benzer olduğundan fareler, memeli sistiti için arzu edilen bir model sistemini temsil eder. İnsan ÜSE'de olduğu gibi, mesane epitelyumuna bakteriyel bağlanma, tip 1 pilus olarak bilinen bir heteropolimerik bakteri yüzey fibri ile olur (5). Üriner sistem enfeksiyon modeli üzerindeki son çalışmalarda UPEC'nin sadece bağlanmadığı aynı zamanda yüzeyel mesane epitelyal hücrele-

ri invaze ettiği gösterilmiştir. Buna ek olarak fare sistitinde *Staphylococcus saprophyticus*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Salmonella enterica* dahil olmak üzere diğer yaygın üropatojenlerle de mesane epitelyal hücrelere invazyon gözlemlenebilir (6-8). Enfeksiyon gelişiminin başlangıcı, idrarın birikmesi sırasında mesane yüzey alanını düzenlemek için normal olarak apikal membranın içine ve dışına hareket eden Rab27b-pozitif fuziform vesiküller içine UPEC alınmasını içerir. Bu vezikül trafiğinin bir başka sonucu olarak, hücre içine alınmış bakterilerin bir kısmı ekzositoz yoluyla lümen boşluğuna geri döndürülür (8-9). Hücre içine alınmış UPEC'in bir kısmı daha sonra sitoplazmaya sınırsız erişim kazanır ve klonal, biyofilm benzeri hücre içi bakteriyel toplulukları oluşturarak klonal formda üssel olarak büyür ve yüzeyel epitel hücrelerinin mesane lümenine çıkıntı yapmasına neden olur (10). Gelen fagositler (büyük ölçüde nötrofiller), enfekte olmuş hücrelere kilitletlenir, ancak içindeki çoğalan bakterilere erişemezler (11). Bunu takiben, hücre içi bakteriyel topluluk periferindeki bakteriler, enfekte olmuş hücreden çıkıp, fagositoza dirençli basil veya filamentöz biçimi yeniden kazanırlar ve sağlam epitel hücrelerini enfekte etmeye veya işemeye konağı terketmeye devam ederler (12). Bu arada, enfekte epitelyal hücreler apoptoza uğrayabilir ve idrarla da atılabilir. (12-13). Genel olarak, hücre içi bakteri topluluğu, UPEC'e, humoral ve hücrel inflammatuar yanıt karşısında çoğalma için bir korunaklı liman sağlar. Farelerde hücre içi bakteri topluluğunun insan sistitine benzerliği, sistitli hastaların idrarındaki filamentli UPEC (ve diğer Gram-negatif üropatojenler) ve ekfoliyeli olmuş bakteri topluluğu taşıyan üroepitelyal hücrelerin tanımlanmasıyla desteklenir (14, 15). Fare kateterizasyon modeli, UPEC'in mesane ve böbreklerde bulunduğu inflammatuar yanıtı karakterize etmek ve UPEC'in konak yanıtlarını manipüle ettiği mekanizmaları ay-

dınlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (16).

Burada enfeksiyon mekanizmasını özetlemek gerekirse, lipopolisakkarit ve pili de dahil olmak üzere UPEC bileşenleri, konakçı epitelyum ve yerleşik lökositler üzerinde Toll-benzeri reseptörlere bağlanıp (esas olarak TLR4), NF- κ B'yi ve diğer sinyal yollarını uyararak, inflammatuar sitokinlerin lokal sekresyonunu (örneğin, IL-1, IL-6, IL-8) sağlayıp ve enfekte olmuş dokulara nötrofilleri çeker (17-19). Farelerdeki bu bulgular, tekrarlayan sistitli seçilmiş insan popülasyonlarında gösterilmiş olan TLR4 ve IL-8 reseptörlerindeki genetik polimorfizmlerle yakından ilişkilidir (20). Bakteriyel tarafta, UPEC'in, üroepitelyal hücrelerin pro-inflamatuar sitokin üretimini düşürdüğü ve üroepitelyumda nötrofillerin trafiğini azalttığı gösterilmiştir (21, 22, 23).

Son çalışmalarda, mesanede UPEC varlığının sebat etmesinin UPEC'in çok sayıda fenotipini ortaya çıkardığı gösterilmiştir. C57BL / 6 farelerinde, kateter inokülasyonu ile oluşturulan mesane enfeksiyonu, sonraki 2 hafta içinde hemen hemen tüm hayvanlarda kaybolur, ancak mesane epitelinde Lamp1 pozitif vesiküllerde görülebilen 4-8 organizmanın küçük yuvaları olarak ortaya çıkan, sessiz hücre içi UPEC rezervuarı kalıcı olur (24,25). Bu bakteriler, sistemik olarak uygulanan antibiyotiklere direnç gösterir, immün sistemin dikkatini çekmez ve fare konakçıda periyodik olarak yeniden canlanarak bakteriüri nedeni olur (26). C3H farelerinde yapılmış daha yeni çalışmalarda, bazı hayvanların akut enfeksiyonu ortadan kaldırdığını gösterirken, diğerlerinin devam eden hücrel inflamasyona sahip kronik, yüksek titreli sistit geliştirdiğini ortaya koyar. Bu model, konakçı immünolojik belirleyicilerinin akut sistitin rekürrens yapma eğilimi ile ilişkisini değerlendiren yeni anlayışlar kazandırmıştır (27,28). Sonuç olarak, akut sistit enfeksiyon süreçlerinin insaninkine çok benzer olması ne-

deniyle fare modeli, patojenik mekanizmaların keşfi ve ÜSE' larına karşı terapötik ve önleyici stratejilerin değerlendirilmesi için sürekli fırsat sağlamayı vaad etmektedir. İdrar; mesane dokuları, bakteri kültürü, histoloji, immünohistokimya, immünofloresan ve konfokal mikroskop, elektron mikroskobu ve flow sitometri ile analiz edilebilirken, serum; idrar ve mesane doku homojenatlarındaki birçok çözünür marker (örn. sitokinler) ELISA, Western blot, multiplex bead array ve diğer yaklaşımlarla profilenebilir.

Aşağıda fare sistit modelinin oluşturulması için gerekli gereç ve yöntemler özetlenmiştir

Bakteriler

Çalışmada kullanılan E. coli suşları ÜSE'li hastalardan izole edilmelidir.

Bakteriyel inokulumun hazırlanması

Fareleri enfekte etmek için kullanılan bakteriler filtre sterilize edilmiş insan idrarında üremiş ve üç kez pasaj yapılmış olmalıdır. 10^{10} CFU/ml. Bakteri 37°C ' de inkübe edilir, 200 devir/dakika gece boyunca çevrilir sonrasında 10 dakika boyunca 6,500 3 g'de santrifüjlenir. Pellet, fosfat tamponlu izotonik (PBS) içinde yaklaşık 10^{10} CFU / ml. Konsantrasyonda süspansiyon haline getirilir.

Hayvanlar

6-8 haftalık 20-22 gr'lık dişi Albino fareler kullanılır. Erkek fare üretrası kateterizasyona engel olduğundan sadece dişi fare kullanılır. Özel konaklama koşulları veya bakım gerekmemektedir. Fareler bir kafeste 6 tane olacak şekilde yerleştirilir, en az 24 saatliğine ortama alışmalarına müsaade edilir. Hayvanlar gereksinimleri halinde besin ve suya erişebilir konumda olurlar.

İnokülasyon işlemi

Bir vaporizatör ve indüksiyon haznesi kullanılarak %2-3 izofluran ile farelerde anestezi oluşturulur. Daha uzun işlemler için indüksiyon sonrası intraperitoneal 50 mg / kg pentobarbital (0.04-0.05 ml 25 mg / ml pentobarbital solüsyonu) uygulanabilir. Hayvanlar 5 dakika içinde anesteziye cevap verir ve 20-30 dakika süreyle anestezi altında kalır. Özellikle pentobarbital kullanımı sırasında hipotermiden korunma önemlidir. Ketamin (200 mg/kg i.m.) + xylazine (10 mg/kg i.p.) pentobarbitala alternatif olabilir. Anestezi yapılan fareler sırt üstü tespit edilir, periüretal alan povidon iyodin ile solüsyonu ile temizlenir, steril su ile yıkanır. Anestezi uygulanmış fareler, bakteriyel süspansiyon ile plastik kateterler kullanılarak transüretal yoldan inoküle edilir. Kateterler iki santimetre uzunluğundaki tüp parçalarından yapılır, tüpler bir gaz alevi üzerinde dikkatli bir şekilde eritilir, böylece uçları kapatılır ve pürüzsüz hale getirilir. Eriyen uçlara iğne ile delik açılır. Kateter segmentleri mesaneye sokulmadan önce sterilize edilir ve manipüle edilirken sterilite korunur. Mikroskop altında x10 büyütme ile üretral orifis lokalize edilir, kateter mesane kubbesine varacak şekilde horizontalde ilerletilir ve 0.05 ml bakteri süspansiyonu veziköüretik reflüye neden olmamak için 5 sn de enjekte edilir. Kateter hemen inokülasyon sonrası çıkarılır.

Doku Eldesi

Anestezi altında CO_2 ile boğulma yöntemi veya servikal dislokasyon ile fareyi ötenazi yapılır. Fare sırtüstü konulur ve karın %70 etanol ile spreylenebilir. Künt bir cerrahi makas ve ince forseps kullanarak, kaudal ventral karın forseps ile yukarı çekilir ve deri ve peritondan küçük bir kesim yapılır. Periton boşluğuna girildikten sonra, makas vücudun her iki tarafındaki kaburgalara kadar kesilerek karın içinde V şeklinde bir flep

yapılır. Flep kaldırılır, batın açılır. Bakteri sayımı ve sitokin analizi için gerekli doku homojenizasyonu, transkriptomik ve proteomik çalışmalar için mesane dokusunun sıvı azot içinde ani donmasının sağlanması, flow sitometri için tek tip hücreden oluşan süspansiyonların üretilmesi ve histopatolojik görüntüleme için doku fiksasyonu amacıyla mesane çıkartılır.

Kaynaklar

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon.* 2003; 49(2):53–70.
2. Johnson, D. E., Russell, R. G. (1997) Animal models of urinary tract infection. In: *Urinary Tract Infections* (ed. Mobley, H. L. T., Warren, T. W.), pp. 377–403. American Society for Microbiology Press, Washington, DC.
3. Vivaldi, E., Cotran, R., Zangwill, D. P., Kass, E. H. Ascending infection as a mechanism in pathogenesis of experimental non-obstructive pyelonephritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1959 102,242–244.
4. Thomas J. Hannan and David A. Hunstad A Murine Model for *Escherichia coli* Urinary Tract Infection *Methods Mol Biol.* 2016 ; 1333: 159–175.
5. Zhou G, Mo WJ, Sebbel P, Min G, Neubert TA, Glockshuber R, Wu XR, Sun TT, Kong XP. Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from in vitro FimH binding. *J Cell Sci.* 2001; 114(Pt 22):4095–4103. [PubMed: 11739641]
6. Szabados F, Kleine B, Anders A, Kaase M, Sakinc T, Schmitz I, Gatermann S. *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305 is internalized into human urinary bladder carcinoma cell line 5637. *FEMS Microbiol Lett.* 2008; 285(2):163–169. [PubMed: 18573154]
7. Rosen DA, Pinkner JS, Jones JM, Walker JN, Clegg S, Hultgren SJ. Utilization of an intracellular bacterial community pathway in *Klebsiella pneumoniae* urinary tract infection and the effects of FimK on type 1 pilus expression. *Infect Immun.* 2008; 76(7):3337–3345. [PubMed: 18411285]
8. Bishop BL, Duncan MJ, Song J, Li G, Zaas D, Abraham SN. Cyclic AMP-regulated exocytosis of *Escherichia coli* from infected bladder epithelial cells. *Nat Med.* 2007; 13(5):625–630. [PubMed: 17417648]
9. Eto DS, Sundsbak JL, Mulvey MA. Actin-gated intracellular growth and resurgence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Cell Microbiol.* 2006; 8(4):704–717. [PubMed: 16548895]
10. Anderson GG, Palermo JJ, Schilling JD, Roth R, Heuser J, Hultgren SJ. Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science.* 2003; 301(5629):105–107.
11. Justice SS, Hung C, Theriot JA, Fletcher DA, Anderson GG, Footer MJ, Hultgren SJ. Differentiation and developmental pathways of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(5):1333–1338.
12. Thumbikat P, Berry RE, Zhou G, Billips BK, Yaggie RE, Zaichuk T, Sun TT, Schaeffer AJ, Klumpp DJ. Bacteria-induced uroplakin signaling mediates bladder response to infection. *PLoS Pathog.* 2009; 5(5):e1000415.
13. Klumpp DJ, Rycyk MT, Chen MC, Thumbikat P, Sengupta S, Schaeffer AJ. Uropathogenic *Escherichia coli* induces extrinsic and intrinsic cascades to initiate urothelial apoptosis. *Infect Immun.* 2006; 74(9):5106–5113.
14. Robino L, Scavone P, Araujo L, Algorta G, Zunino P, Vignoli R. Detection of intracellular bacterial communities in a child with *Escherichia coli* recurrent urinary tract infections. *Pathog Dis.* 2013; 68(3):78–81.
15. Rosen DA, Hooton TM, Stamm WE, Humphrey PA, Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. *PLoS Med.* 2007; 4(12):e329.
16. Hunstad DA, Justice SS. Intracellular lifestyles and immune evasion strategies of uropathogenic *Escherichia coli*. *Annu Rev Microbiol.* 2010; 64:203–221.
17. Hagberg L, Hull R, Hull S, McGhee JR, Michalek SM, Svanborg Eden C. Difference in susceptibility to gram-negative urinary tract infection between C3H/HeJ and C3H/HeN mice. *Infect Immun.* 1984; 46(3):839–844.
18. Hedges S, Anderson P, Lidin-Janson G, de Man P, Svanborg C. Interleukin-6 response to deliberate colonization of the human urinary tract with gram-negative bacteria. *Infect Immun.* 1991; 59(1):421–427. [PubMed: 1987054]
19. Samuelsson P, Hang L, Wullt B, Irgala H, Svanborg C. Toll-like receptor 4 expression and cytokine responses in the human urinary tract mucosa. *Infect Immun.* 2004; 72(6):3179–3186.
20. Ragnarsdottir B, Jonsson K, Urbano A, Gronberg-Hernandez J, Lutay N, Tammi M, Gustafsson M, Lundstedt AC, Leijonhufvud I, Karpman D, Wullt B, Truedsson L, Jodal U, Andersson B, Svanborg C. Toll-like receptor 4 promoter polymorphisms: common TLR4 variants may protect against severe urinary tract infection. *PLoS One.* 2010; 5(5):e10734.
21. Loughman JA, Hunstad DA. Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase by uropathogenic bacteria attenuates innate responses to epithelial infection. *J Infect Dis.* 2012; 205(12):1830–1839.

22. Billips BK, Forrestal SG, Rycyk MT, Johnson JR, Klumpp DJ, Schaeffer AJ. Modulation of host innate immune response in the bladder by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2007; 75(11):5353–5360.
23. Hunstad DA, Justice SS, Hung CS, Lauer SR, Hultgren SJ. Suppression of bladder epithelial cytokine responses by uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2005; 73(7):3999–4006.
24. Mulvey MA, Schilling JD, Hultgren SJ. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect Immun*. 2001; 69(7):4572–4579.
25. Mysorekar IU, Hultgren SJ. Mechanisms of uropathogenic *Escherichia coli* persistence and eradication from the urinary tract. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103(38):14170–14175.
26. Schilling JD, Lorenz RG, Hultgren SJ. Effect of trimethoprim-sulfamethoxazole on recurrent bacteriuria and bacterial persistence in mice infected with uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2002; 70(12):7042–7049.
27. Hannan TJ, Mysorekar IU, Hung CS, Isaacson-Schmid ML, Hultgren SJ. Early severe inflammatory responses to uropathogenic *E. coli* predispose to chronic and recurrent urinary tract infection. *PLoS Pathog*. 2010; 6(8):e1001042. [PubMed: 20811584]
28. Hannan TJ, Totsika M, Mansfield KJ, Moore KH, Schembri MA, Hultgren SJ. Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic *Escherichia coli* bladder infection. *FEMS Microbiol Rev*. 2012; 36(3):616–648.

İnanç YILMAZ

İdrar yolu enfeksiyonları insanlarda en sık görülen enfeksiyonlardandır. Sıklıkla anatomik veya fonksiyonel anormalliklerle birlikte veya yalın olarak görülebilirler. İlk enfeksiyondan sonra tekrarlama olasılığı yüksektir. Kadınların %50'si hayatları boyunca en az bir defa İYE geçirecek ve %25 inde tedaviden sonra 6 ay içinde tekrar edecektir. Bu enfeksiyonların 2/3 ü ilk suşla ilişkili (büyük oranda E.coli) olacaktır (1). Üriner sistem enfeksiyonlarının oluşumu, kronikleşme süreci ve tedavisiyle ilgili ayrıntılı bilgiler edebilmek amacıyla deneysel modellere ihtiyaç vardır. Geçmişte özellikle sıçanlar daha yaygın olarak kullanılmış ve kronik sistit modelleri tanımlanmıştır. Sıçanların mesane duvarına sünger parçası implante ettikten bir süre sonra E.coli suşu kateterle mesane içine verilerek kronik sistit patojenezini anlamak için kültürler, immünolojik testler ve süngere komşu mesane dokusunda histolojik ve elektron mikroskopisi incelemeleri yapılabilmektedir. Fakat zaman içinde dişi farelerin sistit modeli oluşturma ve incelemesi için daha uygun olduğu ve insan mesanesine daha yakın bir model oluşturduğu görülmüştür (2).

İYE nin en sık etkeni E.coli'dir. Dişi farede üretral kateter yardımıyla mesaneyeye E.coli bu-

laştırılması iyi kurgulanmış bir deneysel sistit modelidir. Biraz tecrübelenmiş bir elde 2-3 dakika içinde oluşturulabilir. Son 10 yılda bu şekilde yapılan çalışmalarla bakteriyel sistitin patojenezi önemli ölçüde aydınlatılabilmektedir. E.coli adhezif tip 1 pili yardımıyla mesane epiteline (insanda olduğu gibi) bağlanır (3). Mesane epiteli hücre stoplazmasında çoğalan bir niş oluşturur. Bu şekilde sessiz hücre içi rezervuarlar oluşturarak kronik ve tekrarlayan enfeksiyonlara yol açar. Farelerin hemen hemen tümü 2 hafta içinde düzelir fakat mesane epiteli hücre içinde sessiz bakteri rezervleri oluşmuştur (4). Farklı mutant fare suşları kullanarak deneysel sistit modeli oluşturabilir, doku ve sıvılar üzerinde birçok teknikle ayrıntılı incelemeler yapabiliriz.

Hayvanlar

6-8 haftalık dişi Albino fareler kullanılır. Dişi farelerde üretral kateterizasyon daha kolaydır. 5-6'lı olarak ayrı kafeslere alınmalıdır. Üropatojen olarak UT189 ve UT189 SR (aynı suşun streptomisine dirençli bir türevi) E.coli suşları kullanılır (5). Tip 1 pilinin aktivasyonu için önce 37C de Luria bertani içinde 18-24 saat bekleti-

lir. Steril fosfat tamponlu salin (PBS) içinde yeniden süspansiyon edilir. Amaç 50 uL içerisinde 10^8 cfu bakteri sayısı elde etmektir (6).

Yöntem (7,8,9):

Bakteri İnokulumunun Hazırlanması:

İnokulumun hazırlanması için şunlara ihtiyaç duyulur;

Luria-Bertani (LB) et suyu: 1 g deiyonize (dl) su içinde 10 g tripton, 5 g maya özütü ve 10 g NaCl eritilir ve 121 ° C'de 30 dakika süreyle otoklavlanır.

LB agar plakaları: 1 L LB ortamına 16 g agar tozu ekleyin. 121 °C'de 30 dakika otoklavlayın ve ortamın 50-60 °C'ye soğumasını bekleyin. 100 x 15 mm plastik petri kaplarına yaklaşık 25 mL LB agar dökün.

Fosfat-tamponlu salin (PBS): 800 mL damıtılmış su, 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HPO₄, 0,24 g KH₂PO₄, pH'ı HCl ile 7,4'e ayarlayın, 1 litre toplam hacime kadar damıtılmış su ekleyin. 20 mL Luria-Bertani (LB) et suyunu tek bir UPEC kolonisi (Üropatojenik Escherichia coli) veya dondurulmuş bakteri stoku ile inoküle edin. 37°C'de 18-24 saat statik inkube edilir.

Oluşan kültür oda sıcaklığında 3000x g 10 dakika boyunca santrifüj edilip, 10 mL steril PBS içinde tekrar çözülür. Yıkamış kültürü 1:10 seyrelterek kültür absorbansını (OD₆₀₀: kültür miktarının içerdiği bakteri sayısı) normalize edin. Bu şekilde elde edilen UPEC suşu UTI89 için 50 uL inokulumda $1-2 \times 10^7$ koloni oluşturan ünite (CFU) elde edilmiş olur. Spotting yöntemini kullanarak bakteri sayımı yapıp, inokulumdaki bakteri sayısı doğrulanmalıdır.

İdrar Kateterlerinin Hazırlanması

İdrar sondaları steril olmalıdır. Bunun için bir ultraviyole lamba altında %70 etanol püskürtülmüş masa, çalışma yüzeyleri, eldiven ve aletler kullanılabilir. Steril bir bıçak veya makasla yeterli sayı ve uzunlukta polietilen boru (PE-10) kesilir. Boruların uçları kullanılacak enjektöre uyumlu değilse ısıtılarak uyumlu genişliğe ayarlanabilir. Veya üretraya kolay sokabilmek için kateterlerin uçları ısıtılarak yuvarlatılabilir.

Farelerin Bakterilerle İntravezikal İnokülasyonu

Mikroskop altında x10 büyütme ile üretral orifis lokalize edilir, bu esnada farenin karnına parmakla baskı yapılarak idrar gelmesi sağlanabilir. Kateter mesane kubbesine varacak şekilde pens yardımıyla ilerletilir ve 0,05 mL bakteri süspansiyonu veziköüretik reflüye neden olmak için 10-15 sn de enjekte edilir. İnsülin enjektörü kullanılması doz ayarlaması için daha kullanışlı olacaktır. Kateter hemen inokülasyon sonrası çıkarılır. Kateterler UV altında 30 dk bekletilerek daha sonra tekrar kullanılabilir.

Farede İdrar Analizi

Farelerde uzun süreli enfeksiyonlar için, enfeksiyonun seyri düzenli idrar analizi yaparak izlenebilmektedir. Bunun için fare kuyruğunun tabanından tutulup kafesten çıkartılır. Farenin sırtı kafese dayandıktan sonra farenin karın bölgesinden parmakla suprapubik baskı uygulanır. Bu esnada diğer bir kişi steril santrifüj tüpüne idrar numunesini alabilir.

Doku Hasatı için;

Sistit oluşturulduktan 2-4 hafta sonra fareler doku incelemeleri için sakrifiye edilebilir (4). Fareler anestezi altında CO₂ ile boğularak veya servikal dislokasyon ile sakrifiye edilirler.

Kaynaklar

1. Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Dis Mon.*2003;49(2):53–70.
2. D.J.OrmrodT.E.Miller. Chapter 56-Rat Model of Chronic Cystitis, *Handbook of Animal Models of Infection* 1999. Elsevier Ltd.
3. Zhou G, Mo WJ, Sebbel P, Min G, Neubert TA, Glockshuber R, Wu XR, Sun TT, Kong XP. Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from in vitro FimH binding. *J Cell Sci.*2001;114(Pt 22):4095–4103.
4. Justice SS, Hung C, Theriot JA, Fletcher DA, Anderson GG, Footer MJ, Hultgren SJ. Differentiation and developmental pathways of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.*2004;101(5):1333–1338.
5. Mulvey, M. A., J. D. Schilling, and S. J. Hultgren.2001. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect. Immun.*69:4572-4579.
6. Mulvey, M. A., Y. S. Lopez-Boado, C. L. Wilson, R. Roth, W. C. Parks, J. Heuser, and S. J. Hultgren.1998. Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science*282:1494-1497.
7. Hannan TJ, Mysorekar IU, Hung CS, Isaacson-Schmid ML, Hultgren SJ. Early severe inflammatory responses to uropathogenic *E. Coli* predispose to chronic and recurrent urinary tract infection. *PLoS Pathog.*2010;6(8):e1001042
8. Hannan TJ, Hunstad DA. A Murine Model for *Escherichia coli* Urinary Tract Infection. *Methods Mol Biol.*2016;1333:159-75
9. Hannan TJ, Totsika M, Mansfield KJ, Moore KH, Schembri MA, Hultgren SJ. Host-pathogen checkpoints and population bottlenecks in persistent and intracellular uropathogenic *Escherichia coli* bladder infection. *FEMS Microbiol Rev.*2012;36(3):616–648.

Akut ve Kronik Pyelonefrit

50

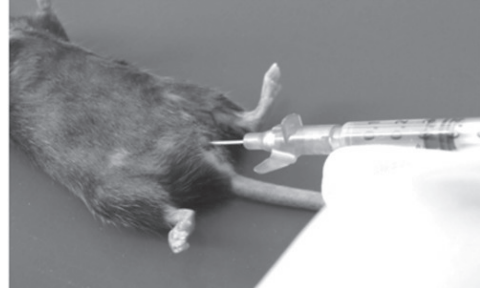
Oğuzhan PARLAKKILIÇ

Piyelonefrit böbreğin en sık enfeksiyonu olup kadınlarda daha sık görülmektedir. En sık etken, asendan yolla enfeksiyona sebep olan *E. Coli*'dir ve antibiyotik ile tedavi edilebilir (1). Renal skar pyelonefritin sık komplikasyonudur ve böbrek fonksiyon kaybına sebep olabilir (2). Sistit tedavileri konusunda farklı stratejiler yerleşmişken, piyelonefrit tedavisinde hem tedavi süresi ile ilgili fikir birliği yoktur, hem de piyelonefrit tedavisinde başarısızlık oranı yüksektir (3).

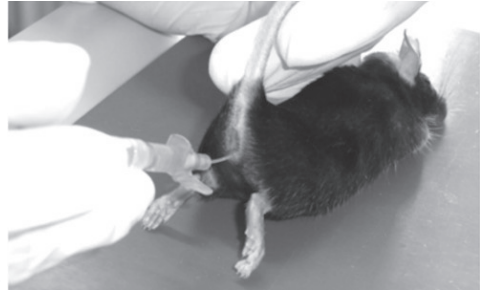
Fare modelinden önce yapılan deneysel çalışmalarında daha çok sıçanlar kullanılmaktaydı. Ancak sıçanlar insanlardan elde edilen bakterilere karşı dirençli olduklarından, piyelonefrit oluşturulması obstrüksiyon oluşturularak ya da böbreğe direk inokülasyon ile mümkün olmaktadır. Son birkaç on yılda obstrüksiyonsuz üriner sistem enfeksiyonu fare modelleri, bakterinin üriner sistemi asendan olarak kolonize etmesini sağlayan faktörleri incelemek için kullanılmıştır (4, 5). Fareler, bu enfeksiyon modelleri için seçilmiştir, çünkü insanlardaki üriner sistem enfeksiyonuna (ÜSE) neden olan bakterilerin çoğuna karşı hassas görünmektedirler.

Bu bölümde, üropatojenik *Escherichia coli* (UPEC) kullanarak farelerde piyelonefrit oluşturulması modeli basit bir şekilde tanımlanacaktır.

Farelerde piyelonefrit oluşturulması bakterinin transüretal yolla verilmesi ile sağlanmaktadır. Bu piyelonefrit oluşturma protokolü için, anatomik nedenlerden dolayı dişi fare gerekmektedir. Resimdeki farklı instilasyon prosedürleri uygulayıcıya en uygun metodu seçebilmesi için seçenekler sunar (Resim 1).



A



B

Resim 1. Piyelonefrit oluşturmak için bakteri instilasyonu

Piyelonefrit oluşturma ihtimalini artırmak için ilk instilasyondan 3 saat sonra ikinci bir instilasyon yapılmalıdır. Çünkü tek bir instilasyon ile piyelonefrit oluşturma ihtimali %16 iken, 3 saat aralarla yapılan iki instilasyon ile piyelonefrit oluşturulması ihtimali %84'e çıkmaktadır (6).

PIYELONEFRİTİN OLUŞTURULMASI

Bakteri stoğundan alınan UPEC, kültür ile hazırlanır ve optimal patojeniteyi sağlamak için çoğalmanın logaritmik evrelerine uyularak toplanır. Transüretal yolla 3 saat ara ile uygulanır.

Materyaller;

- Bakteri stoğu (Hazırlanması daha sonra anlatılacaktır)
- Luria broth (LB) medyum
- 200 mg/ml streptomycin sülfat tuzu
- Gliserol
- 2,2,2-Tribromoethanol
- Steril kayganlaştırıcı jel (Cathelijel)
- 250-ml steril düzgün yüzeyli konik şişeler
- Çalkalamalı inkübatör
- 50 ml'lik tüpler
- Işık mikroskobu
- 1 ml şırınga
- Fleksibl polietilen kateter (BD Vasculon Plus: 0.6 x 19 mm)

Bakteriyi hazırlama

1. Bakteri kültürü 250 ml'lik konik şişede, 50 µl streptomisin içeren 100 ml LB medium içine bakteri stok solüsyonundan 1×10^7 canlı bakteri inokülasyonu ile başlatılır.

Temel prosedür

- 2a. Bakteri çalkalayıcı inkübatörde 200 rpm hızda, 37 °C' de 5 saat inkübe edilir.
- 3a. İlk kültürden 3 saat sonra 1 ve 2a basamakları tekrar edilerek ikinci kültür başlatılır.

Alternatif zaman planı

- 2b. Bakteri çalkalayıcı inkübatörde 170 rpm hızında, 37 °C' de 16 saat inkübe edilir.
- 3b. Bakterileri toplama işleminden önce 2 ml bakteri kültürü, 50 µl streptomisin içeren 100 ml LB medium' un içinde olduğu konik şişeye transfer edilir. Çalkalayıcı inkübatörde 200 rpm hızında, 37 °C' de 3 saat inkübe edilir

Uzun süreli olan bakteri kültürü kullanıldığında enfeksiyon oranı ve böbrekte koloni oluşturan ünite biraz düşük bulunmuştur.

Bakteriyi toplama

4. Bakteriyel süspansiyonlar 2 adet 50 ml'lik tüplere transfer edilir ve oda ısısında 1200 x g' de 10 dakika santrifüj edilir. Ardından üstteki sıvı alınır ve pellet son konsantrasyon 1×10^{10} bakteri/ml olacak şekilde LB medium ile tekrar süspansiyon haline getirilir. Bakteri konsantrasyonunu belirlemek için oluşturulmuş bakteri solüsyonunun 1×10^{10} bakteri olacak şekilde bölünmüş bir numunesi gliserol ile süspanse edilerek bakteriler immotil hale getirilir ve ışık mikroskobu altında sayılır.

Anestezi

5. 2,2,2-tribromoethanol solüsyonu 125-160 mg/kg olacak şekilde fareye intraperitoneal olarak uygulanır. Fare 3 dakika içinde sersem ve uykulu hale gelir ve anestezi yaklaşık 10 dakika sürer.

Transüretal uygulama

6. Farenin karnına hafifçe basılarak mesanedeki idrar boşaltılabilir. Bazı araştırmacılar bu idrardan örnek alıp idrar yolu enfeksiyonunu varlığını araştırmışlardır. Uygulama için 1 ml'lik şırınga bakteri süspansiyonu ile doldurulup polietilen kateter şırıngaya takılır.

Kateterin ucu kayganlaştırıcı jele batırılır ve üretral meatusa da kayganlaştırıcı jel sürülür. Kateter herhangi bir travma oluşturup bakteriyemiye yol açmamak için dikkatlice itilir. Kateter yaklaşık 5-8 mm ilerletildikten sonra 100 µl bakteriyel süspansiyon (1×10^9 bakteri) mesaneye verilir ve 10 saniye bekledikten sonra kateter çıkartılır.

7. Birinci instilasyondan 3 saat sonra 4-5-6. basamaklar uygulanarak ikinci instilasyon yapılır.

UPEC STOĞU HAZIRLANMASI

Bu işlem, geniş bir zaman diliminde aynı bakteri ile enfeksiyon oluşturulması için bakteri stoğu hazırlanmasını tarif eder.

Materyal:

- Nitrojen ile depolanmış UPEC kaynağı (STEC center TW 07504)
 - LB medyum
 - Streptomisin sülfat tuzu (200 mg/ml)
 - Steril, %100 gliserol, 4 °C' de 6 ay saklanabilir
 - Besiyeri plakaları (e.g. CPD ID 3 agar plates, Biomerieux)
 - 250 ml' lik düzgün yüzeyli konik şişe
 - Çalkalamalı inkübatör
 - Tezgah üstü santrifüjü
 - Steril 96-well cell kültür plağı
1. 10 µl UPEC stoğu, 250 ml' lik konik şişede 50 µl streptomisin içeren 100 ml LB medium içine inoküle edilir. 16 saat süre ile 170 rpm hızında inkübe edilir.
 2. 1 ml kültür 250 ml' lik konik şişede 50 µl streptomisin içeren 100 ml LB medium içine transfer edilir. 5 saat süre ile 200 rpm hızında inkübe edilir.
 3. Bakteri süspansiyonu oda ısısında 1200 x g' de 10 dakika santrifüj edilir. Üstteki sıvı alı-

nır ve ardından pelletle kalan medyumda alınır. Pellet, 2 ml LB medium ve 1 ml %100 gliserol içinde iyice karıştırarak süspansiyon oluşturulur.

4. Bakteriyel süspansiyon 10 µl' lik parçalara ayrılarak -80 °C' de 6 ay saklanabilir. Bakterinin dondurup çözme sürecinde göreceği zararı önlemek için 10 µl' lik parçalar halinde saklamak önerilmektedir.
5. 10 µl' lik çalışma stoklarından biri LB medyum ile 1:10' a dilüe edilip 96-well cell plağına ekilir. En az 24 saat donmuş olarak bekleyen 10 µl' lik çalışma stoklarından elde edilen sonuçlar sonraki çalışmalar için örnek olacaktır.
6. Dilüsyonun 10 µl' lik her bir bölümü agar tabakası üzerindeki 1 cm² alanlara yayılmıştır.
7. Agar plakaları 37 °C' de bir gece inkübe edilir.
8. Bakteri çalışma stoğunun herbir mililitresinde ki kolonileri sayıp, koloni oluşturan üniteler (KOÜ) hesaplanır.

BÖBREK KOLONİ OLUŞTURAN ÜNİTENİN BELİRLENMESİ

Enfeksiyonun başarısı, piyelonefritin şiddeti ve böbreğin bakteriden temizlenmesi böbrekteki bakteri yükünün belirlenmesi ile kolayca izlenebilir. Burada böbrek KOÜ miktarının belirlenmesi için en direkt yaklaşım olan böbrek homojenatı veya böbreğin enzimatik yıkımı açıklanmaktadır.

Materyal:

- Fare
- Phosphate buffered saline (PBS), pH 7,4
- %70 ethanol
- Enzimatik yıkım medyumları
 - 1- 500 ml RPMI 1640
 - 2- 2 mM L- glutamine

- 3- 100 µg/ml DNaseI
 - 4- 0,5 mg/ml collagenase
 - FACS tamponu: %0,2 FCS in PBS
 - Kırmızı hücre uzaklaştırıcı tampon
 - Agar plakaları
 - Makas, bıçak ve forseps
 - 2 ml' lik steril tüpler
 - ULTRA TURRAX T 10 basic
 - Steril 12- veya 24- ve 96- well cell kültür plakaları
 - 37 °C çalkalayıcı inkübatör.
 - 2 ml' lik şırınga pistonu
 - 100 µm naylon mesh
 - 15 ml polistiren tüpler
 - Santrifüj
1. Fare ötenazisi CO₂ asfiksisi veya yüksek doz fenobarbital ile yapılabilir.
 2. Böbrek çıkarılır ve renal kapsül uzaklaştırılır. Bu esnada barsak yaralanmadığından emin olunmalıdır.
 - 3a. Her bir böbrek içinde buzla soğutulmuş 1 ml PBS bulunan 2 ml' lik steril tüplere transfer edilir ve altıncı seviye güçte ULTRA-TURRAX ile 20-30 saniye homojenize edilir. Sonra bu madde %70'lik etanol ile 10 saniye durulur ve bir 10 saniyede steril PBS ile durulanır.
 - 3b. Böbrekler 1 ml enzimatik yıkım medyumlu 12- veya 24- well cell kültür plağına konur ve altı parçaya bölünür. Karıştırıcı inkübatörde 30 dakika 37 °C' de inkübe edilir. Böbrek 2 ml' lik şırınganın pistonu ile iyice ezilir ve karıştırıcı inkübatörde 30 dakika 37 °C' de inkübe edilir. 1 ml FACS tamponu eklenir ve süspansiyon 100 µm naylon mesh' den 15

ml' lik tüpe süzülür ve 1 ml FACS tamponu ile iyice durulanır.

4. 100 µl homojenat veya enzimatik yıkım ürünü 96-well plağına transfer edilir. Birbirini takip eden 4 sıra kuyucuğa 90 µl PBS konur ve bir sonraki sıraya 10 µl homojenat konur pipet ile kuvvetlice karıştırılır ve herbir dilüsyon basamağı için 10 µl kullanılır.
5. Agar plağında ki 1x1 cm' lik alana 10 µl konulur.
6. Agar plağı 37 °C inkübatörde bir gece inkübe edilmeli ve bu süre 36 saati aşmamalıdır. Sonrasında koloni sayılır.

Kaynaklar

1. Beauchamp, D. And Bergeron, M. G. 1999. Pharmacologic basis for the treatment of pyelonephritis. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 1:371-378.
2. Hewitt, I.K., Zucchetta, P., Rigon, L., Maschio, F., Molinari, P.P., Tomasi, L., Toffolo, A., Pavanello, L., Crivellaro, C., Bellato, S., and Montini, G. 2008. Early treatment of acute pyelonephritis in children fails to reduce renal scarring: Data from Italian Renal Infection Study Trials. *Pediatrics* 122:486-490.
3. Hvidberg H, Struve C, Krogfelt KA, Christensen N, Rasmussen SN, Frimodt-Møller N. development of long term ascending urinary tract infection mouse model for antibiotic studies *Antimicrob Agents Chemother.* 2000 Jan;44(1):156-63.
4. Hagberg, L., I. Engberg, R. Freter, J. Lam, S. Olling, and C. Svanborg-Edén. Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic *Escherichia coli* of human origin. *Infect. Immun.* 1983;40:273-283.
5. Johnson, J. R., and J. C. Manivel. Vesicoureteral reflux induces renal trauma in a mouse model of
6. Tittel, A.P., Heuser, C., Ohliger, C., Knolle, P.A., Engel, D.R., and Kurts, C. 2011. Kidney dendritic cells induce innate immunity against bacterial pyelonephritis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22:1435-1441.

Subklinik Pyelonefrit 51

Egemen AVCI

Subklinik piyelonefrit, böbrekte bakterilerin bulunmasına rağmen bunun enflamatuvar cevaba neden olmaması ve klasik piyelonefrit bulgularına yol açmaması durumudur. Yapısal olarak da böbrekte büyük değişiklikler meydana gelmez. Ancak mikroskopik olarak yapılan incelemeler sonucunda tanı konulabilir. Hayvan modellerinde alt üriner sistem enfekte edildikten 48 saat sonra böbrekte de bakteri varlığına rastlanılabileceği ve bunun renal parankimde büyük değişikliklere neden olmadan kalikslerde minör farklılıklar yaratabileceği gösterilmiştir (1).

İdrar yolu enfeksiyonu; ürotelyumun bakteriyel saldırıya karşı göstermiş olduğu genellikle idrarda lökosit ve bakterinin bulunduğu enflamatuvar yanittir. İdrar örneğinde kontaminasyon sınırını aşan yani önemli bakteriürisi olan hastaların, üreter kateterizasyonu veya mesane yıkama ile alınan örneklerinde, enfeksiyonun kaynağının %30-60 üst idrar yolu olduğu saptanmıştır (2-6). Aynı çalışmalar, üst idrar yolu lokalizasyonu ve klinik semptomlar arasında zayıf bir korelasyon göstermiştir. Mikroorganizmaların böbrekte mevcut olması enflamatuvar bir yanıt ve buna bağlı semptomları başlatma-

yabilir. Deneysel hayvan modellerinde amaç enflamasyon oluşmadan böbreklerde bakteri varlığını sağlamak ve tedaviye verdiği yanıtı araştırmaktır. Literatürde deneysel hayvan modellerinde akut ve kronik piyelonefrite ait çok sayıda makale bulunmasına rağmen subklinik piyelonefrit ile ilgili olanlar sınırlıdır. Özellikle 1991 yılında Tomas E. Miller ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bu alana ışık tutmaktadır (1). Bu çalışmada böbreğe direkt bakteri ekimiyle tetiklenen piyelonefritik bir böbrek ve ekim olmadan tetiklenen enfeksiyon taklitçisi bir subklinik piyelonefritik rat modeli geliştirilmiştir. Modelde, sol böbreğe bakteri ekilir ve manipüle edilmeyen (sağ) böbrek 48 saat içinde kalıcı mikrobiyel florayı alır. Kontralateral tarafın bakteriyel invazyonu renal parankimde makroskopik veya histolojik değişiklikler yapmaz ancak kaliksi kaplayan epitelin altında küçük enflamasyon odakları bulunur. Bu model, subklinik piyelonefrit kavramını destekler ve klinik olarak insanlarda semptom yokluğunu açıklayabilir bir durumdur. Subklinik piyelonefritle ilgili hayvan modellerini içeren çalışmalar sınırlı olduğu için Miller T.E.ve Findon G.'nin bu deneysel çalışmasından bahsedilecektir.

Deney Hayvanı Özellikleri

Bu çalışmada 200-250 gr ağırlığında, 3-4 aylık, erişkin erkek ve dişi Hooded Oxford (HO) sıçanı kullanılmıştır. Miller T.E. ve ark.'nın deneyimine göre, HO ırkında kontralateral böbreklerde kolayca subklinik bir enfeksiyon oluşturulabilir (7). Örneğin Dark Agouti gibi ırklar bunun için uygun değildir. Spesifik sıçan suşlarında subklinik piyelonefrit gelişim yeteneğini değerlendiren pilot deneyler yapmak tavsiye edilebilir. Hayvanlar işlenmemiş odun talaşı üzerinde polikarbonat kafeslerde muhafaza edilir. Diyet 86 ve libitum eklenmiş su ile beslenir. Ameliyat öncesi ve sonrası dönemde herhangi özel bir bakım veya tedavi gerekmez.

Ameliyat Detayları

HO sıçanlarında sol böbrekte akut piyelonefrit indüklenir. Bu sıçanlarda subklinik piyelonefrit, manipüle edilmemiş kontralateral böbreklerde gelişir. Sıçanların otopsi ve her iki böbreğin analizi enfeksiyon sonrası çeşitli dönemlerde yapılır.

Anestezi, traş makinası, deri dezenfektanı (%95 etanol), bistüri, makas, forseps, sütür, örnekleri toplayabilecek cam mikrokapiler pipet ve şırınga kullanılmıştır. Enfeksiyonu indüklemek için anestezi olarak Nembutal (pentobarbitone sodyum) kullanılmıştır.

Cerrahi prosedür ve enfeksiyon indüksiyonu

Traş edilmiş cildi dezenfektan ile sildikten sonra, sol flank bölgeden insizyon yapılır. Hem cilt hem de kas tabakası aralanır. Böbrek, renal yağ yastığı hafifçe tutularak dışa çekilir ve 5 µl inokulum, SMI Micro / Pettor ve bir cam mikrokapiler kullanarak sol böbreğin her bir polüne enjekte edilir. Toplam inokulum 10^6 canlı Esccherichia coli O75 içerir.

Yara kapanması

Kas tabakası ve cilt sütür kullanılarak kapatılır.

Ameliyat sonrası bakım

Özel bir postoperatif bakım gerekmez. Hayvanlar ameliyattan birkaç saat sonra iyileşir ve normal faaliyetlerine de geri döner. Hayvanlar boyutuna göre kafes içerisinde dört ile altılı gruplar halinde barındırılır.

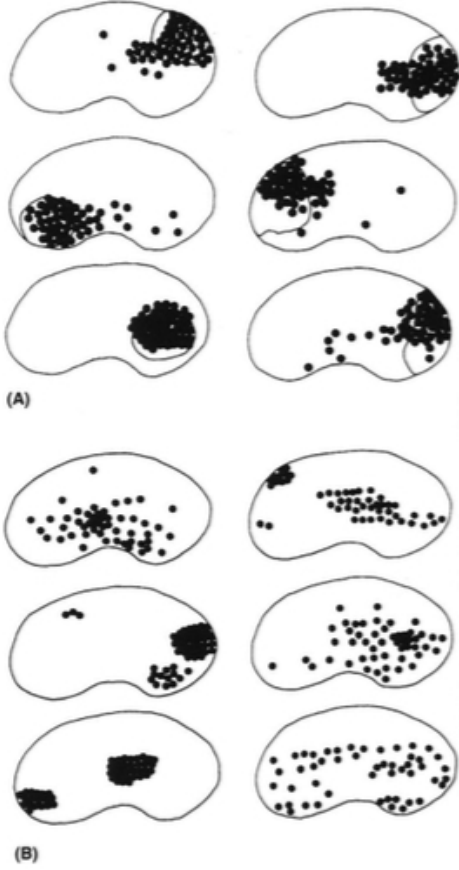
Depolama ve inokulumun hazırlanması

İnsandan izole edilen modeli karakterize etmek için kullanılan E. coli'nin O75 suşu, 4 derecede ve Dorset yumurta ortamında muhafaza edilir. Haftalık alt kültürler kanlı agarda yapıldı ve bir koloni subkültür kullanımı için inkübasyon, bir gece boyunca besin suyu içinde bırakılır. Kültürü üç kez normal salin ile yıkadıktan sonra, inokulum 10 salin içinde 10^6 cfu'ya kadar hazırlanır.

Enfeksiyonu ve tedaviye yanıtı izlemek için anahtar parametreler

Bakteriyolojik analiz

Otopsiler 60 gün boyunca düzenli aralıklarla gerçekleştirildi. Klasik piyelonefritli sol böbrekler ve manipüle edilmemiş kontralateral böbreklerin mikrobiyal sayıları doğrudan doğruya ölçüldü. Böbrekler aseptik olarak çıkartıldı. Dekapsule edildi ve tartıldı. Sonra 9 ml normal salin kullanarak, kalın cidarlı cam tüpün içinde PTFE (politetrafloroetilen) döndürerek homojenize edildi. Homojenatın normal salin içinde 10 kat seyreltilmiş serileri yapıldı ve renal dokunun her gramında bakteri sayısını belirlemek için Columbia agarlı dökme plakaları hazırlandı. Sol böbreklerde bakteri sayıları ilk 24 saatte zirve yaptı ve devam eden hafta yavaşça gerileyerek istikrarlı bir şekilde böbrek dokusunda



Resim 3. Enfeksiyondan 7 gün sonra böbrekteki bakteriyel dağılım A) Klasik piyelonefrit B) Subklinik piyelonefrit. Her nokta bakterilerin %2'lik bölümünü temsil etmektedir.

den sonraki 30 güne kadar çoğunlukla kümelmiş lezyon alanındaydı, ancak daha sonra daha eşit dağıldı. Şekil 3A'da bakıldığında, 7 gün sonraki bakteriyel dağılımı göstermektedir. Manipüle edilmeyen böbreklerde mikroorganizmalar alelade şekilde yayıldı. Ancak özellikle erken aşamalarda ara sıra fokal kümelermeler de gözlemlendi. Kontralateral böbreğin temasından 7 gün sonraki değişiklikler Şekil 3B'de gösterilmiştir.

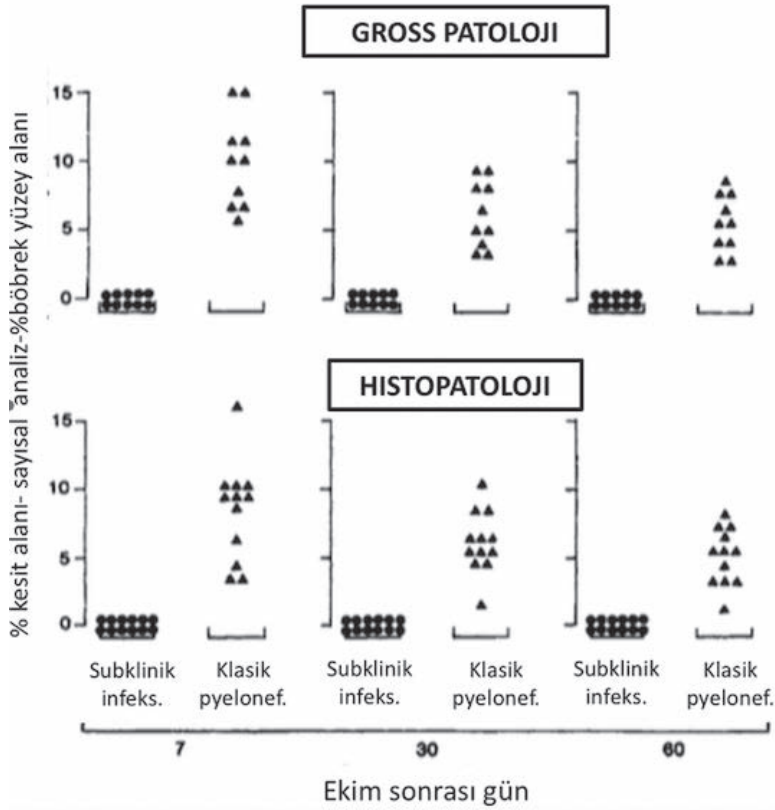
Gross patoloji

Otopside, hem doğrudan ekilen hem de manipüle edilmemiş böbrekler makroskopik ve histopatolojik olarak incelendi. Her böbreğin gross patolojisi BASIC ile yazılmış ve PC'ye yüklenen bir bilgisayar programı kullanılarak ölçüldü. Program, ekranda bir böbreğin iki tarafını temsil eden iki ayna görüntü profili üretti. Profillerin boyutları normal sıçan böbreğine göre ölçeklendirildi ve her birine oriyantasyona yardımcı olmak için bir ızgara yerleştirildi. Bir bilgisayar mouseu kullanarak eksiz böbrek üzerinde yaralı alanlar ekran üzerinde gölgelendirildi. Yazılım daha sonra her iki ekrandaki profilleri ve gölgeli (yaralı alan) alanların toplam böbrek yüzey alanına olan yüzdesini hesapladı. Histolojik analiz hematoksilin-eozin boyanmış bölümler ve elektron mikroskopisi ile yapılmıştır.

Doğrudan mikrop ekilen böbrekler (klasik piyelonefrit) gross muayenede tüm karakteristik kortikal lezyonları gösterdi (Resim 4). Histolojik olarak bunlar korteks, medulla ve renal pelvisi geçen kama biçimli alanlar olarak görülüyor. Kontralateral manipüle edilmemiş böbreklerin yüzeyinde çoğunlukla lezyonu görülmedi ve renal parankim normaldi. Kaliks mukoza hattında yaygın küçük değişiklikler izlendi. Değişici hücre epitel ve subepitelyal dokularda nötrofil ve lenfosit içeren lokalize inflamatuvar odaklar mevcuttu.

Antimikrobiyal tedavi

Enfeksiyon oluştuktan yaklaşık 30 gün sonra, gruplara ayrılmış hayvanlar çeşitli antibiyotikler ile 10 gün boyunca tedavi edildi. E. coli O75 suşuna karşı olan her bir antimikrobiyalın minimum inhibitör konsantrasyonları kullanım öncesi belirlendi. Her antibiyotik için bir doz, antibiyotiklerin kan, idrar ve doku konsantrasyonları deney hayvanlarında klinik olarak karşılaştırılabilir olanlardan seçildi (Tablo 1).



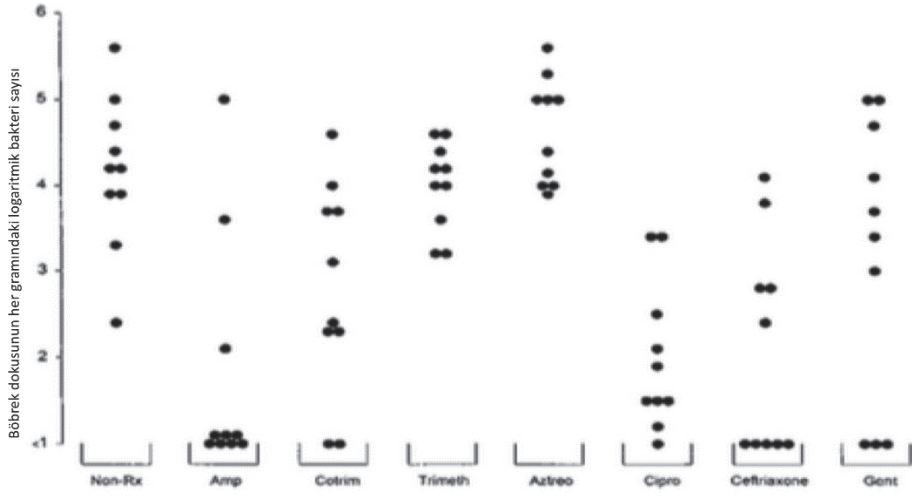
Resim 4. Klasik ve subklinik piyelonefritli böbreklerdeki gross ve histolojik değişiklikler

Manüplü edilmemiş sağ böbreklerdeki bakteriyolojik değerlendirme, Columbia agar plakalarında homojenleştirilen seri dilüsyonlar kullanılarak yapıldı.

Subklinik piyelonefritli böbreklerdeki bakteriyel sayılar; ampisilin, kotrimoksazol, siprofloksasin, seftriakson ve gentamisin ile tedavi edildikten sonra tedavi edilmeyen hayvanlara

Tablo 1. Antibiyotik ajanların farmakolojik parametreleri ve dozları

Antibiotic	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	Dose (mg/kg)	Route	Frequency	Peak concentration		
					Serum ($\mu\text{g/ml}$)	Urine ($\mu\text{g/ml}$)	Tissue ($\mu\text{g/g}$)
Ampicillin (Ampicyn)	1.6	50	i.m.	2 \times daily	25	400	40
Gentamicin (Garamycin)	1.6	7.5	i.m.	2 \times daily	8*	40	45
Co-trimoxazole (Bactrim)	0.25	50	p.o.	2 \times daily	Trim. 3 Sulpha. \dagger 4	Trim. 300 Sulpha. 20	Trim. 22 Sulpha. 2.4
Ceftriaxone (Rocephin)	0.1	200	i.m.	Daily	160 \ddagger	N/A	N/A
Ciprofloxacin (Ciproxin)	0.02	20	p.o.	2 \times daily	2.5**	345	4
Aztreonam (Azactam)	0.1	20	i.m.	2 \times daily	38*	632	190
Trimethoprim (Triprim)	N/A	10	p.o.	2 \times daily	3 \dagger	300	22



Resim 5. Çeşitli antibiyotiklerle 10 gün tedavi edilen subklinik piyelonefritli böbrek dokusundaki bakteri sayıları.

kıyasla önemli ölçüde azaldı. En etkili ilaçların seftriakson ve ampisilin olduğu saptandı. Trimethoprim ve aztreonamın ise etkisi yoktu (Resim 5).

Modelin avantajları ve dezavantajları: Subklinik enfeksiyon gelişmesinde Hooded Oxford sıçan kullanımı ile ilgili hiçbir sorun çıkmadı. Diğer sıçan türleri bunun için uygun olmayabileceği için daha öncesinde değerlendirilmelidir. Bu farklılığın nedeni tam olarak saptanmamıştır.

Model kullanımı

Subklinik piyelonefrit modelinin kullanılabilirliği hastalığın tanı ve tedavisi için etkili araçlar ortaya koyar. Subklinik piyelonefriti tanıma, antimikrobiyal tedavi için daha etkili bir sonuç ortaya çıkartabilir. Yöntemin gözden geçirilmesi: Akut bakteriyel sistitin kanıtlanmış tedavisinde üst üriner sistem tutulumu olsun ya da olmasın ampisilin ve ko-trimoksazol alt üriner

istem için etki sağlayabilir. Bunun tersine bu antimikrobikler üst idrar yolu olduğunda tedavisinde etkisizdir (8). Clark tarafından subklinik piyelonefritin başarılı yönetiminin önemi vurgulanmıştır. Enfeksiyon ile ilişkili olan böbrek fonksiyon bozukluklarının tedavi sonrası geri dönüşlü olabileceğini göstermiştir. İnatçı subklinik enfeksiyonun yanlış tanısı, neden sistit tedavisinde başarısızlığın %10-15 oranında olduğunu ve tekrarlayan enfeksiyon insidansındaki yüksekliği açıklayabilir (10,11).

Subklinik piyelonefritin hayvan modelleri kullanarak planlanacağı yeni çalışmalarda hem farklı bakteriler kullanılabilir hem de bu bakterilere ait günümüze dair direnç gelişimi araştırılabilir. Bu çalışmalar tekrarlayan üriner enfeksiyonun çözümü adına yol gösterici olabilirler.

Kaynaklar

1. Miller T.E., Findon G, Rainer S.P., Gavin J.B. (1991) The pathobiology of subclinical pyelonephritis-An experimental evaluation. *Kidney International*, Vol 41 (1992), pp. 1356-1365

2. Fairley, K. F., Grounds, A. D., Carson, N. E. et al. (1971). Site of infection in acute urinary-tract infection in general practice. *Lancet*, ii, 615-618.
3. Boutros, P., Mourtada, H., Ronald, A. R. (1972). Urinary infection localization. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112, 379-381.
4. Eykyn, S., Lloyd-Davies, R. W., Shuttleworth, K. E. D., Vinnicombe, J. (1972). The localization of urinary tract infection by ureteric catheterization. *Invest. Urol.*, 9, 271-275.
5. Harding, G. K. M., Marrie, T. J., Ronald, A. R., Hoban, S., Muir, P. (1978). Urinary tract infection localization in women. *J. A.M.A.*, 240, 1147-1150.
6. Busch, R., Huland, H. (1984). Correlation of symptoms and results of direct bacterial localization in patients with urinary tract infections. *J. Urol.*, 132, 282-285.
7. Miller, T.E., Robinson, K.B. Experimental pyelonephritis: A new method for inducing pyelonephritis in the rat. *J Infect Dis.* 1973;127:307-310.
8. Stamm, W. E., Hooten, T. M., Johnson, J. R. et al. (1989). Urinary tract infections: from pathogenesis to treatment. *J. Infect. Dis.*, 159, 400-406.
9. Clark, H., Ronald, A. R., Cutler, R. E., Turck, M. (1969). The correlation between site of infection and maximal concentrating ability in bacteriuria. *Infect. Dis.*, 120, 47-53.
10. Stamey, T. A., Govan, D. E., Palmer, J. M. (1965). The localization and treatment of urinary tract infections: The role of bactericidal urine levels as opposed to serum levels. *Medicine*, 44, 1-36.
11. Fang, L. S. T., Tolkoff-Rubin, N. E., Rubin, R. H. (1978). Efficacy of single-dose and conventional amoxicillin therapy in urinary-tract infection localized by the antibody-coated bacteria technic. *N. Engl. J. Med.*, 298, 413-416.

Cengiz ÇANAKÇI

Giriş

Prostatit, prostat bezindeki inflamasyon durumunun geniş tanımıdır. Hastalarda pelvik ağrı, işeme bozuklukları, cinsel fonksiyon bozukluğu gibi farklı seviye ve derecelerde semptomlar ortaya çıkmaktadır. Hastanın yaşam kalitesini ciddi şekilde olumsuz etkileyebilmektedir. Güncel literatürde Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından prostatit 4 gruba ayrılmıştır; akut bakteriyel prostatit, kronik bakteriyel prostatit, non-bakteriyel kronik prostatit-kronik pelvik ağrı sendromu (KP-KPAS), asemptomatik prostatit (histolojik prostatit). KP-KPAS en sık görülen prostatit durumudur. Çok sık görülmesine rağmen hastalığın nedeni tam olarak bilinmemekte ve tedavisindeki zorluklar devam etmektedir. Prostatitte en sık hayvan modelleri KP-KPAS için yapılmıştır. Hayvan çalışmaları KP-KPAS'nun moleküler patogenezindeki mekanizmaların aydınlatılmasında ve hastalığın tedavisinde yararlı olabilir.

Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Prostatit, 50 yaş altı erkeklerde en sık görülen ürolojik rahatsızlıktır. 50 yaş üstünde ise benign prostat hiperplazisi (BPH) ve prostat

kanserinden sonra 3. en sık konulan ürolojik tanıdır. Prostatit yaş ortalaması her geçen yıl düşmektedir. KP-KPAS prostatitlerin %90'ını oluşturmaktadır. Prostatit prevalansı yapılan çalışmalar neticesinde yaklaşık %7 olarak bildirilmektedir.

Prostatit etiyolojisinde birçok faktör bulunmaktadır; mikrobiyolojik faktörler, prostat konak savunmasındaki değişiklikler, disfonksiyonel işeme, intraprostatik duktal reflü, immünolojik değişiklikler, nöral disregülasyon, pelvik taban kas anormallikleri, psikojenik faktörler. Bakteriyel prostatitte en sık görülen mikroorganizma %65-80 oranında E.coli'dir. Bunu %10-15 oranında diğer gram (-) bakteriler, %5-10 oranında gram (+) bakteriler ve diğer mikroorganizmalar izlemektedir. Bakteriyel kolonizasyonu kolaylaştıran risk faktörleri; üretral kateterler, tedavi edilmemiş üriner enfeksiyon esnasında geçirilmiş üretral cerrahi, spesifik kan grupları, üriner enfeksiyonlar, anal ilişki, bakteriyel prostatit ihtimalini artırmaktadır. Yüksek basınçlı işemeye neden olan nörolojik veya anatomik sebepler prostatit sendromunun etyolojisinde görülebilmektedir. Bir diğer faktör olan intraprostatik duktal reflü, idrarın ve beraberindeki muhtemel bakterilerin prostatik

kanallara reflü olmasıyla birlikte bakteriyel ve nonbakteriyel prostatit etiyojisinde önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir.

Histopatoloji

Prostatit patolojik olarak, prostat parankimi içerisinde inflamatuvar hücre sayısının artması durumudur. Prostattaki inflamasyon prostat kanseri, prostatit gibi durumlarda görülebileceği gibi herhangi bir prostat rahatsızlığı olmayan kişilerde de saptanabilir. Prostat asinilerinin komşuluğundaki stromada gözlemlenen lenfositik infiltrasyon en sık gözlemlenen inflamasyon paternidir. Stromal lenfositik infiltrasyonlara genellikle periglandüler inflamasyon eşlik eder. Prostat taşı, prostat kanallarını obstrükte ederek drenajı engeller, vücut savunması ve antibiyotiklerin ulaşmasını engelleyerek bakterilerin yaşayabileceği bir nidus oluşmasına sebep olur ve prostatik inflamasyona katkıda bulunur. Granülamatöz prostatit, lenfosit, plazmosit ve bol miktarda histiyosit içeren lobüller infiltrasyonlarla karakterize histolojik paternde nonspesifik yapıya sahiptir.

Prostatitte Hayvan Modelleri

Hastalıklardaki, genetik faktörler, çevresel etmenler, moleküler yolaklar ve hastalığın yönetiminde deneysel hayvan çalışmaları önemli rol oynamaktadır. Prostatit patogenezi anlamak için de iyi düzenlenmiş bir hayvan çalışması gereklidir. Henüz prostatit hayvan modellerinin üretimi için evrensel olarak kabul edilmiş standart bir yöntem yoktur. Prostatit hayvan modelleri en sık KP/KPAS için yapılmıştır. Bununla birlikte halen KP/KPAS hayvan modelleri hakkında kesin tanı ve sınıflandırma kriteri bulunmamaktadır. Günümüzde mekanik prostatit, diyetle ilişkili prostatit, immün prostatit, enfeksiyöz prostatit, spontan prostatit, hormon ilişkili prostatit, kimyasal prostatit, stres kaynaklı

prostatit hayvan modelleri vb. dahil olmak üzere hayvan modelleri oluşturmak için çeşitli yöntemler vardır. Farklı hayvan türleri için farklı modeller oluşturulmuştur. Prostatit hayvan çalışmalarında en sık olarak kemirgen hayvanlar kullanılmaktadır; Wistar rat, Sprague-Dawley rat, Lewis rat, C57BL/6 fare ve NOD fare vb. Bununla birlikte domuz, köpek ve tavşan kullanılan çalışmalar da bulunmaktadır.

İnsan ve kemirgen prostatları anatomik olarak oldukça farklılık göstermektedir. Kemirgen prostatı 3 veya 4 lobdan oluşmaktadır. Ventral lob en büyüğüdür ve mesanenin ventral yüzeyine dayanır. Erkek farelerde veya sıçanlarda dorsal ve lateral lobları birbirinden ayırmak zordur ve her ikisi de bir birim olarak toplanır. Kemirgen prostatının dorsal-lateral lobunun, insan prostatındaki periferik bölgeye benzer olduğu öne sürülmüştür; ancak, bu hipotez şu anda histolojik veya biyokimyasal olarak kanıtlanmamıştır.

1) Otoimmün prostatit modeli

Otoimmün prostat modeli için kabul edilmiş standart bir hayvan modeli bulunmamaktadır. Ratlar birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. İlk olarak 1984 yılında Pacheco-Rupil ve ark. tarafından yapılan çalışmada ratlara antijenik materyal olarak Wistar sıçanlarının gonadlarından elde edilen 15 mg protein (Complete Freund adjuvanı (CFA)) deri altına 0. günde bir kez veya 0. ve 15. günde iki kez enjekte edilmiş, 21. günde sekiz sıçandan üçünde (%38), tek bir MAG inokülasyonundan sonra prostatta inflamatuvar bir reaksiyon gözlenmiş. Tekrar enjeksiyon yapılan 20 ratdan 9'unda (%45) 30. günde prostatit saptanmıştır. Tek enjeksiyon yapılan ratların kanında antikor saptanmamıştır. Bu model halen kullanılmakla birlikte modelin başarısında bazı sınırlamalar bulunmaktadır. Birçok çalışmada gösterilmiştir ki; inflamasyonun şiddeti yapılan enjeksiyondaki protein miktarı-

nin yanı sıra enjeksiyonun yeri, sayısı ve zamanı ile ilişkili bulunmuştur. Saflaştırılmış protein çözeltisi fazla yapıldığında ratların ölümüne neden olduğu, az yapıldığında ise yeterli otoimmün cevabın oluşmadığı görülmüştür. Doz-etki ilişkisini inceleyen çalışmalar sonucunda optimal miktarın 40-60 mg/ml olarak belirlenmiştir.

Donadio ve ark., prostatik asit fosfatazin (PAP) otoimmün prostatiti indükleyen majör bir antijen olabileceğini bulmuşlardır. Yaptıkları çalışmada ratlar, rekombinant sıçan veya insan PAP ile 4 hafta boyunca immünize edilmiş, humoral immünite saptanmış, sitotoksik T hücre yanıtı (CTL) izlenmemiş ve doku değişiklikleri gözlemlenmişlerdir. Bununla birlikte, CTL cevabı ve dokuya özgü prostatit, insan PAP eksprese eden Copenhagen ratlarında rekombinant aşının intravenöz enjeksiyondan sonra üretilebilmiş, ancak PAP'a spesifik antikolar gözlenmemiştir. Wistar sıçanlarında otoimmün prostat modelinde prostatta inflamatuvar reaksiyonu indüklemek için dalak mononükleer hücreleri de kullanılabilir. 2005 yılında ilk kez X. Zhou ve ark., prostat homojenat protein ve CFA kullanılarak Wistar sıçanlarının KP/KPAS modelini başarıyla kurmuşlardır. Otoimmün prostat modelinde, rat prostatında hem hücre sel hem de humoral otoimmüniteye neden olan ana antijenik madde prostat steroid bağlayıcı proteindir (PSBP). Yapılan çalışmada ilk enjeksiyondan 7 gün sonra mononükleer hücrelerin infiltre ettiği gözlemlenmiştir ve 28. günde en üst seviyeye çıkmıştır. Prostatın interstisyel bölgesinde mononükleer hücreler yoğunlaştığında ve eş zamanlı mast hücrelerinin ortaya çıkmasıyla, hemoraji ve fibrozisin eşlik ettiği inflamasyon meydana gelmiştir. İnfiltrate eden hücreler esas olarak CD4 ve CD8T hücreleri ve makrofajlardır.

İlk otoimmün prostatit fare modeli 1994 yılında Keetch ve ark. tarafından yapılmış olup, hayvan modeli geliştirmek ve bakteriyel olmayan prostatitin immün parametrelerini belir-

lemek için, SJL, AJ, Balb/c, C57bl/6 ve C57bl/6 lpr farelerinden çalışma yapılmış. Taze prostat dokuları sadece prostatın ventral bölgesi alınarak homojenize edilip elde edilen protein farelere subkutan enjekte edilmiş. Kontrol grubunda sadece CFA enjekte edilmiş. 30. günde farelerin prostat dokuları alınıp inflamasyonu değerlendirmek için histolojik olarak incelenmiş. Balb/c farelerinin hiçbirinde prostatik inflamasyon görülmemiştir. SJL ve AJ farelerinde ise çeşitli derecelerde prostatik inflamasyon saptanmıştır. C57BL/6 farelerinin tamamında periglandüler bölge ve stromada lenfositik infiltrasyon saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda Syngenik prostat antijeni enjeksiyonunun, KP'e benzer şekilde prostatik inflamasyona neden olduğu sonucuna varılmıştır. 2013'te Jackson ve ark. yaptığı çalışmada, C57BL/6 fare türlerinde immünizasyon yapıldıktan sonra prostatta inflamatuvar reaksiyonunun CP'nin özelliklerinin benzeri olduğu ve 4.-8. hafta gözlemlerinde inflamasyonda anlamlı bir artış olduğunu saptanmış. EAP modellerini oluşturmak için C57BL/6 farelerinin diğer fare türleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek başarı oranına sahip olduğu görülmektedir.

X. Zhou ve ark. 2017 yılında yayımlanmış olan 3 çalışmada, C57BL/6 fareleri kullanılarak kontrol gruplu AL(OH)3, CFA, novel peptid T2 ile immünizasyon yapılmış. 1. 14. ve 28. günlerde subkutan enjeksiyonlar yapıldıktan sonra fare kanında TNF α , CRP, prostat dokusunda IL-1B ve patolojik olarak incelenmiş. Farelerin prostatik stromasında ve glandüler epitel içine makrofaj infiltrasyonu, artmış T hücreleri gözlemlenmesi prostatit modelinin doğruluğunu göstermektedir, bu modelde de CP / CPPS modelinin başarıyla kurulduğunu gösterilmiştir. Bu modelde, T2+CFA+AL(OH)3 grubundaki yüksek CRP miktarı ile birlikte TNF- α ve IL-1b seviyelerinin anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. T2+CFA+AL(OH)3 ile immünize edilen grup diğer gruplardan daha şiddetli inflamasyon

göstermiş, bu da T2+CFA+AL(OH)³'nün KP/KPAS etiyojisini anlamak için deneysel otoimmün prostatit modeli oluşturmada etkili olduğu sonucuna ortaya çıkarmıştır.

Rivero ve ark. 1998 yılında yapmış oldukları çalışmada non-obese Diabetic (NOD) farelerde CFA kullanılarak immünizasyon yapıp prostatit modeli oluşturulmuş. Farelerde, immünizasyonun 10. ve 20. günlerinde prostatta belirgin enflamatuar reaksiyon geliştiği gözlenmiş. İnflamasyonun sadece prostatın lateral ve dorsal lobunda değil seminal vezikül ve koagülasyon bezlerinde de orta-şiddetli derecede oluştuğu saptanmış. İnflamatuar reaksiyonda hem humoral hem de hücresele immün cevap olduğu görülmüş. Aynı çalışmada farklı bir gruba iki kez 0.1 mg Wistar rat MAG'ı veya 30 mg Wistar rat PSBP'si enjeksiyonu yapılmış, genç erkek NOD farelerinin %80-100'ünde prostatit saptanırken, C57BL/6 farelerinin sadece %30'unda inflamasyon geliştiği gözlenmiş.

2) Yaş ilişkili prostat modeli

Spontan yaş ilişkili prostat modeli oldukça sık kullanılan modellerdendir. Yapılan çalışmalarda, farklı ırk ratların belirli yaşlara ulaştığında spontan bakteriyel olmayan prostatit geliştiği gözlenmiştir. Erkek Lewis sıçanlarının %60-70'inde 12 haftalıkken lateral prostat lobunda prostatit geliştiği görülmüştür. Sprague-Dawley ratlarında ise 22-24 haftalıkken düşük bir oranda olsa (%16) hem ventral hem de lateral loblarda, Wistar ratlarının %77'sinde dorso-lateral, Copenhagen ratlarında ise 20 haftalıkken %88 oranında lateral lob prostatit geliştiği görülmüştür. Spontan prostatitte, orta derecede mononükleer hücre infiltrasyonu (özellikle CD4+T hücreleri) gözlenir ve inflamasyon çoğunlukla prostat interstitiumunda, asinilerin çevresinde ve lateral loblarda izlenir.

Farelerde spontan prostatit gelişme olasılığı düşüktür. Penna ve ark. yaptığı çalışmada

yaklaşık 20 haftalık NOD farelerinin bir türünde spontan prostatit geliştiği görülmüştür. Bu fareler insülin bağımlı tip 1 diyabetes mellitus bulunmaktaydı. 20-30 haftalık olan farelerde prostat lökosit antijeni 8 haftalık olanlara göre 2-4 kat daha fazla bulunmuştur. 40 haftalık olan farelerde %70 oranında hem hücresele hem humoral immünitenin olduğu prostatit saptanmıştır.

3) Kimyasal prostatit modeli

Bu modeli oluşturmak için kimyasal madde direk olarak hayvan prostatına verilir. Kullanılan kimyasallara, carrageenan, amidraphane, gliserin, %2 ağar, formaldehit-kroton yağı, FCA örnek verilebilir. Bir tür deniz yosunu olan carrageenan, en yaygın kullanılanıdır ve prostat dokusuna daha az zarar verme avantajına sahiptir. Radhakrishnan ve Nallu, CNP modelini oluşturmak için Sprague-Dawley rata %3 carragenanın intraprostatik enjeksiyonunu kullanmış ve sıçan modelini yansıtmak için termal ve mekanik stimülasyon sırasında perineal ağrı eşliğindeki azalma derecesini test edilmiş. Ratların prostatında, başlıca monosit ve lenfosit olmak üzere inflammatuar hücre infiltrasyonu, bağ dokusu hiperplazisi, interstiyel hiperemi, ödem gösterilmiştir. Deney grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, termal stimülasyonun ağrı eşliğinin, deney grubunda %3 Carrageenan enjeksiyonu yapıldıktan 72 saat sonrasında, termal ağrı eşliğinin ise 48. saatten itibaren azaldığı izlenmiştir. Bu modelin sakıncası direk prostata madde enjeksiyonu yapılması, prostata zarar verip inflamasyona yol açacağından klasik prostatit mekanizmasının benzeri durumunun ortaya çıkmasıdır.

4) Hormon ilişkili prostatit modeli

Prostat, androjen bağımlı bir bezdir. Androjenler prostatın büyümesinde, fonksiyonunda ve hastalıklarında etkilidir. Bu modelde hayvanın

hormonal dengesi östrojenler veya kastrasyon yöntemleri ile bozulup, prostattaki bakteriyel olmayan inflamatuvar cevap incelenir. Östrojenlerin erkek aksesuar seks organlarında inflamasyonu arttırdığı, östradiol benzoat verilen olgunlaşmamış tavşanlarda, 17β-östradiol neonatal olarak verilen testosteron ile uyarılan yetişkin ratlarda gösterilmiştir. Östradiol-17β'nin kastre edilmiş Wistar ratların lateral prostatında inflamatuvar tepkinin güçlü bir uyarıcısı olduğu gösterilmiştir. Prostatın tüm loblarının stromasında ödem, artmış lenfosit ve monosit hücreleri, ayrıca geniş fibrozis alanları tespit edilmiş. Bu modelde %100 oranında prostatit geliştiği gösterilmiştir. Ne yenidoğana verilen 17β-östradiol ne de yalnızca yetişkinlikte testosteron tedavisi prostatiti başlatamamıştır. Bununla birlikte başka bir çalışmada 17β-estradiol'e perinatal maruz kalmanın, hem ventral hem de lateral prostatta, hipoplazi, stromal fibrozis, stroma ve lümende inflamasyona neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada tamoksifenin prostatitle ilişkisi incelenmiş, perinatal tamoksifen uygulanması, Wistar ratlarında ventral prostatta fibrozis olmadan benzer prostat boyutlarında artış ve prostatit insidansında artış ile sonuçlanmış. Uzun süredir östrojen kaynaklı lateral lob spesifik prostatit modeli, kronik bakteri dışı prostatitte en yaygın çalışılan kemirgen modeli olmuştur ve kategori III prostatit'i temsil edebilir. Bu model ucuz bir modeldir ve insan kronik bakteriyel olmayan prostatit gelişimi ve kalıcılığı açısından benzerlikleri bulunmaktadır. Etiyoloji açısından, yaşamın bir döneminde androjen seviyelerinin düşürüldüğü insanlarla karşılaştırılabilir. Ancak bu rat modelinin deneysel olarak indüklenen prostatiti temsil edemediği, prostatitin kendiliğinden veya genetik olarak gelişip gelişmediği ve basit olarak androjen yoksunluğu ve östrojen tedavisi ile hızlandırılmış olup olmadığı hala belirsizdir. Parker ve ark. yaptığı çalışmada testosteron

verilen LH receptor knockout (LuRKO) farelerinin %67'sinde prostatta belirgin bir inflamasyon görüldüğünü, bunun stromal dokuda ve prostat glandları arasında bol miktarda bulunan lenfositlerin varlığı ile karakterize olduğunu bildirmiş. 8 hafta süren testosteron tedavisi, bu hipogonadal LuRKO farelerinde hem anatomik anormallikleri hem de yardımcı seks organı işlevini eski haline getirmek için 21 günlük prepubertal yaşta başladı. LuRKO farelerinin bir kısmında testosteron tedavisiyle prostatın yanında seminal vezikül, epididim ve vas deferente de inflamasyon izlenmiştir.

5) Enfeksiyöz prostatit modeli

Akut bakteriyel prostatitin tanısı ve tedavisi iyi bilinmektedir. Kronik bakteriyel prostatit, çoğu zaman neden olan bakteriler kullanılan antibiyotiklere tamamen duyarlı olsa da akut bakteriyel prostatitin bir sonucudur. Çoğu antibiyotiğin prostat içinde terapötik seviyelere ulaşmadaki sınırlı yeteneğinden dolayı, prostatik enfeksiyonun tamamen eradike edilmesi mümkün olmayabilir. Enfeksiyöz prostatit modeliyle ilgili birçok model bulunmaktadır. Kaplan L. ve ark. yaptığı çalışmada 30 Sprague-Dawley rat çalışmaya alınmış, orijinal olarak kronik bakteriyel prostatitli bir hastanın prostat salgılarından izole edilen yaklaşık 5×10^5 E. coli, orta hatta bir abdominal cerrahi insizyon kullanılarak direkt olarak ventral prostat loblarından birine enjekte edilmiş. 15 rata abdominal insizyon esnasında orşiektomi yapılmış. Enjeksiyon yapıldıktan 4 gün sonra tüm loblarda akut inflamasyon belirtileri izlenmiş. Bununla birlikte 18. günde her ikisinde de ventral prostat dokusu aseptik olmasına rağmen sağlam ratlardaki ventral prostatlarda inflamasyon çok azdı ancak kastre ratlarda hala güçlü bir inflamatuvar reaksiyon mevcuttu. Ventral prostat lobunun aksine, testis intakt ratların dorso-lateral prostatında,

kronik bakteriyel prostatit gelişimine dair belirtiler mevcuttu ve doku kültürlerinde E. coli pozitifiti. 1990'da Nickel ve ark. 10-12 haftalık Sprague-Dawley erkek ratlarda akut ve kronik bakteriyel prostatitin uyarılması için yeni bir protokol geliştirdiler. Ratlara üretral kateter yardımıyla E.coli inoküle edilmiş. Ratların %50'sinde enfeksiyon spontan iyileşmiş ve 6 hafta boyunca kronik prostatit izlenmemiş. E.coli dışındaki bakteriyel ajanlarda prostatit modellerinde kullanılmıştır. 1981 yılında Rank ve ark. yaptığı çalışmada erkek domuzlara üretral Chlamydia organizma süspansiyonunun verilmiş, geçici üretrit ve sistit ile sonuçlanmış, ancak prostatit gelişmemiş. Bir başka çalışmada Wistar ratlara Chlamydia psittaci doğrudan vaz deferense inoküle edilmiş ve prostatit inflamasyon geliştiği gözlenmiş. Rat prostatlarında spesifik bölge belirtilmemiş ancak ratların %100'ünde enjeksiyon sonrası 7. ve 14. günde pürülan prostatit olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 30. günde rat prostat dokuları incelendiğinde %80'inde C. Psittaci negatifiti. Ratlarda prostatit modeli geliştirmede üretral kateterizasyon en uygun model olmakla birlikte, dezavantajı sepsis veya spontan iyileşme nedeniyle bu modelde kronik prostatit geliştirme zorluğudur.

2005'te Elkahwaji ve ark. yaptığı çalışmada 13 haftalık BALB/c, C3H/HeJ, C3H/HeOuJ, C57BL/6J ve (BALB/cxC3H/HeJ) F1 farelerine intraüretral 2x10(6) veya 2x10(8) E.coli verilip kontrol grubuna da fosfat tamponlu salin verilmiş. 5. günde fareler öldürülüp mesane ve prostat enfeksiyonu açısından değerlendirilmiş. BALB/c, C57BL/6J, (BALB/cxC3H/HeJ) F1 farelerinde enfeksiyon saptanmazken, C3H/HeJ and C3H/HeOuJ farelerinde hem sistit hem prostatit saptanmış. BALB/c ve (BALB/cxC3H/HeJ) F1 farelerinde prostatit saptanmaması, prostatit etyolojisinde genetik faktörlerin rol oynayabileceği, hatta bu farelerde enfeksiyon

duyarlılığının resesif geçişli olduğu düşünülmüştür.

6) Mekanik prostatit modeli

Takechi S. ve ark. 1999 da yaptığı çalışmada, rat üretrasında parsiyel obstrüksiyon yaparak yeni bir model geliştirilmiş. Çalışmada 12 haftalık Wistar ratlar kullanılmış. Kauçuk tüp üzerinden üretra bağlanıp tüp çıkartılmış. İki rat obstrüksiyondan 6 saat, 1 gün, 3 gün ve 7 gün sonra histolojik olarak incelenmiş. İki rat 3 gün obstrüksiyon sürdürüldükten sonra 1. 3. ve 7. günler kontrol yapıldıktan sonra öldürülmüş. 3. günde, obstrüksiyon uygulanan 8 ratın ve kontrol grubundaki sekiz ratın, aynı hacimde lucifer sarısı (LY; 10 mikrog / ml, MW 500), mikroperoksidad (MP; 20 mikrog / ml, MW 1900), yaban turpu peroksidadı (HRP; 10 mikrog / ml, MW 40 000) veya kontrol olarak salin sırasıyla mesanesindeki 2 ml idrarla değiştirilmiş. Prostatta lenfositik infiltrasyon ve interstisyel ödem, en belirgin olarak obstrüksiyon olan grupta 3. günde kaydedilmiş. Obstrüksiyon ortadan kaldırıldığında bu inflamatuvar değişikliklerin kaybolduğu gözlenmiş. Lucifer sarısı instilasyondan 2 saat sonra prostatik stromada görülmüş. Üretral obstrüksiyonun ve intraprostatik üreter reflünün KP etyolojisinde olabileceğini düşündürmüştür.

7) Diğer prostatit modelleri

1987 de Gatenback ve ark. yaptığı çalışmada ratlara 10 gün boyunca stres faktörlü ortam oluşturularak (küçük kafes, açlık ve düşük çevre ısı) histopatolojik olarak prostat dokusu incelenmiş. Stres uygulanan ratlarda, ventral prostatik lobda belirgin, dorso-lateral prostatta seyrek olarak bakteriyel olmayan inflamatuvar değişiklikler saptanmış. Sharma ve ark. prostatit ile diyet arasındaki ilişkiyi incelemek için geliştirdikleri modelde Sprague-Dawley ratlar

kullanılarak bir gruba soyadan fakir diyet, bir gruba soyalı diyet kontrol grubunda soya da içeren standart laboratuvar yemi verilmiş. 11 hafta sonunda bakıldığında soyalı diyet alan 2 grupta prostatit görülmezken, soyadan fakir diyet alan ratlarda lateral lob prostatit geliştiği gözlenmiş, bununda idrarda azalan fitoöstrojenlerle ilişkili olduğu düşünülmüş. Yazarlar bu sonuçlara dayanarak, soyanın ratlarda prostatit gelişimine karşı koruyucu bir rol oynadığını ve rat prostatının ventral, lateral ve dorsal loblarının diyet ile ilişkili farklı hassasiyetleri olduğunu düşünmüşler. Bir diğer çalışmada Lang ve ark., 8-10 haftalık erkek Sprague-Dawley sıçanlarında abakteriyel prostatit modelini geliştirmek için etanol ile mukozal bütünlük bozularak inflamasyonu arttırmak için dinitrobenzensülfonik (DNBS) asit iritan madde olarak verilmiş. Ratların prostatları morfoloji, histolojik görünüm ve sitokin seviyeleri için test edilmiş. Prostatta mukozal yüzeyin kaybı sonrasında iritan madde etkisiyle inflamasyon gelişmiş. İnterlökin-1β'nin inflamasyonda rol oynadığı ancak TNF-alfa'nın etkili olmadığı saptanmış.

Hayvan modelinde değerlendirilen parametreler

Prostatit modellerinde birçok farklı model mekanizması olduğundan değerlendirmede farklı kriterle gözönüne alınmıştır; patolojik, biyokimyasal, morfolojik, fizyolojik. Prostatiti değerlendirmede en önemli faktör prostattaki inflamasyonun görülmesi açısından patolojik incelemedir. Patolojik incelemede doku ödemi, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve hücre tipi, glandüler epitelde nekroz veya bozulma gibi parametreler bakılmaktadır. Oluşturulan modelin başarısını en iyi gösteren temel parametre patolojik incelemedir.

Biyokimyasal olarak KP'nin doğrudan göstergesi, prostat sıvısında veya homojenatında

beyaz kan hücrelerinin belirgin bir şekilde yükselmesi ve lecithin cisimlerinin dağılımındaki azalmadır. Kanda veya prostat homejenatında immün faktörlerle ilgili yapılan çalışmalarda IgG, IgM, IgA değerlendirilmiş, başarılı olan modellerde IgA seviyesinde belirgin artış saptanmış. Bununla birlikte prostat homojenatında NE, PG, histamin, 5-HT ve NGF, IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α ve IL-1β seviyelerini arttığı gözlemlenmiştir.

Fizyolojik parametrelerde prostat ağırlığı, prostat indeksi, idrar çıkışı, tüketilen sıvı miktarı vb. incelenmiş. Ürodinamik inceleme yapılan çalışmada prostatitin ürodinami parametrelerinde değişiklikler saptanmış. Hayvan mesane basıncı, idrara çıkma aralığı, maksimum idrar basıncı ve diğer ürodinamik parametreler prostatit durumunu doğrudan yansıtabileceği belirlenmiştir.

Prostatitlerde özellikle kronik prostatitin tanı ve tedavisinde zorluklar bulunmaktadır. Etiyolojisi ve patofizyolojisi hala tam açıklığa kavuşmamış olan bu hastalıkta hayvan modellerine ihtiyaç bulunmaktadır. Etiyoloji ve patofizyoloji tanımlandığında tedavide de ilerlemeler kaydedilebilir.

Kaynaklar

1. Campbell-Walsh Uroloji 11. Edition International Edition; 2016.p.304-333
2. Çek M. Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome. Turk J Urol 2005; 31(4): 569-573
3. Feng Z, Hequn C, Jinrui Y, Long W, Yu C, Xiao G et al. Development and Validation of an Animal Model of Prostate Inflammation-Induced Chronic Pelvic Pain: Evaluating from Inflammation of the Prostate to Pain Behavioral Modifications. Plos One 2014;13(9):e96824
4. A. J. Schaeffer Epidemiology and demographics of prostatitis. Andrologia 2003;35:252-257
5. Appiya S.M, Khan F, Naveed M, Ali U, Ahsan MZ, Khongorzul P et al. Interventions to chronic prostatitis/Chronic pelvic pain syndrome treatment. Where are we standing and what's next? Eur J Pharmacol. 2019;857:172429

6. W. Weidner, H. G. Schiefer, H. Krauss, Ch. Jantos, H. J. Friedrich, M. Altmanberger Chronic prostatitis: a thorough search for etiologically involved microorganisms in 1,461 patients. *Infection*. 1991;19 Suppl 3:119-25
7. Wang X, Zhong S, Xu T, Xia L, Zhang X, Zhu Z et al. Histopathological classification criteria of rat model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Int Urol Nephrol*. 2015;47(2):307-16
8. Wade A. B, Travis J. J. The role of prostate inflammation and fibrosis in lower urinary tract symptoms *Am J Physiol Renal Physiol* 2016;311: 817–821
9. EV Vykhovanets, MI Resnick, GT MacLennan, S Gupta Experimental rodent models of prostatitis: limitations and potential. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2007;10(1):15-29
10. Wang W, Naveed M, Baig MMFA, Abbas M, Xiaohui Z Experimental rodent models of chronic prostatitis and evaluation criteria. *Biomed Pharmacother*. 2018;108:1894-1901
11. Jesik CJ, Holland JM, Lee C. An anatomic and histologic study of the rat prostate. *Prostate* 1982;3: 81–97.
12. Sugimura Y, Cunha GR, Donjacour AA. Morphogenesis of ductal networks in the mouse prostate. *Biol Reprod* 1986; 34:961–971.
13. Depiante-Depaoli M, Pacheco-Rupil B, Britos S, Casas A. Experimental autoimmune damage to rat male accessory glands. I. Transfer of autoimmune response by spleen cells. *Am J Reprod Immunol*. 1984;5(1):9-14.
14. Donadio AC1, Depiante-Depaoli M. Inflammatory cells and MHC class II antigens expression in prostate during time-course experimental autoimmune prostatitis development. *Clin Immunol Immunopathol*. 1997;85(2):158-65.
15. Schaeffer AJ¹, Datta NS, Fowler JE Jr, Krieger JN, Litwin MS, Nadler RB et al. Overview summary statement. Diagnosis and management of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome (CP/CPPS) Chronic Prostatitis Collaborative Research Network. *Urology*. 2002;60(6 Suppl):1-4
16. Qi X, Han L, Liu X, Zhi J, Zhao B, Chen D, et al. Prostate extract with aluminum hydroxide injection as a novel animal model for chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Urology*. 2012;80(6):1389.e9-15
17. Keetch DW, Humphrey P, Ratliff TL. Development of a mouse model for nonbacterial prostatitis. *J Urol*. 1994;152(1):247-50
18. Jackson CM, Flies DB, Mosse CA, Parwani A, Hipkiss EL, Drake CG. Strain-specific induction of experimental autoimmune prostatitis (EAP) in mice. *Prostate*. 2013;73(6):651-6.
19. Ihsan AU, Khan FU, Nawaz W, Khan MZ, Yang M, Zhou X. Establishment of a rat model of chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome (CP/CPPS) induced by immunization with a novel peptide T2. *Biomed Pharmacother*. 2017 Jul;91:687-692.
20. Zhang L, Ihsan AU, Cao Y, Khan FU, Cheng Y, Zhou X et al An Immunogenic Peptide, T2 Induces Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome: an Autoimmune Mouse Model for Interstitial Cystitis/Painful Bladder Syndrome. *Inflammation*. 2017;40(6):2033-2041.
21. Khan FU, Ihsan AU, Nawaz W, Khan MZ, Yang M, Wang G et al. A novel mouse model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome induced by immunization of special peptide fragment with aluminum hydroxide adjuvant. *Immunol Lett*. 2017;187:61-67
22. Rivero VE¹, Cailleau C, Depiante-Depaoli M, Riera CM, Carnaud C. Non-obese diabetic (NOD) mice are genetically susceptible to experimental autoimmune prostatitis (EAP). *J Autoimmun*. 1998;11(6):603-10
23. Vykhovanets EV¹, Resnick MI, Marengo SR. The healthy rat prostate contains high levels of natural killer-like cells and unique subsets of CD4+ helper-inducer T cells: implications for prostatitis. *J Urol*. 2005;173(3):1004-10
24. Penna G1, Amuchastegui S, Cossetti C, Aquilano F, Mariani R, Giarratana N, Spontaneous and prostatic steroid binding protein peptide-induced autoimmune prostatitis in the nonobese diabetic mouse. *J Immunol*. 2007;179(3):1559-67
25. Rivero V, Carnaud C, Riera CM. Prostatein or steroid binding protein (PSBP) induces experimental autoimmune prostatitis (EAP) in NOD mice. *Clin Immunol*. 2002;105(2):176-84
26. Radhakrishnan R, Nallu RS. Development and characterisation of a novel animal model of prostate inflammation-induced chronic pelvic pain. *Inflammopharmacology*. 2009;17(1):23-8.
27. Naslund MJ, Coffey DS. The differential effects of neonatal androgen, estrogen and progesterone on adult rat prostate growth. *J Urol*. 1986;136(5):1136-40.
28. Naslund MJ, Strandberg JD, Coffey DS. The role of androgens and estrogens in the pathogenesis of experimental nonbacterial prostatitis. *J Urol*. 1988;140(5):1049-53.
29. Robinette CL: Sex-hormone-induced inflammation and fibromuscular proliferation in the rat lateral prostate. *Prostate*. 1988;12(3):271-86.
30. Pakarainen T, Zhang FP, Mäkelä S, Poutanen M, Huhaniemi I. Testosterone replacement therapy induces spermatogenesis and partially restores fertility in luteinizing hormone receptor knockout mice. *Endocrinology*. 2005;146(2):596-606
31. Nickel JC. Recommendations for the evaluation of patients with prostatitis. *World J Urol*. 2003;21(2):75-81.

32. Nickel JC. Antibiotics for bacterial prostatitis. *J Urol.* 2000;163(5):1407.
33. Kaplan L, Lee C, Schaeffer AJ. Effect of castration on experimental bacterial prostatitis in rats. *Prostate.* 1983;4(6):625-30.
34. Nickel JC, Olson ME, Barabas A, Benediktsson H, Dasgupta MK, Costerton JW. Pathogenesis of chronic bacterial prostatitis in an animal model. *Br J Urol.* 1990;66(1):47-54.
35. Rippere-Lampe KE, Lang M, Ceri H, Olson M, Lockman HA, O'Brien AD. Cytotoxic necrotizing factor type 1-positive *Escherichia coli* causes increased inflammation and tissue damage to the prostate in a rat prostatitis model. *Infect Immun.* 2001 Oct;69(10):6515-9.
36. Rank RG, White HJ, Soloff BL, Barron AL. Cystitis associated with chlamydial infection of the genital tract in male guinea pigs. *Sex Transm Dis.* 1981;8(3):203-10.
37. Jantos CA, Augustin J, Durchfeld-Meyer B, Baumgärtner W, Schiefer HG. Experimental genital tract infection with *Chlamydia psittaci* (GPIC agent) in male rats. *Infection.* 1998;26(2):126-30.
38. Elkahwaji JE, Ott CJ, Janda LM, Hopkins WJ. Mouse model for acute bacterial prostatitis in genetically distinct inbred strains. *Urology.* 2005;66(4):883-7
39. Takechi S, Yokoyama M, Tanji N, Nishio S, Araki N. Nonbacterial prostatitis caused by partial urethral obstruction in the rat. *Urol Res.* 1999;27(5):346-50.
40. Gatenbeck L, Aronsson A, Dahlgren S, Johansson B, Strömberg L. Stress stimuli-induced histopathological changes in the prostate: an experimental study in the rat. *Prostate.* 1987;11(1):69-76.
41. Sharma OP, Adlercreutz H, Strandberg JD, Zirkin BR, Coffey DS, Ewing LL. Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1992;43(6):557-64
42. Lang MD, Nickel JC, Olson ME, Howard SR, Ceri H. Rat model of experimentally induced abacterial prostatitis. *Prostate.* 2000;45(3):201-6

KISIM 10

İNFRAVEZİKAL OBSTRÜKSİYON İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: M. Önder YAMAN

BPH–Mesane Çıkım Obstrüksiyonu

53

Muhammet Arif İBİŞ, Önder YAMAN

Boşaltım / işeme bozuklukları, mesaneyi boşaltmadaki tam ya da kısmi başarısızlık olarak tarif edilebilir. Azalmış mesane kontraktilesi, artmış mesane çıkım rezistansı ya da her ikisinin beraber olduğu durumlarda işeme bozuklukları meydana gelir.

Mesane çıkım direnci, erkeklerde kadınlardan çok daha sıktır. Bu durum her ne kadar anatomik obstrüksiyona sekonder olsa da mesane kontraksiyonu sırasında çizgili ya da düz sfinkterlerin aktif kontraksiyonu veya gevşeyememesinin sonucu olarak da ortaya çıkabilir. Anatomik darlıklar, posterior üretral valv gibi konjenital olarak kendini gösterebileceği gibi benign prostat obstrüksiyonu ve akkiz üretra darlıkları gibi sonradan ortaya çıkabilecek durumlar da olabilir. Boşaltım semptomları olan bir hastada bu semptomların azalmış mesane aktivitesine mi yoksa infravezikal obstrüksiyona mı bağlı olduğunu anlamamıza yarayan en iyi tanı yöntemi ise şüphesiz 'basınç akım çalışmaları' dır. Basınç akım çalışmalarında infravezikal obstrüksiyon tanısı koyduğumuz hastalara endikasyonlarına göre konservatif / medikal tedavi veya cerrahi tedavi uygulanır.

Günümüzde infravezikal obstrüksiyonu bulunan hastalara biz ürologlar tarafından önerilebilecek çeşitli medikal tedavi modaliteleri vardır. Bu ilaçlar tek başlarına veya kombine edilerek hastalara reçete edilir. Çoğunlukla bu tedaviler infravezikal obstrüksiyonu tedavi etmeye yönelik değil semptomları düzeltmeye veya hafifletmeye yöneliktir. Bundan dolayı özellikle infravezikal obstrüksiyonun en önemli nedenlerinden biri olan benign prostat hiperplazisi (BPH) 'nin medikal tedavisi konusunda ilaç şirketleri her yıl bu konuya ayırdığı bütçeyi arttırmakta ve çalışmalarını genişletmektedir. En büyük handikap ise ilaçların direkt insanlar üzerinde uygulanamaması bunun yerine hayvan modelleri üzerinde denenmesidir. Bunun sonucunda da insan alt üriner sistemine gerek anatomik gerek fonksiyonel yönden en çok benzerliği bulunan hayvanlar bu çalışmalarda tercih edilmişlerdir.

Yine aynı şekilde infravezikal obstrüksiyonu bulunan ve cerrahi tedavi endikasyonu bulunan hastalara operasyon önerilmektedir. Bunun için en yaygın yöntem olan transüretral rezeksiyon (TUR) her ne kadar etkili olsa da uzun

süren iyileşme dönemi, postop erken dönemde görülen depolama ve işeme semptomları ve akut idrar retansiyonu gibi yan etkilere sahiptir (1). Benzer komplikasyonların görülmemesi için daha minimal invaziv bir seçenek olan üretral stentler ilk önce hayvan modellerinde kullanılmıştır. Bununla ilgili Feldy Y ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, köpek üretrasına uygulanan C şeklindeki nitinol implantların BPH'ya bağlı alt üriner sistem semptomlarını hafifletmek için uygulanabilir minimal invaziv bir prosedür olduğu gösterilmiştir (1).

İnfravezikal obstrüksiyon ve BPH –mesane çıkım obstrüksiyonunu konu alan deney hayvan modellerinden bazılarının metodolojileri şu şekilde özetlenebilir:

Dobrek L. ve ark.'nın yaptığı çalışmada 30 adet fare, pentobarbital anestezisi altında uygun bir karın kesisi ile açılarak, fare üretralarına ulaştırılmıştır. İnfravezikal obstrüksiyonu sağlamak üzere, üretraya 0.58 mm'lik polietilen bir katater yerleştirildikten sonra proksimal üretra bağlanarak daraltılıp katater çıkarılmıştır (2). Bisogni S. ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise 21 adet fare 3 gruba ayrıldıktan sonra, infravezikal tıkanıklığa neden olan ürolojik hastalıklara model olabilmesi için, fareler abdominal kesi ile açılıp periüretral dokular ayrılıp mesane boynuna 2 mm'lik gümüş bir halka yerleştirilmiştir (3).

Almeida Prado PS ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada da yine Mattiassonand Uvelius'un 1982 yılında tarif ettiği prosedür uygulanmıştır. Wistar cinsi fareler abdominal kesi ile açılıp, üretralarına 20 G angiokatater yerleştirilip, üretraları 3-0 ipek sütür ile bağlanarak daraltılmıştır (4). Tucci S Jr. ve ark.'ları ise 14 farenin üretralarını serbestledikten sonra etrafını 0.4 cm genişliğinde ve 1.0 cm uzunluğunda selofan bant ile sarıp, bant uçlarını monoflaman bir sütür ile tespitlemiştir (5). Riehmman M. ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada da 58 köpek gruplara ayrılıp, infravezikal obstrüksiyon

oluşturulmak istenen gruba 4.5-6 cm aralığında artifisyonel üriner sfinkter yerleştirilmiştir (6). Kuo HC. ve ark.'ları ise obstrüksiyon modeli oluşturmak için tavşanları kullanmışlardır. Tavşanlar abdominal kesi ile açılıp, üretralarına ulaştırılmış, uygun diseksiyon sonrası 5 mm çaplı polietilen tüp yerleştirilmiştir (7).

Benign Prostat Hiperplazisi –Mesane Çıkım Obstrüksiyonu

BPH ve mesane çıkım obstrüksiyonu üzerine yapılan hayvan modeli çalışmaları, etyolojiyi ve patofizyolojiyi araştırmak, medikal ve cerrahi tedavilerin başarılarını ve advers etkilerini aydınlatmak için kurgulanır.

Hayvanlarda da, özellikle kedi köpek ve kemirgenlerde, insanlara benzer şekilde alt üriner sistem semptomları (AÜSS) görülmektedir. Özellikle kastre olmamış hayvanlarda ilerleyen yaşla birlikte fizyolojik veya patolojik prostat hiperplazisi oluşur ve bunun için delmandinon asetat, siproteron asetat gibi antiandrojen ilaçlar deney hayvanlarına uygulanır. Köpeklerde altıncı yaşa ulaşıldığında BPH çok sık oranda görülür ve bu durum asemptomatik seyrebileceği gibi enfeksiyon ve subfertilite gibi semptomlar da verebilir. (8). İnsandaki prostat morfolojisini ve patolojisini en güzel taklit eden hayvan modeli köpekler üzerinde oluşturulabilse de, bu hayvanlarla çalışma için yeterli sayıya ulaşılamamakta ve maliyeti çok yüksek olmaktadır. Bu nedenle prostat üzerine yapılan çalışmalar, insan prostatına köpek prostatı kadar benzerlik göstermese de, morfoloji ve patolojisini güzel bir şekilde taklit eden fareler ve sıçanlar üzerinde daha sık yapılmaktadır.

Fare / sıçan prostatı ile insan prostatı doku benzer şekilde köken alsa da homolog organlar değildirler. Örnek verilecek olursa kemirgenlerde ventral tomurcuk gelişimine devam ederken, insan fetüslerinde ventral tomurcuk regrese olur. Bu yüzden kemirgenlerdeki vent-

ral prostat lobunun insanlarda homoloğu yoktur. (9) Bezlerin bileşenleri arasında belirgin histolojik benzerlik vardır. Kemirgenlerde prostat lobları dorsal, ventral, lateral ve anterior (coagulating glands) loblar olarak adlandırılmaktadır. (10) Eğer bu hayvanlar üzerinde bir çalışma planlanıyor ise araştırılacak patolojiye göre çalışılacak prostat lobu belirlenmelidir. Genel olarak BPH çalışmalarında fare ventral lobu tercih edilirken, dorsal ve lateral lob ise prostat kanseri çalışmalarında kullanılır. Öyleki ventral ve dorsolateral loblarda gen ekspresyon çeşitleri ve miktarları da farklılık gösterir. (11)

Genel olarak çalışmalarda BPH oluşturabilmek için hayvanlara dihidrotestosteron, testosteron propionat/enanthate, estradiol, fenilefrin ve EGF gibi büyüme faktörleri verilerek belli bir maruziyet sonrasında anatomik, histolojik veya moleküler bazda genetik değişiklikler incelenir. Ajanlara göre alınan cevaplar değişebileceği gibi hayvan türlerine ve hatta aynı türdeki farklı cinslere göre de sonuçlar değişebilmektedir. Scolnik ve ark.'nın 238 fareyi inceledikleri çalışma, farklı fare cinslerinin prostat hiperplazilerindeki atipi miktarının farklı olduğunu göstermiştir. Wistar cinsi fareler BPH modelleri için kullanılabilir en iyi grupken, Fischer cinsi fareler BPH gelişimine en dirençli grup oldular. Fakat Fischer cinsi fareler de testis tümörleri için daha yüksek bir riske sahiptiler (12). Bu sonuçla, hayvan modelleri üzerinde BPH değerlendirilirken domuz, köpek, fare gibi farklı hayvan türlerinin prostatlarında farklı hiperplastik değişikliklerin görülmesi de şaşırtıcı olmayacaktır.

ETYOLOJİ-PATOFİZYOLOJİ

BPH etyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmamakla birlikte androjenlerin prostat hücrelerinde proliferatif etki göstererek prostatın fizyolojik ve sonrasında patolojik büyümesinde etkili olduğu bilinmektedir. İnsan, köpek ve

kemirgende, serum testosteronunda yaşa bağlı düşüşler olsa da kümülatif etki ile BPH yaşla birlikte artar. Prostat hiperplazisine yol açan olası mekanizmalar uzun yıllar boyunca hayvan modellerinde kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Androjenlerin, östrojenlerin ve büyüme faktörlerinin duruma katkıda bulunduğu açıktır, ancak tam etiyoloji bilinmemektedir. Anti-androjen uygulamalar hayvan deneylerinde BPH'yi önlemek için kullanılmaktadır. Hormon biyosentezi veya androjen reseptörü aktivasyonunu hedefleyerek elde edilebilen androjen yoksunluğu, hayvan modellerinde semptom iyileşmesi ile sonuçlanır (13).

Tam aksi yönde hayvan çalışmaları da mevcut olup, Pourmarin ve ark. bir çalışmalarında 3mg/kg dozunda 15 gün testosteron propionatı farelere uygulamışlardır (14). Fare prostatında bol miktarda bulunan endotelin (ET) reseptörlerinin (ET-A ve ET-B) mRNA'ları, testosteron tedavisi verilmeden önce ve sonra ölçülüp, prostat hipertrofinde bu reseptörlerin etkisinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Fakat testosteron verilen farelerin prostat ağırlıkları %75 oranında artmıştır.

Farelerde oluşturulan değişik BPH modellerinin, her ne kadar insanlardaki gibi AÜSS'ye neden olmasa da, histolojik olarak bu hastalığın moleküler ve genetik yönünün ve fizyopatolojisinin aydınlatılmasında büyük katkıları vardır. BPH etyolojisini açıklamaya çalışan pek çok çalışma yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir.

MEDİKAL TEDAVİ

Günümüzde alfa bloker tedavisi BPH'nin temel medikal tedavisi haline gelmiştir. Tek başına veya kombinasyon tedavisinde kullanımı mevcuttur. 1975 yılında Caine ve ark. insan prostatının α -adrenerjik agonist olan norepinefrinin varlığıyla kasıldığını göstermiştir (15). Bu konuda çalışmalar klinik BPH'nin patofizyolojisinin

prostatik düz kaslardaki $\alpha 1$ -adrenerjik reseptörlerle tetiklenen mesane çıkım obstrüksiyonuyla oluştuğu göstermişlerdir (16). Mesane çıkım obstrüksiyonu ve BPH'ya bağlı AÜSS'nin fizyopatolojisinde önemli yeri olan α adrenerjik reseptörler üzerinde yapılan hayvan çalışmaları mevcuttur. Fakat α adrenerjik reseptör alt tipine selektif antagonistlerin etkileri hayvan modellerinde iyi bir şekilde açıklanamamıştır (17). Bütün bunlar, BPH'ya bağlı mesane çıkım obstrüksiyonu ve AÜSS'nin birçok karışık mekanizmaya sahip olabileceğini akla getirmektedir.

Tatemichi S ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada tamsulosin, silodosin, alfuzosin, naftopidil gibi selektiviteleri farklı 4 α adrenerjik antagonist ilaç farelere uygulayarak farelerdeki ejakülasyon problemlerini araştırmışlar, bu ilaçlar arasında ejakülasyon problemleri arasında bir fark gösterememişlerdir (18).

5 α -redüktaz inhibitörlerinden Finasterid (PROSCAR®)'in köpeklerde 21 hafta boyunca 1 mg/kg/gün dozunda düzenli bir şekilde kullanılmasının prostat boyutlarında önemli bir azalmaya sebep olduğunu bildirilmiştir (19). PDE5 enzim inhibitörlerinin de hayvan çalışmalarında alt üriner sistemdeki damarlarda gevşeme, kan akımında ve doku oksijenizasyonunda artış ve mesanede afferent sinir uyarımında azalma sağlayarak AÜSS'ni düzeltebileceği belirtilmiştir (20). Ayrıca antikolinergikler desmopressin gibi diğer seçenekler için de pek çok hayvan çalışması mevcuttur.

CERRAHİ TEDAVİ

BPH'nın en sık kullanılan cerrahi tedavisi seçeneklerinden birisi hepimizin bildiği gibi TUR'dur. KTP, holmium, neodimyum, diot gibi farklı lazer tipleri ile yapılan TUR'da hemoraji en sık karşılaşılan komplikasyondur. Bu lazerlerin kanama miktarlarının karşılaştırıldığı pek çok hayvan çalışması mevcuttur. Bunlardan birisi Seitz M. ve ark.'larının yaptığı çalışmadır. Çalış-

mada 1,470 nm diode lazerin etkinliği domuz ve köpek modellerinde incelenmiş olup, diod lazerin koagüle ettiği doku genişliğinin daha fazla olduğu ve daha az hemorajiye sebep olabileceği bildirilmiştir. (21). Huang ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada ise bipolar TUR ile monopolar TUR 25 köpeğe uygulanarak karşılaştırılmış. Bipolar TUR'un daha az kanamaya ve termal hasara sebep olduğu görülmüş. (22)

İnfravezikal obstrüksiyonda ve BPH'da yapılan deney hayvan modellerinden genel itibari ile bahsettik. Bu hastalıkların fizyopatolojisini, gerekse tedavi protokollerini belirlemek için, özellikle kemirgen türlerinde ağırlıklı olmak üzere, değişik hayvanlarda çeşitli deneysel çalışmalar yapıldığını gördük. Deneysel çalışmalarda hastalıkların doğal / spontan olarak veya indüklenerek geliştiği hayvan türlerinin kullanılması, insandaki fizyopatolojinin anlaşılmasında en doğru yolu gösterip, uygun tedavi seçeneklerinin seçilmesine olanak sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Feld Y, Golan S, Leibovitch I. Assessing the Safety and Efficacy of the ClearRing™ Implant for the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia in a Canine Model. *Curr Urol.* 2018 Jun;11(4):206-211. doi: 10.1159/000447220. Epub 2018 Mar 30.
2. Dobrek Ł, Baranowska A, Skowron B, Thor PJ. The influence of piroxicam, a non-selective cyclooxygenase inhibitor, on autonomic nervous system activity in experimental cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis and bladder outlet obstruction in rats. *Act.*
3. Influence of oxidative stress on inducing micturition dysfunction following chronic infravesical obstruction and the protective role of an antioxidant diet - association of in vivo and in vitro studies in rats. Bisogni S, Ferreira FT, Amstalden Neto A, Chiarelli LO, Ortiz V. s.l. : *Int Braz J Urol.* 2012 Jul-Aug;38(4):552-60.
4. Almeida Prado PS, Soares MF, Lima FO, Schor N, Teixeira VP. Amitriptyline aggravates the fibrosis process in a rat model of infravesical obstruction. *Int J Exp Pathol.* 2012 Jun;93(3):218-24. doi: 10.1111/j.1365-2613.2012.00813.x. Epub 2012 May 8.

5. Tucci S Jr, Molina CA, Cassini MF, Andrade MF, Lima GJ, Martins AC. Chronic partial urethral obstruction in female rats: description of an experimental model and initial results. *Acta Cir Bras.* 2011;26 Suppl 2:111-4.
6. Riehmman M, Holder CR, Saban R, Nielsen KT, Rhodes PR, Heisey D, Bruskewitz RC. Dog model for studying detrusor instability secondary to acutely induced variable bladder outlet obstruction. *Prostate.* 1998 Feb 15;34(3):182-90.
7. Kuo HC. Effects of mild bladder outlet obstruction on rabbit bladder structure and function. *J Formos Med Assoc.* 1995 Sep;94(9):555-61.
8. Christensen BW. Canine Prostate Disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2018 Jul;48(4):701-719. doi: 10.1016/j.cvsm.2018.02.012.
9. Vom Saal FS, Montano MM, Wang MH. Chemically-Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife Human Connection. Princeton Scientific, Princeton 1992;21:17–83.
10. Oksay T, Ergün O. Ratlarda Deneyisel Benign Prostat Hiperplazisi Modeli. *Journal of Clinical and Analytical Medicine.*
11. Zhang J, Wang L, Zhang Y, Li L, Higgins L, Lü J. Lobe-specific proteome changes in the dorsal-lateral and ventral prostate of TRAMP mice versus wild-type mice. *Proteomics.* 2011 Jun;11(12):2542-9. doi: 10.1002/pmic.201100008. Epub 2011 May 20.
12. Scolnik MD, Servadio C, Abramovici A. Comparative study of experimentally induced benign and atypical hyperplasia in the ventral prostate of different rat strains. *J Androl* 1994 Jul-Aug;15(4):287-97.
13. Banerjee PP, Banerjee S, Brown TR, Zirkin BR. Androgen action in prostate function and disease. *Am J Clin Exp Urol.* 2018 Apr 1;6(2):62-77. eCollection 2018.
14. Auger-Pourmarin L, Roubert P, Chabrier PE. Endothelin receptors in testosterone-induced prostatic hypertrophy in rats. *Jpn J Pharmacol.* 1998 Aug;77(4):307-10.
15. Caine M, Raz S, Ziegler M. Adrenergic and cholinergic receptors in the human prostate, prostatic capsule and bladder neck. *Br J Urol* 1975; 27: 193-202.
16. Caine M. The present role of alpha adrenergic blockers in the treatment of benign prostatic hypertrophy. *J Urol* 1986; 136: 1-4.
17. Kaplan SA, Roehrborn CG, Rovner ES, Carlsson M, Bavendamm T, Guan Z. Tolterodine and tamsulosin for treatment of men with lower urinary tract symptoms and overactive bladder. A randomized controlled trial. *JAMA.* 2006 Nov 15;296(19):2319-2328.
18. Tatemichi S, Kobayashi K, Yokoi R, Kobayashi K, Maruyama K, Hoyano Y et al. Comparison of the effects of four α 1-adrenoceptor antagonists on ejaculatory function in rats. *Urology.*2012 Aug;80(2):486.e9-16. doi: 10.1016/j.urology.2012.01.039. Epub 2012 Jun5.
19. Khadidja M, Adel A. Canine Prostatic Disorders. *Veterinary Medicine* ISSN 2475-1286.
20. Morelli A, Sarchielli E, Comeglio P, Filippi S, Mancina R, Gacci M et al. Phosphodiesterase Type 5 Expression in Human and Rat Lower Urinary Tract Tissues and the Effect of Tadalafil on Prostate Gland Oxygenation in Spontaneously Hypertensive Rats. s.l. : J Sex Med 8: 2746-2760, 2011.
21. Seitz M, Ruszat R, Bayer T, Tilki D, Bachmann A, Stief C, Sroka R, Reich O. Ex vivo and in vivo investigations of the novel 1,470 nm diode laser for potential treatment of benign prostatic enlargement. *Lasers Med Sci.* s.l. : Lasers Med Sci. 2009 May;24(3):419-24. doi: 10.1007/s10103-008-0591-x. Epub 2008 Aug 7.
22. Huang X, Wang XH, Wang HP, Shi HB, Zhang XJ, Zhou J, Yu ZY. Bipolar transurethral resection of the prostate versus monopolar transurethral prostatectomy: a pathological study in a canine model. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2010 Aug;16(8):712-5.

Gökhan FAYDACI

Üretral darlık; epitelyal ve korpus spongiosal dokuda fibrosis ve skar oluşumu ile üretral lümenin daralması sonucu gelişir. Doku esnekliği azalır, işeme gücü artar ve hayat kalitesi düşer. Üretral epitelin ve alttaki dokunun travma, enfeksiyon ya da kateterizasyon sonrası zedelenmesi neticesinde olan ektravazasyon, enflamasyon ve skar oluşumu darlığa sebep olabilir. Darlığın uzunluğu ve ciddiyeti ile komplikasyon oranları doğru orantılıdır (1). Darlığın yerine ve derecesine bağlı olarak değişik tedavi alternatifleri mevcuttur. Düşük dereceli darlıklarda direkt görüş altında internal üretrotomi ya da üretral dilatasyon tercih edilir. Rekürrens oranları %6-75 arasındadır (2). Daha ciddi darlıklarda skar dokusunun çıkarılması ve uç uca anastomoz yapılan üretroplasti operasyonu gerekir. Yeni ve etkili tedavi yöntemleri geliştirebilmek için deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulur ve bu çalışmalar için hayvanlarda çeşitli üretral darlık yaratma modelleri tanımlanmıştır. Genellikle fare, tavşan, köpek ya da domuz kullanılmıştır.

Kullanılan yöntemler

1- Termokoagulasyon: Üretrada darlık oluşturulmak istenen bölgeye ülserasyon ya da so-

lukluk oluncaya kadar elektrokoagulasyon (3,4) ya da laser uygulamak. Bazı olgularda epitelyal dokunun rejenerasyonuna bağlı olarak darlık gelişmeyebilir. Termokoagulasyon yöntemi ile diğer yöntemlere göre daha az oranda darlık başarısı mevcuttur (3).

2- Ligasyon: Açık cerrahi ile üretral hazırlık sonrası nonabsorbabil polypropilen ile sıkı fakat üretral lümeninde tam obliterasyon yapmayan bağlama yapılır (4). Açık cerrahi yöntemle yaratılan hayvan darlık modelleri prosedürü üzerindeki kontrolün yüksek olması nedeniyle tekrarlanabilirlik oranları yüksek olmasına rağmen ciddi yara ve üretral fistül komplikasyonları azımsanmayacak kadar fazladır.

3- Üretrotomi: Üretrada darlık oluşturulmak istenen bölgede kanama oluncaya kadar üretrotom, laser ya da açık yöntemle kesmek (4,5). Saat 12 hizasından üretrotomi ile kesilerek veya Ho:YAG laser kullanarak saat 12, 9 ve 3 hizalarından üretraya hasar vererek darlık yaratılmış çalışmalar vardır (4,5).

4- Rezeksiyon: Üretrada darlık oluşturulmak istenen bölgeye uygun boyuttaki rezektoskop

ile periüretral doku görülünceye kadar ve lümeniden idrar kaçağına izin verecek derecede üretral mukozal rezeksiyon yapmak (3). Bu yöntemde zaman zaman insizyon derinliğini kontrol etme güçlüğü olabilir.

Bu girişimlerden sonra üriner diversiyon her zaman şart değildir. Girişim sonrası retansiyon olursa suprapubik ponksiyon ile idrar boşaltmak yeterli olur (5). Bazı çalışmalarda girişim esnasında sistostomi açılarak diversiyon yapılmıştır (4). Üretrogram ile kontrol genellikle 4, 8 ya da 12 hafta sonra yapılır. Daha sonra spesmenler çıkarılır ve hayvan modelleri sakrifiye edilir. Spesmenler histolojik incelemeye tabi tutulur.

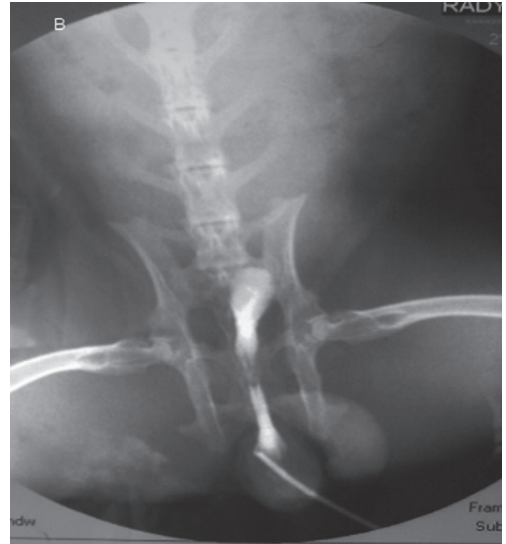
Histopatolojik olarak üretral darlık korpus spongiosumun fibrosis ile yer değiştirmesi ile karakterizedir. Meira ve arkadaşları tavşan modelinde elektrokoterizasyon sonrası darlık alanının kalın bir hyalin fibrosis ile yer değiştirdiğini göstermişlerdir (6). Ayyıldız ve ark. ise internal üretrotomi yapılan ratlarda çeşitli derecelerde fibrosis gelişen uretral darlık modeli göstermişlerdir (7). Tavşan termokoagulasyon modelinde 15. günde fibrosis içinde nadir lenfosit ve zaman zaman yabancı cisim dev hücreler görülmüştür fakat 30. günde enflamatuvar reaksiyon görülmemiştir (6).



Resim 1A. Elektrokoterizasyon ile oluşturulan darlık modeli

Ürotelyal bazal membran altındaki konnektif doku fibroblast ve çoğunlukla Tip 1 ve 3 kollajen içeren ekstrasellüler matriksten oluşur. Darlık modellerinde ekstrasellüler matrikste artmış tip 1 ve 3 kollajen ve üretral lümeni daraltan kollajen lifleri gösterilmiştir (3).

Sievert ve ark. ligasyon, üretrotomi ve termokoagulasyon yöntemlerini erkek domuzlarda uygulamış ve bunu insan üretrasındaki darlık ile karşılaştırmışlardır. Bu üç methodda farklı derecelerde darlık yaratılmıştır. Ciddiyet sırasına göre üretrotomi en düşük derece ve termokoagulasyon en yüksek dereceli darlığa sebep olmuştur (2). Termokoagulasyon hayvan modeli insan üretrasındaki darlığa benzer oranlarda artmış fibrosis göstermiştir. Faydacı ve ark. tavşan modelinde yaptığı çalışmada ise elektrokoagulasyon yapılan grupta ciddi darlık gösterilmemiştir (Resim 1A). Elektrozeksiyon yapılan grupta daha başarılı darlık yaratılmıştır ve darlık yaratma modeli olarak daha iyi olduğu vurgulanmıştır (3) (Resim 1B).



Resim 1B. Elektrozeksiyon ile oluşturulan darlık modeli

Hayvan üretral darlık modelleri, üretral darlık patofizyolojisinin anlaşılması ve üretral darlık tedavisindeki yöntemlerin etkinliğinin incelenmesi için imkanlar sunar. Yeni tedavi yöntemlerinin güvenilirliği ve etkinliğinin klinik uygulamalar öncesi hayvan modellerinde gösterilmesi zorunludur. Bu hayvan modelleri tekrarlanabilir ve kolay uygulanabilir olmalıdır. İdeal bir yöntem ve ideal hayvan konuları henüz netlik kazanmamıştır.

Kaynaklar

1. Fenton AS, Morey AF, Aviles R et al: Anterior urethral strictures: etiology and characteristics. *Urology* 2005; 65: 1055
2. Naude AM and Heyns CF: What is the place of internal urethrotomy in the treatment of urethral stricture disease? *Nat Clin Pract Urol* 2005; 2: 538.
3. Faydacı G, Tarhan F, Tuncer M, Eryildirim B, Celik O, Keser SH, Ozg. A. Comparison of two experimental models for urethral stricture in the anterior urethra of the male rabbit. *Urology*.2012 Jul;80(1):225.e7-11. doi: 10.1016/j.urology.2012.04.025. Epub 2012 May 23.
4. Sievert KD, Selent-Stier C, Wiedemann J, Greiner TO, Amend B, Stenzl A, Feil G, Seibold J. Introducing a large animal model to create urethral stricture similar to human stricture disease: a comparative experimental microscopic study. *J Urol*.2012 Mar;187(3):1101-9. doi: 10.1016/j.juro.2011.10.132. Epub 2012 Jan 21.
5. An Experimental Model of Urethral Stricture in Rabbits Using Holmium Laser under Urethrosopic Direct Visualization. Hu W.-F.a, Li C.-L.b, Zhang H.-P. b, Li T.-T.b, Zeng X.-Y.c *Urol Int* 2014;93:108-112
6. Meria P, Anidjar M, Brouland JP et al: An experimental model of bulbar urethral stricture in rabbits using endoscopic radiofrequency coagulation. *Urology* 1999; 53: 1054
7. Ayyildiz A, Nuhoglu B, Gulerkaya B et al: Effect of intraurethral mitomycin-C on healing and fibrosis in rats with experimentally induced urethral stricture. *Int J Urol* 2004; 11: 1122.

KISIM 11

TRANSPLANTASYON- OBSTRÜKTİF ÜROPATİ İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: İsmet NANE

Renal Transplantasyon

55

Nusret Can ÇİLESİZ, Şenol TONYALI

GİRİŞ

Renal transplantasyonda, pek çok farklı hastalıkta olduğu gibi karşılaşılan patofizyolojik mekanizmalarının anlaşılması ve yeni araştırmaların yapılması için hayvan modellerinin kullanılması esastır. Renal transplantasyon alanında greftin soğukta saklanması, iskemi-reperfüzyon hasarı, greft fonksiyonu ve rejeksiyonu, koruyucu solüsyonlar ve immunsupresyon konularında farklı hayvan türleri ile birçok deney yapılmıştır (1-4).

Pek çok deneyde göreceli olarak küçük deney hayvanları kullanılır. Fakat elde edilen bulguların insanlara uyarlanabilmesi için daha büyük hayvan modellerinde ortaya konmaları gerekmektedir. Büyük deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda klinik ve tanısal incelemeler yapılabilir, tekrarlayan şekilde kan örneği ve biyopsiler alınabilir. Ayrıca büyük hayvan modellerinde bulunan organlar insanlarınkine daha benzerdir. Renal transplantasyonda kullanılan hayvan modelleri kemirgenler, köpek, domuz ve insan dışındaki primatlardır.

KEMİRGENLER

Sıçanlar üzerinde yapılan renal transplantasyon ilk olarak 1965 yılında Fisher ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (5). Fisher ve arkadaşlarına benzer mikrovasküler tekniği farelerde kullanılan bir başka çalışma ise 1970'lerin başında Skoskiewicz ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (6). Farelerde transplantasyon işlemi başlarda %30-50 mortalite ile seyrederken yapılan modifiye edilen mikrocerrahi teknik ile başarı oranları %70'lere sonrasında ise %90'lara kadar çıkmıştır (7).

Kemirgen Türleri

İşlem fare ya da sıçanlarda uygulanabilir (8). Böbrek alıcı ve vericisi olarak 25-30 gr erkek fareler uygundur. Daha büyük fare seçildiğinde damarlar orantılı olarak büyük olmayacağından anlamsızdır. Aksine artan yağ dokusu nedeniyle prosedür zorlaşabilir (7). Çalışmalarda Sprague-Dawley, Wistar, Long-Evans, Lewis, Brown-Norway, Agus vb. sıçan cinsleri kullanılabilir. 3 aylıktan daha küçük ve 150 gr'ın altındaki sıçanlarda damar çapları nedeniyle trans-

plantasyon için anastomoz yapmak zorlaşabilir. Çok yaşlı sıçanlarda ise farelerde bahsedildiği gibi intraabdominal yağ dokusu çok artmış olabilir. Bu durum diseksiyon zamanını uzatarak hipotermiye ve işlem sonrası nekahet döneminin uzamasına neden olabilir. Pek çok çalışmada genellikle 200-400 gr ağırlığındaki sıçanlar kullanılmıştır (9).

Cerrahi Prosedür

Farelerde renal transplantasyonda tek ya da çift aşamalı iki farklı teknik kullanılabilir. Tek aşamalı teknikte greft böbrek transplante edildikten hemen sonra bilateral nativ böbrekler çıkarılırken, iki aşamalı teknikte greft böbrek nakil edildikten yedi gün sonra nativ böbrekler çıkarılmaktadır. Her iki prosedürün kendine göre artı ve eksileri mevcuttur. Öğrenme periyodunda çift aşamalı teknik önerilmektedir. Bu sayede renal greftte IRH'nin olası etkilerinin ortadan kalkması için yeterli zaman tanınmış olur. Ayrıca ikinci cerrahi sırasında greft direk olarak incelenebilir ve biyopsi alınabilir (7).

Cerrahi hem alıcı hem de verici de genelde sol tarafta gerçekleştirilir. Çünkü farenin sol böbreği sağa göre daha kaudaldedir ve sağ tarafta bulunan karaciğer operasyon sahasına erişimi sağ tarafta kısıtlıdır. Bir donörden tek böbrek alınabileceği gibi iki böbrek birden de alınabilir. Sütür olarak genellikle yuvarlak iğneli 10-0 naylon kullanılır. Damar anastomozu end-to-end, end-to-side ve sleeve (end-in-end) tekniği ile yapılabilir (9). Sıçanlarda ortotopik ve heterotopik olmak üzere tanımlanmış iki farklı renal transplantasyon modeli bulunmaktadır. Heterotopik nakilde greft aorta ve vena kavaya end-to-side şekilde anastomoz edilirken, ortotopik transplantasyonda böbrek kendi yatağına yerleştirilir ve end-to-end anastomoz yapılır (10).

Sıçanlardaki ile karşılaştırıldığında farelerdeki böbrek transplantasyonunu öğrenme eğ-

risi daha uzundur. Fareler sıçanlardan 10 ile 20 kat daha küçüktürler ve kanamaya, hipotermiye ve anestezi komplikasyonlarına karşı daha hassastırlar. Bunun yanında sıçanın renal arter çapı 0.7 ile 1 mm arasında iken farenin renal arter çapı 0.3 mm'dir (8).

KÖPEK

Köpek renal transplantasyon araştırmalarının başlangıcında en sık kullanılan büyük hayvan modellerinden biri idi. Köpekler üzerinde yapılan ilk deneysel başarılı renal transplantasyon 1902 yılında Emerich Ullman tarafından yapılmıştır. Ullman bir köpeğin böbreğini alarak aynı köpeğin boyun damarlarına anastomoz yapmış ve bu böbreğin boyun derisine sabitlediği üreterinden idrar geldiğini yani fonksiyone olduğunu göstermiştir (11). 1989 yılında McAnulty ve arkadaşlarının uygun koruyucu solüsyonlar içerisinde perfüzyon makinesi ile böbreği 5 gün boyunca başarılı şekilde muhafaza etmesi köpek böbreğinin insan böbreği kadar hassas olmadığını düşündürmüştür (12). 1980'li yıllarda Gregory ve arkadaşları ile Homan ve arkadaşları tarafından köpeklere siklosporin A ve prednizolon verilerek renal transplantasyon çalışmaları yapılmıştır (13,14).

DOMUZ

Domuzlar ile yapılan pre-klinik çalışmalar 1980'lerin başında dramatik olarak artmıştır. Domuzların kardiyovasküler sistem morfolojileri ve fizyolojik fonksiyonları ile böbrek içi anatomileri insanlarınki ile büyük ölçüde benzerlik göstermesi pek çok biyomedikal modelde kullanılmalarına neden olmuştur (15). Çalışmalarında domuz modeli kullanmanın pek çok avantajı vardır. Her şeyden önce domuzlar pek çok yönden insanlara köpek ve kemirgenlerden daha fazla benzerdirler. Domuzlar köpeklere göre daha az maliyetlidirler ve evcil hayvan olarak kabul görmezler (16). Ayrıca dişi domuzlar yılda

24 yavru verirler ki bu domuzların kolay ve hızlı ürediğini gösterir (17).

Domuzların üriner sistemleri pek çok yönden insanlarınkı ile benzerdirler (16). Örneğin domuzların böbrekleri insanlardaki gibi multipapillerdir. Domuz böbreği toplayıcı sistemindeki ortalama kaliks sayısı insanlardakine yakındır. Erişkin bir insanın böbreği 115 ile 179 gr arasında değişirken 20-30 kg'lık bir domuzun böbreği 150-180 gr'dır (17). Domuzun her bir böbreğinin hemen hemen her zaman tek bir arter ve veni bulunur. Arter ve ven renal hilus yakınında iki adet kraniokaudal dala ayrılır. Sol renal ven sağa göre daha erken dallanır. Renal transplantasyon çalışmalarında 30 kg domuz kullanılması teknik limitasyonlara bağlı olarak başarıyı tehlikeye atmadan kolayca nakil yapmayı sağlar (16).

Cerrahi Prosedür

Transplantasyon için böbreğin çıkarılmasında laparoskopik ya da açık cerrahi yaklaşım kullanılabilir. Dişi domuz seçimi orta hat insizyon yapılmasını kolaylaştırır. Ayrıca dişi domuzların iskemi reperfüzyon hasarına daha dirençli olduğu akıldaki tutulmalıdır (16,18). Domuz üretleri oldukça dardır, mukoza ödeme karşı çok hassastır ve fragil olabilir. Domuz üretlerinin orta segmenti peritoneal, iliak ve gonadal damarlardan beslendiği için uzun segment ureter implantasyonunun iskemik nekrozla sonuçlanma ihtimali daha yüksektir. Bu yüzden domuz üretlerinin sadece proksimal kısmının kullanılması daha güvenlidir (19).

Domuz arteri küçük çaplı olduğundan stenoza yol açmadan başarılı bir anastomoz yapmak için arteri aortadan bir Carrel yama ile birlikte çıkarmak ve anastomoz yapmak uygundur (19,20). Alınan böbrek greftinin arter anastomozu ortotopik teknikle aorta yapılabilineceği

gibi heterotopik teknik ile uç-uç ya da uç-yan olarak iliak artere yapılabilir. Heterotopik tekniğe arteriyel tromboz riski daha yüksektir. Ven anastomozu ise uç-yan olarak inferior vena kavaya ya da uç-uç olarak renal ven yahut iliak vene yapılabilir (21).

İNSAN OLMAYAN PRİMAT

İnsan dışı primatlar ile transplantasyon çalışmalarında babunlar, makaklar ve nadir olarak şempanzeler kullanılmaktadır. İnsan dışı primatların özellikle makakların immün sistemlerinin insanlarınkine oldukça benzer olmaları transplantasyon immünolojisi çalışmalarında sıklıkla kullanılmalarını sağlamıştır (22). İnsan dışı primatlar ile yapılan çalışmalarda yaşanan gelişmeler elde edilen sonuçların solid organ ya da hematopoetik kök hücre nakli yapılan hastalara uyarlanması konusunda umut vaat edicidir (23). Primatlarda yapılan renal transplantasyon küçük bir çocuktaki karın içi cerrahiye benzer (22).

Şempanzelerin insanlarla en yüksek derecede homolojiye sahip olmaları etik sorunları da beraberinde getirmiş ve çalışmalarda kullanılmalarında kısıtlamalara gidilmiştir (22). İnsan dışı primatların yüksek öz farkındalıkları olan akıllı hayvanlar olarak görülmeleri, senede sadece bir ya da iki yavru vermeleri, bakımının zor ve pahalı olmaları ve özellikle etik kaygılar nedeniyle transplantasyon çalışmalarında kemirgen ve domuzlar kadar yaygın kullanılmamaktadırlar (17).

SONUÇ

Renal transplantasyon çalışmalarında küçük hayvan modeli fare ve sıçanın, büyük hayvan modeli olarak ise domuzun kullanılması etik ve maliyet-etkinlik açısından uygun olarak görülmektedir.

Kaynaklar

1. La Manna G, Conte D, Cappuccilli ML, Nardo B, D'Addio F, Puviani L, Comai G, Bianchi F, Bertelli R, Lanci N, Donati G, Scolari MP, Faenza A, Stefoni S (2009) An in vivo autotransplant model of renal preservation: cold storage versus machine perfusion in the prevention of ischemia/reperfusion injury. *Artif Organs* 33 (7):565-570. doi:10.1111/j.1525-1594.2009.00743.x
2. Csomos RA, Hardie RJ, Schmiedt CW, Delaney FA, McAnulty JF (2017) Effect of cold storage on immediate graft function in an experimental model of renal transplantation in cats. *Am J Vet Res* 78 (3):330-339. doi:10.2460/ajvr.78.3.330
3. Schreinemachers MC, Doorschodt BM, Florquin S, van den Bergh Weerman MA, Reitsma JB, Lai W, Sitzia M, Minor TM, Tolba RH, van Gulik TM (2009) Improved preservation and microcirculation with POLYSOL after transplantation in a porcine kidney autotransplantation model. *Nephrol Dial Transplant* 24 (3):816-824. doi:10.1093/ndt/gfn559
4. Rusai K, Schmaderer C, Baumann M, Chmielewski S, Prokai A, Kis E, Szabo AJ, Leban J, Doblhofer R, Ammendola A, Lutz J, Heemann U (2012) Immunosuppression with 4SC-101, a novel inhibitor of dihydroorotate dehydrogenase, in a rat model of renal transplantation. *Transplantation* 93 (11):1101-1107. doi:10.1097/TP.0b013e31824fd861
5. Fisher B, Lee S (1965) Microvascular surgical techniques in research, with special references to renal transplantation in the rat. *Surgery* 58:904-914
6. Skoskiewicz M, Chase C, Winn HJ, Russell PS (1973) Kidney transplants between mice of graded immunogenetic diversity. *Transplant Proc* 5 (1):721-725
7. Zhang Z, Zhong R (1998) Microsurgical Techniques for Kidney Transplantation in Mice. 193-201. doi:10.1007/978-3-642-72140-3_24
8. Martins PN (2006) Learning curve, surgical results and operative complications for kidney transplantation in mice. *Microsurgery* 26 (8):590-593. doi:10.1002/micr.20292
9. Schumacher M, Van Vliet BN, Ferrari P (2003) Kidney transplantation in rats: an appraisal of surgical techniques and outcome. *Microsurgery* 23 (4):387-394. doi:10.1002/micr.10139
10. Holzen JP, Palmes D, Langer M, Spiegel HU (2005) Microsurgical training curriculum for learning kidney and liver transplantation in the rat. *Microsurgery* 25 (8):614-623. doi:10.1002/micr.20174
11. Druml W (2002) The beginning of organ transplantation: Emerich Ullmann (1861-1937). *Wien Klin Wochenschr* 114 (4):128-137
12. McAnulty JF, Ploeg RJ, Southard JH, Belzer FO (1989) Successful five-day perfusion preservation of the canine kidney. *Transplantation* 47 (1):37-41. doi:10.1097/00007890-198901000-00009
13. Gregory CR, Gourley IM, Taylor NJ, Broadbent TW, Olds RB, Patz JD (1987) Preliminary results of clinical renal allograft transplantation in the dog and cat. *J Vet Intern Med* 1 (2):53-60. doi:10.1111/j.1939-1676.1987.tb01987.x
14. Homan WP, French ME, Millard PR, Morris PJ (1981) A study of eleven drug regimens using cyclosporin-A to suppress renal allograft rejection in the dog. *Transplant Proc* 13 (1 Pt 1):397-401
15. Smith AC, Swindle MM (2006) Preparation of swine for the laboratory. *ILAR J* 47 (4):358-363. doi:10.1093/ilar.47.4.358
16. Golriz M, Fonouni H, Nickkholgh A, Hafezi M, Garoussi C, Mehrabi A (2012) Pig kidney transplantation: an up-to-date guideline. *Eur Surg Res* 49 (3-4):121-129. doi:10.1159/000343132
17. Zakariasson M (2016) The Pig as an Animal Model for Kidney Transplantation. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
18. Park KM, Kim Ji, Ahn Y, Bonventre AJ, Bonventre JV (2004) Testosterone Is Responsible for Enhanced Susceptibility of Males to Ischemic Renal Injury. *Journal of Biological Chemistry* 279 (50):52282-52292. doi:10.1074/jbc.M407629200
19. Golby M, White HJ (1971) The operation of orthotopic renal allografting in the pig and its complications. *Br J Surg* 58 (4):287-288. doi:10.1002/bjs.1800580413
20. Carrel A, Guthrie CC (2001) Anastomosis of blood vessels by the patching method and transplantation of the kidney. 1906 [classical article]. *Yale J Biol Med* 74 (4):243-247
21. Calne RY, Sells RA, Marshall VC, Millard PR, Herbertson BM, Hadjiyannakis EJ, Dunn DC, Robson AJ, Davis DR (1972) Multiple organ grafts in the pig. Techniques and results of pancreatic, hepatic, cardiac, and renal allografts. *Br J Surg* 59 (12):969-977. doi:10.1002/bjs.1800591210
22. Anderson DJ, Kirk AD (2013) Primate models in organ transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med* 3 (9):a015503. doi:10.1101/cshperspect.a015503
23. Kean LS, Singh K, Blazar BR, Larsen CP (2012) Non-human primate transplant models finally evolve: detailed immunogenetic analysis creates new models and strengthens the old. *Am J Transplant* 12 (4):812-819. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03873.x

Kronik Böbrek Yetersizliği

56

Sanem ÇİMEN, Sertaç ÇİMEN

GİRİŞ

Kronik böbrek hastalığı (KBH) milyonlarca insanı etkileyen ve son yıllarda prevalansı belirgin olarak artmış olan bir halk sağlığı problemidir. Böbrek yetmezliğinin pekçok nedeni bulunduğu için, insanda nefropatinin patogenezi anlamayabilmemizi sağlayan farklı hayvan modelleri geliştirilmiştir. Bu deneysel modellerde böbrek hastalığının başlangıcını ve ilerleme sürecini mekanik olarak anlayabilmek ve tedavi amacıyla potansiyel hedefler belirleyebilmek için sıklıkla kemirici hayvanlar kullanılmaktadır. Bu bölümde temel olarak genetiğiyle oynanmış fare modellerinden oluşan çeşitli KBH deneysel hayvan modelleri tanıtılacaktır. Yeni yayınlanmış ve konuyla ilgisi olan bazı önemli çalışmalara da değinilecektir.

Kronik böbrek hastalığı yüksek morbidite ve mortalite ile sonuçlanabilen bir durumdur. Bu global problemin görülme sıklığı hipertansiyon ve diyabetin insidanslarındaki artıştan dolayı artmaktadır. Tanısı genellikle albüminurinin varlığı veya tahmini glomerular filtrasyon hızının (GFH) 60 mililitre/dakika/1.73 m² seviyesinin altında olması ile konur.

Akut böbrek hasarı (ABH) ile KBH'nin birbirleriyle yakından ilişkili olduğu düşünülmeye başlanmıştır. Anahtar önemdeki biyolojik olaylar olan hücre ölümü, hücre proliferasyonu, inflamasyon ve fibrozis her iki tip nefropatinin patogenezi de rol almaktadır. Genel olarak, nekrozu, apoptozisi ve nekroptozisi kapsayan tubüler hücre ölümü erken dönem ABH patogenezi de önemli rol alırken, fibrozis ise daha çok KBH sürecinde rol alır. Sayıları gittikçe artan çalışmalar göstermiştir ki ABH, KBH gelişmesini hızlandırabilen bir durumdur. Klinik gözlemler de ABH ile KBH arasında güçlü bir ilişki bulunduğunu düşündürmektedir. Öykülerinde ABH bulunmayan hastalarla kıyaslandığında ABH geçirmiş hastalar daha büyük KBH ve/veya son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) riski altındadır. Bunun tersi olarak, KBH da ABH riskini arttırmaktadır; KBH hastaları ABH kaynaklı geçici serum kreatin düzeyi yükselmelerini diğer hastalara göre daha sık yaşarlar. Burada geçici akut renal disfonksiyonun altında yatan nedenler azalmış GFH, artmış proteinuri, renal oto-regülasyon yetmezliği ve ilaç yan etkileri olabilir.

Bununla birlikte, hem ABH hem de KBH oluşum ve progresyon mekanizmaları tam

olarak anlaşılmamış durumdadır. Pekçok klinik çalışmada böbrek hastalığının prediktif biyobelirteçleri üzerinde çalışılmış olmasına karşın, bu belirteçlerin sadece birkaçı klinik uygulamalarda kendisine yer bulmuştur. Örneğin üriner fraktalkin akut transplant böbrek rejeksiyonu biyobelirteci olarak tanımlanmıştır ancak klinik böbrek hastalığı çalışmalarının planlanmasında ve uygulanmasında önemli sorunlarla karşılaşmıştır. Bunun nedeni pekçok farklı böbrek hastalığı tipi ve nedeni olduğu için- bu çalışmalarda belirli bir bilimsel kalitenin, verimin ve güvenilirliğin sağlanabilmesinin ancak büyük denek sayılarıyla, çok merkezin katılımıyla ve uzun takip süreleriyle mümkün olabilmesidir.

Böbrek hastalığı kaynaklı mortaliteye bazı ciddi komplikasyonlar katkıda bulunur ve bunlar hastalığın asıl nedenini ve en iyi tedavi metodunu bulmayı zorlaştırırlar. Bu nedenle hayvan modelleri bilimsel olarak iyi tasarlanmış böbrek hastalığı çalışmalarının vazgeçilmez bir parçasıdır ve tedavi metodları geliştirmenin önündeki engelleri kaldırabilirler. Hayvan modelleri böbrek hastalığının patogenezinin ve altında yatan mekanizmaların anlaşılması amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bu modeller arasında fare ve sıçan modelleri daha çok nefropatiler üzerinde çalışmak, potansiyel terapötik hedefleri belirlemek ve spesifik biyobelirteçleri saptamak amacıyla kullanılırlar. Fareler ve sıçanlar kolayca üretilebilirler; ayrıca barınmaları ve yaşatılmaları da pahalı değildir. Bu bölümde fare ve sıçan KBH modellerine odaklandık.

KBH MODELLERİ

KBH modelleri temel olarak diyabetik/hipertansif nefropati, glomerüler hasar, polikistik böbrek hastalığı (PKH) ve kronik interstisyel nefrit kaynaklı KBH modellerini kapsar. Burada bu modeller tartışılacaktır.

1. Renal kütlelerin azaltılması (redüksiyon) modeli

Reziduel (remnant) böbrek modeli en sık kullanılan KBH modellerinden biridir. Subtotal (5/6) nefrektomi yaklaşımı sıçanlarda insan kronik böbrek hastalığını taklit etmek amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Bu modelde sağ böbrek cerrahi olarak alınır ve buna ek olarak sol böbreğin üst ve alt poli (sol böbreğin 2/3'ü) sol renal arter bağlandıktan sonra rezeke edilir. Cerrahiden sonra, renin anjiyotensin sistemi (RAS) aktivasyonu glomerular hipertansiyon ve hiperfiltrasyona neden olur. Oksidatif stresin ve inflamasyonun varlığında glomerüler hipertansiyon ve hiperfiltrasyon glomeruloskleroz, tubulointerstisyel hasar, renal atrofi, proteinuri ve sonuçta SDBY ile sonuçlanır. Bu model kullanılan deney hayvanı suşundan ciddi bir biçimde etkilenir. C57BL/6 fareleri fibrozise ve ilerleyici KBH`ye karşı dirençliken sıçanlar, CD-1, 129/Sv ve Swiss-Webster fareleri duyarlıdır. Ek olarak, yüksek mortalitesi olması ve 5/6 nefrektomiden sonra çok az böbrek dokusu kalması bu modelin önemli dezavantajlarıdır.

2. Diyabetik nefropati kaynaklı KBH modeli

Diyabetik nefropati (DN) SDBY`nin en önde gelen nedenidir. Diyabetik nefropatinin pekçok kemirici hayvan modeli mevcuttur ancak bunların hiçbiri insandaki hastalığı tam olarak taklit edemez. Diyabetik Komplikasyonlar Konsorsiyumu Hayvan Modelleri insan diyabetik nefropatisi ve komplikasyonları için ideal kemirici hayvan modelini tanımlamıştır. Güncellenmiş olan kriterlere göre: 1. Glomerüler filtrasyon hızında %50`den fazla azalma 2. Kontrollere kıyasla albüminuride 10 kattan daha fazla artış 3. Böbreklerde ilerlemiş mesangial matriks genişlemesi±nodüler skleroz ve mezangiolizis, glomerüler bazal membranın %50`den fazla kalınlaşması, arterioller hyalinozis ve tubulointerstisyel fibrozis mevcut olmalıdır.

Klasik Tip 1 diyabet streptozosin (β -hücrelerine etki ederek insülin eksikliğine sebep olan toksin) uygulamasıyla, spontan otoimmünite ile (örneğin NOD fareleri veya BB-DP sıçanları) veya gen mutasyonu ile (Akita ve ÖVE26 fareleri) modellenen farelerde obezite, insülin direnci ve nihayetinde glomerüler lezyonlar yaratmak için sıklıkla yüksek yağlı diyet kullanılır. Tip 2 diyabet nefropatisi modeli ise leptin eksikliği (örneğin ob/ob fareler) veya leptin reseptör inaktivasyonu (örneğin db/db fareler, Zucker sıçanı) ile tasarlanabilir. İnsandaki diabetik nefropatiye daha benzer patolojik özellikler elde etmek için son yapılan çalışmalarda (1) hedef gen knock-out farelere (örneğin e-NOS-suz farelere) (2) daha duyarlı kemirici türlerinin seçilmesine (örneğin FVB) ve DBA/2J fareleri ve (3) monogenik manipülasyonlara veya nefropatiyi hızlandıracak ek anahtar faktörlere odaklanılmıştır.

3. Hipertansiyon kaynaklı KBH modeli

Hipertansiyon kaynaklı nefropatinin araştırılması için genellikle kendiliğinden hipertansif olan sıçanlar kullanılır. Ek olarak, artmış glomerüler basınç ve akım ile belirgin renal hasar oluşturulması için unilateral nefrektomi gereklidir. Anjiyotensin II'nin birkaç hafta süren kronik injeksiyonu da dirençli hipertansiyon ve renal hasar meydana getirir. Bu süreçte vasküler endotelial büyüme faktörü, Smad sinyalleri ve inflamatuvar sitokinler de görev alır.

4. Fokal segmental glomeruloskleroz (FSGS) kaynaklı KBH modeli

Podosit hasarı ve kaybı ile belirgin proteinüri ile karakterize olan FSGS, sık rastlanılan bir primer glomerüler hastalıktır. Günümüzde henüz primer FSGS hayvan modeli geliştirilmemiş olmasına karşın, pekçok sekonder FSGS hayvan modeli geliştirilmiştir. Adriamisin (ADR) ve puromisin FSGS üzerinde çalış-

mak için yaygın olarak kullanılırlar. Bu spesifik toksinlerin tek bir injeksiyonu bile podosit ayaksı çıkıntılarının düzleşmesine, filtrasyon bariyer defektine ve nefrotik sendroma sebep olabilir. Bununla birlikte adriamisin dozu deney hayvanı türüne ve cinsine oldukça bağlıdır. Çoğu sıçan cinsi 1.5-7.5 mg/kg arasında değişen düşük ADR dozlarına karşı duyarlıken, pekçok fare suşu ADR'ye karşı dirençlidir. Başarılı bir model meydana getirmek için daha yüksek ADR dozları gereklidir; örneğin erkek BALB/C farelerde 9.8-12 mg/kg doz gerekliken C57BL/c farelerde 13-25 mg/kg doz gereklidir. Farelerde Mpv-17'nin inaktivasyonu, α -aktinin-4 knock-out'u veya podositlerin üzerine Thy-1.1 antijeninin eklenmesi gibi gen modifikasyon yaklaşımları da proteinüriye ve FSGS'e neden olur.

5. Kresentik glomerulonefrit kaynaklı KBH modeli

Glomerullerin tamamının (nefrotoksik nefrit) veya glomerüler bazal membranın (anti-GBM nefriti) antikor ile fiksasyonu insan kresentik glomerulonefritini taklit eden primer modellerdir. Heterolog tüm glomerullere heterolog antikorların intraperitoneal injeksiyonu nefrotoksik nefrite neden olabilir. Anti-GBM nefriti tip 4 kollojenin alfa-3 zincirinin non-kollojen bölgeleri ile immunizasyonla veya anti-GBM antikorların pasif transferi ile oluşur. Uygulamadan sonraki birkaç hafta içinde şiddetli proteinüri ile azotemi gözlenir.

6. Membranöz nefropati kaynaklı KBH modeli

Membranöz nefropati (MN) yaşlılarda gözlenen nefrotik sendromun major nedenidir ve subepitelyal birikintiler ve yaygın GBM kalınlaşması ile karakterizedir. Sıçanlardaki aktif ve pasif Heymann nefriti modeli insandaki membranöz glomerulonefriti çok iyi taklit eder

ve membranöz glomerulonefrit üzerinde çalışmak için kullanılmıştır.

Böbrek özütlerinin veya antiserumun injeksiyonu ile otolog antikolar hedef antijenlere maruz bırakılır. Bu da şiddetli proteinüri ile seyreden immün birikintilerin oluşmasını sağlar. Sıçan modellerinde megalin ve reseptör ilişkili protein (RAP) dolaşımdaki antikolar tarafınca hedeflenen majör podosit antijenleridir. Bununla birlikte, yapılan çalışmalar göstermiştir ki megalin hem insan podositlerinde gözlenmez hem de membranöz nefropatili hastalarda ortaya çıkmaz. Son dönemde M-tipi fosfolipaz A2 reseptörünün (PLA2R) insan membranöz nefropatisindeki otoantikolar için bir hedef antijen olduğu saptanmıştır. Ek olarak, bazı idiyomatik membranöz nefropatili hastalarda PLA2R yerine 'dolaşan trombospondin tip-1 bölgesi içeren 7A (THSD7A) antijeni belirlenmiştir; bu antijen insan membranöz nefropatisinde otoantikolar için ayrı bir potansiyel hedef olabilir.

Katyonik BSA fare modeli de insan membranöz nefropatisinin özelliklerini taşır. Fareler katyonik sığır serum albümini (cBSA) ile 1 hafta boyunca 2 günde bir pre-immunize edilir. İki hafta sonra, fareler "Freund'un adjuvanı" nda bulunan cBSA ile re-immunize edilirler. Sonuçta bu farelerde şiddetli proteinüriyi, yaygın glomerüler bazal membran kalınlaşmasını ve subepitelyal birikintileri içeren MN semptomları gözlenmeye başlanır.

7. IgA nefropatisi (IgAN) kaynaklı KBH modeli

IgAN glomerulonefritin en sık rastlanan formudur ve IgA1, IgG, kompleman C3 ve IgM içeren mezangial immün kompleks birikintileri ile karakterizedir. İndüklenebilir IgAN modelleri ılımlı ve geçici IgAN gelişmesi amacıyla IgA içeren immün komplekslerin intravenöz injeksiyonunu ve mezangial IgA birikintileri

oluşturabilecek protein antijenlerin oral olarak verilmesini gerektirir. Kendi içinde melezlenmiş olmayan bir suştan üretilmiş olan ddY faresi spontan bir IgAN modelini temsil eder ve bu farelerde glomerulonefrit ile birlikte hematurinin eşlik etmediği ılımlı proteinüri gözlenir. Adı HİGA olan bir fare suşu ise kendi içinde melezlenmiş olan bir fare suşudur ve dolaşımında yüksek düzeyde IgA bulunan, erken dönemde belirgin immün birikintilerin ortaya çıktığı bir IgA modelini oluturur. Genetiğiyle oynanmış diğer fareler de (örneğin uteroglobinden yoksun fare veya CD89-transgenik fare) IgA nefropatisini araştırmak için kullanılabilir. Burada sözü geçen bazı modeller elde bulunmakla birlikte, IgA nefropatisinin altında yatan mekanizmalar henüz net olarak anlaşılmamıştır.

Sekonder nefrotik sendromlardan kaynaklanan KBH modelleri

Sistemik lupus eritematozus (SLE) gibi komplike hastalıkları araştırmak için transgenik fareler kullanılır. Hem MRL hem de CD95 mutant genli hayvanlar SLE semptomlarının geliştirilmesi ve potansiyel tedavilerin araştırılması amaçlarıyla kullanılabilirler.

1. Lupus nefriti kaynaklı KBH modeli

Lupus nefriti DNA, histonlar ve nükleozomlar gibi nükleer otoantijenlere karşı otoantikoların gelişmesiyle oluşur. Lupus nefriti ile ilgili çalışmaların çoğu fare modelleri üzerinde yapılır. Genetiğiyle oynanmış modeller olan MRL ve CD95 mutant suşları (örneğin MRL/lpr ve FasLgld) ile birlikte BXSb fareleri ve NZB/NZW F1 fareleri insandaki lupus nefritine benzer şekilde proteinüri ve lenfoproliferasyon gelişmesini sağlar. Yakın bir zamanda, TWEAK-Fn14 sinyal mekanizmalarının lupus nefritinin ilerlemesinde önemli bir rolü olduğu ortaya

çkarılmıştır; anti-TWEAK bloke edici antikorlar böbrek fonksiyonunun korunmasını sağlayabilmekte ve deneysel KBH modellerinde sağkalım oranlarını arttırabilmektedir. Lupus nefriti ile ilgili pek çok fare modeli kullanılmış olmasına karşın, hiçbir model hastalığın patogenezinin anlaşılması için yeterli olmamıştır ve hastalığın klinik belirti ve bulgularını tam olarak kopyalayamamıştır. Lupus nefritinin günümüzde etkili bir tedavisi de yoktur.

2. Amiloid A (AA) amiloidozu kaynaklı KBH modeli

Amiloid A (AA) amiloidozu kronik inflamasyonun ciddi bir komplikasyonudur. En önemli hedef organ olarak böbrekleri seçen AA-tipi amiloid birikimi böbreklerde doku yapısında ve fonksiyonlarda değişikliğe neden olabilir. Fare modellerinde AA amiloidozu tablosunu oluşturmak için kazein, lipopolisakkarit ve amiloidik doku özütü veya saflaştırılmış amiloidjenik hafif zincir gibi kimyasal veya biyolojik bileşiklerin injeksiyonu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, klinikte rastlanılan AA-amiloidoz hastalarının aksine bu modellerde nadiren böbrek yetmezliği gelişir. Son yıllarda, dikkat çeken bir transgenik fare modeli geliştirilmiştir. Metallothionein-I promotörünün kontrolü altında insan interlökin-6 geni taşıyan veya bu geni doksisisiklin ile indüklenebilir transgenik SAA ekspresyonu ile taşıyan fareler AA-amiloidozu araştırmak için alternatif bir yöntem olarak karşımıza çıkarlar.

Hereditör nefritlerden kaynaklanan KBH modelleri

1. Polikistik böbrek hastalığı (PKH) kaynaklı KBH modeli

Polikistik böbrek hastalığı temel olarak karaciğer ve böbreğe sınırlıdır. Çocukluk çağından yaşlılık dönemine kadar geniş bir yaş aralığında

da tanı alabilir. Çocuklarda ve erişkinlerde, otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı (ADPKD) ve otozomal resesif polikistik böbrek hastalığı (ARPKD) en sık rastlanılan genetik geçişli nefropatilerdir ve son dönem böbrek yetmezliğinin önemli nedenlerindedirler. Bu hastalıklardan ADPKD PKD1 geni (%85) veya PKD2 geni (%15) mutasyonundan kaynaklanırken ARPKD PKHD1 geni mutasyonlarından kaynaklanır. Hereditör PKD karmaşık olan ve farklı şekillerde kendisini gösterebilen bir hastalık olmasına karşın normal şartlarda tek genlerin tekli mutasyonlarıyla oluşur. Bundan dolayı, insan polikistik böbrek hastalığını taklit etmek amacıyla genetik mühendislerince modifiye edilmiş fare modelleri yaygın olarak kullanılır. Homozigot PKD1 veya PKD2 fareleri embriyonik mortalite ile sonuçlanabileceği için koşullu gen deaktivasyonu, indüklenebilir modeller veya istikrarsız alellerin yerleştirilmesi deneysel modeller elde etme amacıyla kullanılan en yaygın yöntemlerdir. Bu tip modellere dayanılarak yürütülmüş bazı başarılı çalışmalar mevcuttur. Örneğin, tolvaptanın ADPKD tedavisindeki etkinliği bu tip modellerde kanıtlanmıştır ve bu ilaç şu anda Japonya'da klinik kullanımdadır. Dahası, tolvaptan ile pasireotid PKD1 fare modelinde kistik ve fibrotik hacimde belirgin azalma sağlamıştır.

2. Alport sendromu kaynaklı KBH modeli

Alport sendromu (AS) tip 4 kollojen genleri olan *COL4A3*, *COL4A4* VEYA *COL4A5'* in mutasyonlarından kaynaklanan bir hereditör glomerulopati ve hematurî, böbrek yetmezliği, işitme kaybı, göz lezyonları ve glomeruler bazal membranda anormal tip 4 kollojen birikimi ile karakterizedir. Adı geçen genlerden *COL4A3'* ün deaktivasyonu ile üretilmiş fareler AS patogenezi için temel deneysel model oluşturur. Homozigot farelerin 2-3 ay içinde proteniürileri gelişir ve bunlar 3-4 ay

çinde renal yetmezlikten dolayı ölümler. Çalışmalar göstermiştir ki *COL4A3^{-/-}* farelerde TNF- α podosit apoptozunu hızlandırarak Alport glomerulosklerozunun gelişmesine katkıda bulunur. Ek olarak, rekombinan ve kendi içinde melezlenmiş olan NONcNZO farelerindeki spontan *COL4A4* mutasyonu da glomerulosklerozun eşlik ettiği proteinüriye neden olur. Bu genetik olarak modifiye edilmiş fareler olası tedavilerin test edilmesi ve AS'nin altında yatan mekanizmaların anlaşılması için değerli birer araçlardır.

SONUÇ

Kronik böbrek hastalığının sıklığı tüm dünyada artış göstermesine ve yüksek mortalite ile seyretmesine karşın, tanıda ve tedaviye yönelik girişimler konusunda halen önemli eksikler vardır. Akut böbrek hasarından kronik böbrek hastalığı gelişme süreçleri de, IgA nefropatisi, diyabetik nefropati ve FSGS gibi kronik böbrek yetmezliği nedeni olabilen hastalıkların altında yatan patogenetik süreçler de henüz net olarak anlaşılammıştır; bu da tedaviye yönelik araştırmalar açısından önemli bir dezavantajdır. Elimizde pek çok kronik böbrek hastalığı ve böbrek yetmezliği deneysel hayvan modelleri bulunmasına karşın, yukarıda tarifleri ve tanımları yapılanların dışında kalanlar maalesef insanda görülen hastalığı taklit etmekten uzaktır. Kronik böbrek yetmezliği deneysel hayvan modellerini daha çok geliştirmek ve iyileştirmek için spesifik patolojilere yönelik olarak çoklu gen modifikasyonuna maruz bırakılmış farelerin üretilmesine ihtiyaç olacaktır.

Kaynaklar

1. Andreucci M, Faga T, Pisani A, Perticone M, Michael A. 2017. The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. *European Journal of Internal Medicine*, 39: 1–8.
2. Bao YW, Yuan Y, Chen JH, Lin WQ. Kidney disease models: tools to identify mechanisms and potential therapeutic targets. *Zool Res.* 2018 Mar 18;39(2):72–86. doi: 10.24272/j.issn.2095-8137.2017.055.
3. Betz B, Conway BR. 2014. Recent advances in animal models of diabetic nephropathy. *Nephron Experimental Nephrology*, 126(4): 191–195.
4. Cao Q, Wang YP, Zheng D, Sun Y, Wang Y, Lee VWS, Zheng GP, Tan TK, Ince J, Alexander SI, Harris DCH. 2010. IL-10/TGF- β -modified macrophages induce regulatory T cells and protect against adriamycin nephrosis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 21(6): 933–942.
5. De Mik SM, Hoogduijn MJ, De Bruin RW, Dor FJ. 2013. Pathophysiology and treatment of focal segmental glomerulosclerosis: the role of animal models. *BMC Nephrology*, 14: 74.
6. Eitner F, Boor P, Floege J. 2010. Models of IgA nephropathy. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 7(1–2): 21–26.
7. Fagone P, Mangano K, Mammana S, Quattrocchi C, Magro G, Coco M, Imene S, Di Marco R, Nicoletti F. 2014. Acceleration of SLE-like syndrome development in NZBxNZW F1 mice by beta-glucan. *Lupus*, 23(4): 407–411.
8. Gigante M, Piemontese M, Gesualdo L, Iolascon A, Aucella F. 2011. Molecular and genetic basis of inherited nephrotic syndrome. *International Journal of Nephrology*, 2011: 792195.
9. Hakrrouch S, Cebulla A, Schaldecker T, Behr D, Mundel P, Weins A. 2014. Extensive podocyte loss triggers a rapid parietal epithelial cell response. *Journal of the American Society of Nephrology*, 25(5): 927–938.
10. Jeansson M, Björck K, Tenstad O, Haraldsson B. 2009. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(1): 114–122.
11. Kambham N. 2012. Crescentic glomerulonephritis: an update on Pauciimmune and Anti-GBM diseases. *Advances in Anatomic Pathology*, 19(2): 111–124.
12. Lankhorst S, Saleh L, Danser AJ, Van Den Meiracker AH. 2015. Etiology of angiogenesis inhibition-related hypertension. *Current Opinion in Pharmacology*, 21: 7–13.
13. Ma H, Sandor DG, Beck LH Jr. 2013. The role of complement in membranous nephropathy. *Seminars in Nephrology*, 33(6): 531–542.
14. Nakayama T, Sato W, Kosugi T, Zhang L, Campbell-Thompson M, Yoshimura A, Croker BP, Johnson RJ, Nakagawa T. 2009. Endothelial injury due to eNOS deficiency accelerates the progression of chronic renal disease in the mouse. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 296(2): F317–F327.
15. Orlando LA, Belasco EJ, Patel UD, Matchar DB. 2011. The chronic kidney disease model: a general purpose model of disease progression and treatment.

- BMC Medical Informatics and Decision Making, 11: 41.
16. Østergaard MV, Pinto V, Stevenson K, Worm J, Fink LN, Coward RJM. 2017. DBA2J db/db mice are susceptible to early albuminuria and glomerulosclerosis that correlate with systemic insulin resistance. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 312(2): F312–F321.
 17. Pálsson R, Patel UD. 2014. Cardiovascular complications of diabetic kidney disease. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 21(3): 273–280.
 18. Rifai A, Small PA Jr, Teague PO, Ayoub EM. 1979. Experimental IgA nephropathy. *The Journal of Experimental Medicine*, 150(5): 1161–1173.
 19. Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Martin-Cleary C, Ortiz A, Ramos AM. 2013. Progress in the development of animal models of acute kidney injury and its impact on drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 8(7): 879–895.
 20. Takahashi T, Harris RC. 2014. Role of endothelial nitric oxide synthase in diabetic nephropathy: lessons from diabetic eNOS knockout mice. *Journal of Diabetes Research*, 2014: 590541.
 21. Viscomi C, Spinazzola A, Maggioni M, Fernandez-Vizcarra E, Massa V, Pagano C, Vettor R, Mora M, Zeviani M. 2009. Early-onset liver mtDNA depletion and late-onset proteinuric nephropathy in Mpv17 knockout mice. *Human Molecular Genetics*, 18(1): 12–26.
 22. Wada Y, Abe M, Moritani H, Mitori H, Kondo M, Tanaka-Amino K, Eguchi M, Imasato A, Inoki Y, Kajiyama H, Mimura T, Tomura Y. 2016. Original Research: Potential of urinary nephrin as a biomarker reflecting podocyte dysfunction in various kidney disease models. *Experimental Biology and Medicine*, 241(16): 1865–1876.
 23. Zhong F, Mallipattu SK, Estrada C, Menon M, Salem F, Jain MK, Chen HY, Wang YJ, Lee K, He JC. 2016. Reduced krüppel-like factor 2 aggravates glomerular endothelial cell injury and kidney disease in mice with unilateral nephrectomy. *The American Journal of Pathology*, 186(8): 2021–2031.

KISIM 12

HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ VE YARA İYİLEŞMESİ İLE İLGİLİ SIK KULLANILAN DENEY HAYVAN MODELLERİ

Kısım Editörü: İ. Yaşar ÖZGÖK

Hiperbarik Oksijen Tedavisi

57

Aykut ÇOLAKEROL, M. Kübra ÖZGÖK KANGAL

Hiperbarik oksijen tedavisi

İlk olarak 1662 yılında Henshaw tarafından "Domicilum" adı verilen hava ile basınçlandırılan bir basınç odası oluşturulmuş ve insanlar üzerinde tedavi amaçlı kullanılmıştır (1). Ancak hiperbarik oksijen (HBO) tedavisinin tarihi aslında Priestley'in 1775 yılında oksijeni keşfetmesiyle başlar (2). Hayvan deneyleri tıbbın her dalında sağladığı büyük katkısı, hiperbarik oksijen (HBO) tedavisinin gelişiminde de sağlamıştır. Haldane, 1895 yılında bir fare üzerinde 2 ATA'da (atmosfer absolut) oksijen içeren bir kap içerisinde bir hayvan deneyi yapmıştır (2). Benzer şekilde 1930'larda, madenlerde karbonmonoksit zehirlenmesini önceden tahmin edebilmek amacıyla kullanılan kuşları tedavi etmek için basınç odaları oluşturulmuştur (1).

HBO, deniz seviyesinden (1 ATA) daha yüksek basınçlarda aralıklı olarak %100 oksijen solutulan bir girişimdir. Klinik amaçlarla kullanımında ise, 1.4 ATA veya daha yüksek basınçlarda %100 oksijen solutulur. Tek kişilik veya çok kişilik basınç odaları mevcuttur. Basınç odaları hava ile basınçlandırıldığında, ok-

sijen maske ile, "hood" olarak adlandırılan bir başlık ile veya endotrakeal tüp ile solutulabilir. Bir diğer seçenek ise ortamın %100 oksijen ile basınçlandırılması ve kişinin ortam havasını solumasıdır (3).

Dünyada birçok ülkede HBO tedavisi uygulanmaktadır. Temel olarak, Amerika'da bulunan "Undersea and Hyperbaric Therapy Society" (UHMS) tarafından oluşturulan Hiperbarik Oksijen Tedavi Komitesi ve Avrupa'da bulunan "European Underwater and Baromedical Society" (EUBS) bünyesinde çalışan Hiperbarik Tıp Avrupa Komitesi (ECHM) tarafından kanıta dayalı tıp esasına göre HBO tedavi endikasyonlarını belirlemektedir. Bazı ülkelerde endikasyonlar daha geniş olarak belirlenmiştir (4).

Ürolojide ise radyasyon sistiti ve Fournier gangreni; UHMS, ECHM ve ülkemizde SUT tarafından uygun görülmüş HBO tedavisi endikasyonları içerisinde (3,5,6). Oksijen başarılı yara iyileşmesi için çok önemli bir faktördür (7). Kronik yaralar, riskli greft/flepler, akut travmatik periferik iskemiler de HBO tedavisinin Üroloji'de kullanılabilecek diğer endikasyonları arasındadır (4). Bu hastalıkların haricinde

henüz endikasyon listesinde yer almayan fakat hayvan deneyleri ve klinik çalışmalar yürütülen Üroloji ile ilgili birçok konu mevcuttur. HBO tedavisinde hayvan deneylerinin yürütüldüğü Üroloji'deki temel konular; siklofosomid ilişkili hemorajik sistit, interstisyel sistit, testis torsiyonu, renal iskemi, üreteral obstrüksiyon, erektil disfonksiyon, prostat kanseridir.

Testis torsiyonu

Sıçanlarda 1879'da Miflet ve arkadaşları tarafından inguinal insizyon ile ilk deneysel testis torsiyonu çalışmaları yapılmıştır (8). Daha sonraki yıllarda Turner ve arkadaşları testisin uzun aksı boyunca 180, 360, 720 derecelik torsiyonlar uygulayıp 1,2 ve 4. saat sonunda detorsiyon yapmış ve testiste gelişen histolojik sonuçları değerlendirmişlerdir. Bu sonuçlara göre 360 derece ve 1 saatlik torsiyonların testiste akut değişikliklere yol açtığını, 720 derece ve 4 saatlik torsiyonların ise tam iskemiyi sonuçlandığını gözlemlemişlerdir (9). Akgür ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 6 saatlik torsiyon sonrası yapılan detorsiyonda reperfüzyonun olmadığı kan akımının irreversible olarak kesildiği ve iskemiyi sonuçlandığı saptanmıştır (10). Zhang ve arkadaşları testis torsiyonu yaptıkları sıçanları torsiyondan 1 saat sonra sıçanlar için oluşturulmuş silindirik bir çembere koymuşlar ve 1 saat boyunca 2.4 atm basınç altında %100 oksijen altında HBO tedavisi uygulamışlar. İki saat sonra detorsiyone ettikleri sıçanları 12 saat sonra ve sonraki 30 gün boyunca her gün 1 saat olmak üzere yine aynı şekilde HBO tedavisine almışlar. Çalışma sonunda sonuç olarak bu tedaviyi alan ratların testislerinde seminifer tübüllerin korunduğunu, apoptozun baskılandığını, testiküler atrofi için koruyucu olduğunu ve sonuç olarak HBO'ün oksidatif stresi azaltabildiğini, bunu da inflamasyonu azaltarak ve nitrik oksit formasyonunu düşürerek yaptığını açıklamışlardır (11).

Renal iskemi

He ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sıçanların sağ böbrekleri alındıktan sonra bir grup sıçanın sol böbrekleri de 45 dk süreyle klempe edilmiş ve sonrasında 24 saat boyunca reperfüzyon için bekletilmiş. Daha sonra 2 gün boyunca 12 saatte bir 1 saat 2.5 ATA HBO tedavisi uygulanmış. Çalışma sonunda HBO tedavisinin böbreği oksidatif strese karşı koruduğu anlaşılmıştır (12). Ramalho ve arkadaşlarının çalışmasında Wistar ratlarda, her iki böbreğin renal pedikülleri non-travmatik vasküler klempler ile 45 dakika boyunca oklüde edilmiş ve takip eden 48 saat boyunca reperfüzyonu sağlanmış. Reperfüzyonun başlangıcından sonraki 6. ve 20. Saatlerde 2 defa 60 dakika boyunca 2.5 ATA basınçta HBO tedavisi uygulanmış. Ratlar 48. Saatte sakrifiye edilmiştir. Kan, idrar ve böbrek dokusunda incelemeler yapılmış. HBO grubunda BUN, serum kreatinin, ve proteinürinin azaldığı gösterilmiş. Böbrek kesitlerinde de akut renal hasar skorunun anlamlı şekilde daha düşük olduğu görülmüş. Yazarlar, HBO tedavisinin böbrek iskemi-reperfüzyon hasarı modelinde renal disfonksiyonu azalttığı belirtmiştir. (13)

Üreteral obstrüksiyon

Üreteral obstrüksiyon modelinde Modi ve arkadaşları sıçanlarda orta hat abdomen insizyon sonrası üretere ulaştıktan sonra üretere bir kesi yapmışlar ve bu kesiden üreter içersine 4-5 mm lik silikon tüp yerleştirmişler. Daha sonra bu tüpün distal ucuna 4/0 ipek ile sutur atmışlar ve 24 saat sonra bu dikişi ve tüpü almak suretiyle üreterde parsiyel obstrüksiyon oluşturmuşlar (14). Bu obstrüksiyon modeline dayanarak Sancar ve arkadaşları sıçanlara 14 gün boyunca 1 saat süreyle 2.5 atm basınç altında HBO tedavisi uygulamışlar ve çalışma sonunda histopatolojik ve renal sintigrafik değerlendirme yapmışlar.

Bu çalışmada HBO tedavisinin oksidatif stresi ve inflamasyonu azalttığı ve renal fonksiyonları koruduğu gösterilmiştir (15).

Eretil disfonksiyon

Müller ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada kavernöz hasarı oluşturdukları sıçanlara HBO terapisi uygulamışlar ve erektil fonksiyon üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Öncelikle sıçanlarda kavernöz sinir hasarı oluşturmak amacıyla orta hat insizyonla batına girilip mesane laterale retrakte edildikten sonra vas deferens bulunmuş. Künt ve keskin diseksiyonlarla prostat ventral lob ve vas deferens arasında prostat dorsal lobuna, ardından mikroskop eşliğinde prostat dorsal lobu üzerinde uzanan yıldız şeklindeki major pelvik gangliyona ulaşılmış. Bu gangliyondan kavernöz sinir ayrılarak rektum ve uretra arasına doğru uzanır. Daha sonra gangliyondan 5 mm uzakta her iki kavernöz siniri hemostat klemp ile 60 g/mm² basınçla 30 saniye süreyle tutmuşlar, daha sonra 30 saniye süreyle bırakılıp tekrar 30 saniye tutulması suretiyle kavernöz sinir hasarı oluşturmuşlar. Ardından bu sıçanlara 10 gün boyunca HBO tedavisi uygulanmış. HBO tedavisi protokolü, 15 dakika kompresyonun ardından 90 dakika 3 atm basınç altında 10 L/dk akım hızında %100 oksijen ve 15 dakika dekompresyon olacak şekilde uygulanmış. Sonrasında sıçanların karotid arterine bir kanül yardımıyla basınç transdüseri yerleştirilmiş ve arterial basınç ölçümü (MAP) yapılmıştır. Yine bu sıçanların penis sağ cruslarına 24 Gauge iğne batırılmış ve kavernöz sinir 5V, 1.5mA, 20Hz, 60 saniye boyunca 5 ms aralıklarla uyarılmıştır ve intrakavernozal basınç ölçüm (ICP) değerleri kaydedilmiştir. Çalışma sonunda HBO uygulanan sıçanlarda ICP/MAP değerlerinin ve endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) değerlerinin anlamlı derecede arttığı saptanmıştır (16,17).

Hemorajik sistit

Hader ve arkadaşları sıçanlarda hemorajik sistit oluşturmuşlar ve bu sıçanlara HBO uygulamışlar. Bu amaçla sıçanların mesanesine 0,5 ml (0,13 mg/ml) dozunda acrolein verilmiş. Sonrasında sıçanlara günde 2 defa olmak üzere 4 gün boyunca HBO tedavisi uygulamışlar. HBO tedavisi protokolü, 5 dakika kompresyon ardından 90 dakika 2,8 atm basınç altında 15 L/dk akım hızında %100 oksijen ve 5 dakika dekompresyon olacak şekilde uygulanmıştır. HBO uygulanan sıçanların üretelyal epitel bütünlüğünün uygulanmayanlara oranla anlamlı derecede korunduğunu göstermişlerdir. Yazarlar siklofosfamide bağlı gelişen sistitte, HBOT'nin hem profilaktik hem de tedavi amaçlı kullanılabileceğini belirtmişlerdir (18).

İnterstisyel sistit

İnterstisyel sistit için güncel olarak kabul görmüş küratif bir tedavi malesef yoktur. Minami ve arkadaşları, 16 dişi fareye izofluran anestezisi altında 70 µL olacak şekilde %1.5 H₂O₂ solüsyonu mesaneye dörtlü tüp ile doldurmuş ve 20 dk bekletmiştir. Uzun dönem sistit modeli oluşturabilmek için H₂O₂ instilasyonu deneyin 1. ve 3. gününde günde 2 defa olacak şekilde uygulanmıştır. Üriner frequency, işeme hacmi ve taktıl allodini parametreleri açısından persistans 7 gün boyunca kontrol edilmiş. Farelere günde 1 seans olmak üzere 4. ve 7. günlerde HBO tedavisi (2.0 ATA %100 oksijen 30 dk) veya hava (2.0 ATA hava 30 dk) uygulanmış. Sekizinci günde fareler sakrifiye edilmiş. HBO tedavisi uygulanan grupta işeme frekansı, tidal işeme hacmi, bireysel mesane ağrı eşiğinde anlamlı düzelleme görülmüştür. HBO tedavisi H₂O₂ ilişkili inflamasyon, ödem ve mesane duvarındaki fibrozisi suprese etmiştir. Ayrıca inflamasyon biyobelirteçlerinin mRNA ekspresyonlarını anlamlı şekilde azaltmış ve eNOS ekspresyonunu

anlamli şekilde arttirmisttir. Yazarlar, HBO tedavisinin H₂O₂ iliskili uzun sureli (long-lasting) sistitin eliminasyonunda katkisi olduğu sonucuna varmisttir (19).

Prostat kanseri

HBO tedavisinin tümör büyümesi üzerine olan etkileri net değildir. (20) Chong ve ark. nin çalışmasında ise; 3x10⁶ 100 ul "human prostate LNCaP hücreleri" 60 adet ileri immün yetmezliği olan farenin sağ flank bölgesindeki subkutan dokusuna enjekte edildikten 6 hafta sonra farelerin bir grubu HBO tedavisi almıştır. HBO tedavisi, haftada 5 gün ve günde 90 dakika 0,236 MPa basınçta 4 hafta boyunca toplam 20 seans olacak şekilde uygulanmıştır. Diğer gruba ise normobarik hava (0,1 MPa basınçta %21 oksijen) uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda, HBO tedavisinin kanser hücrelerinin büyümesini veya hızlanmasını herhangi bir şekilde etkilemediği sonucuna varılmış ve prostat kanserli rezidü dokusu olan hemorajik sistitli hastalarda kullanılan HBO tedavisinin güvenilir olduğunu, herhangi bir reaktivasyona neden olmadığı belirtilmiştir (21). Tang ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise 40 adet immun yetmezlikli fareye 5 x 10⁷ PC-3 /0.1 mL(prostat kanser-3) hücrelerini subkutan dokuya enjekte etmişler ve bunların bir kısmına haftada 5 gün ve günde 90 dakika 0.2 MPa basınçta 4 hafta boyunca toplam 20 seans olacak şekilde HBO uygulamışlar. Kontrol grubuna ise 0.1 MPa basınçta %21 oksijen uygulamışlar. Sonuç olarak HBOT'nin bu tümör hücrelerine herhangi bir stimülatif etki yapmadığını belirtmişlerdir (20).

Gelişen teknoloji ile beraber HBO tedavisinin ürolojide kullanım alanı her geçen gün artmaktadır. Kullanım alanlarını geliştirmek amacıyla yapılacak olan hayvan deneyleri büyük önem taşımaktadır. Şu ana kadar yapılmış hayvan çalışmalarının yanı sıra daha fazla de-

neysel çalışma yapmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Haux GFK. (2000) History of Hyperbaric Chambers. Arizona, USA: Best Publishing Company.
2. Jain KK. (2017) The History of Hyperbaric Medicine. In Jain, KK.(ed) Textbook of Hyperbaric Medicine. Switzerland: Springer International Publisher, pp. 3-9
3. Weaver LK. (2014) Hyperbaric Oxygen Therapy Indications 13th edition. Durham, USA: Best Publishing Company.
4. Cimsit M. (2009) Hiperbarik Tıp. Ankara: Eflatun Yayınevi; sf.127-143
5. Mathieu D, Marroni A, Kot J. Tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine: recommendations for accepted and non-accepted clinical indications and practice of hyperbaric oxygen treatment. Diving and Hyperbaric Medicine. 2017 March;47(1):24-32.
6. http://www.sgk.gov.tr/wps/portal/sgk/tr/kurumsal/merkez-teskilati/ana_hizmet_birimleri/gss_genel_mudurlugu/anasayfa_duyurular/guncel_sut_28122018
7. Ozgok Kangal MK, Regan JP. Wound Healing. [Updated 2018 Dec 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-.
8. Steinberger E. Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. Fertil. Steril. 1969; 20:639.
9. Turner T.T. Acute experimental testicular torsion. J.Androl. 1985; 6:65.
10. Akgür F. Ipsilateral and contralateral biochemical changes after unilateral testicular torsion and detorsion. Uro. Res. 1994; 24: 595,
11. Zhang Y, Lv Y, Liu YJ, Yang C, Hu HJ, Meng XE, Li MX, Pan SY. Hyperbaric oxygen therapy in rats attenuates ischemia-reperfusion testicular injury through blockade of oxidative stress, suppression of inflammation, and reduction of nitric oxide formation. Urology. 2013 Aug; 82(2):489.e9-489
12. He X,Xu X,Fan M,Chen X,Sun X,Luo G,et al. Preconditioning with hyperbaric oxygen induces tolerance against renal ischemia-reperfusion injury via increased expression of heme oxygenase-1. J Surg Res 2011; 170(2):e271-7
13. Ramalho, R. J., de Oliveira, P. S. T., Cavaglieri, R. C., Silva, C., Medeiros, P. R. B., Filho, D. M., Poli-de-Figueiredo LF, Noronha, IL. Hyperbaric Oxygen Therapy Induces Kidney Protection in an Ischemia/Reperfusion Model in Rats. Transplant Proc.2012;44(8), 2333-2336. doi:10.1016/j.transproceed.2012.07.020

14. Modi KS, Morrissey J, Shah SV, Schreiner GF, Klahr S. Effects of probucol on renal function in rats with bilateral ureteral obstruction. *Kidney Int.* 1990; 38:843-50
15. Sancak EB, Tan YZ, Turkon H, Silan C. Attenuation of partial unilateral ureteral obstruction - induced renal damage with hyperbaric oxygen therapy in a rat model. *Int Braz J Urol.* 2017 Sep-Oct; 43(5):946-956.
16. Mullerad M, Donohue JF, Li PS, Scardino PT, Mulhall JP. Functional sequelae of cavernous nerve injury in the rat: Is there model dependency. *J Sex Med* 2006; 3:77-83
17. Müller A, Tal R, Donohue JF, Akin-Olugbade Y, Kobylarz K, Paduch D, Cutter SC, Mehrara BJ, Scardino PT, Mulhall JP. The effect of hyperbaric oxygen therapy on erectile function recovery in a rat cavernous nerve injury model. *J Sex Med.* 2008 Mar; 5(3):562-70
18. Hader JE, Marzella L, Myers RA, Jacobs SC, Naslund MJ. Hyperbaric oxygen treatment for experimental cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis. *J Urol.* 1993 Jun; 149(6):1617-21
19. Minami A, Tanaka T, Otoshi T, Kuratsukuri K, Nakatani T. Hyperbaric oxygen significantly improves frequent urination, hyperalgesia, and tissue damage in a mouse long-lasting cystitis model induced by an intravesical instillation of hydrogen peroxide. *Neurourol Urodyn* 2019; 38: 97-106.
20. Tang H, Sun Y, Xu C, Zhou T, Gao X, Wang L. Effects of hyperbaric oxygen therapy on tumor growth in murine model of PC-3 prostate cancer cell line. *Urology* 2009; 73(1):205-8
21. Chong KT, Hampson NB, Bostwick DG, Vessella RL, Corman JM. Hyperbaric oxygen does not accelerate latent in vivo prostate cancer: implications for the treatment of radiation-induced haemorrhagic cystitis. *BJU Int* 2004; 94(9):1275-8

M. Kübra ÖZGÖK KANGAL

Yara iyileşmesi, yüksek düzeyde organize olmuş hücresel, hümorale ve moleküler mekanizmaların bir arada yürütüldüğü dinamik bir süreçtir. İç içe geçmiş 3 basamağı vardır; inflamasyon, proliferasyon ve remodeling. Bu süreçlerdeki herhangi bir bozulma kronik yara gelişimine yol açar (1).

Kronik yaralar, tüm dünyada çok önemli bir sağlık problemidir. Ne yazık ki mevcut olanaklar altında bazen amputasyon ve ölüm gibi kötü sonuçlar önlenememektedir (1). Bu nedenle yara ile ilgili çalışmalar etkin tedavilerin geliştirilebilmesi için büyük önem arz etmektedir.

Yara iyileşmesinin birçok yönü; kontrollü bir çevre yaratılan hayvan modellerinde araştırılabilir. Hayvanlardaki yara iyileşmesi, insan yara iyileşmesini tam olarak yansıtamaz ancak temel araştırmalar için hayvan modelleri çok önemlidir (2). Örneğin, yaranın nemli tutulduğunda daha hızlı iyileştiğine dair veriler ilk olarak bir hayvan çalışmasından elde edilmiştir (3).

Hayvan türlerindeki anatomik ve fizyolojik farklılıklar nedeniyle tek bir model tüm ihtiyaçları karşılayamaz. Preklinik modellerden elde edilen veriler, hayvan modelleri ve diğer biyolojik değişkenlerden (yaş, cinsiyet, yara yeri) etkilenebilir (4,5). Bu nedenle preklinik model-

lerin öncelikle geçerli olup olmadıkları test edilmelidir (5).

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında çoğunlukla rodentler ve domuzlar üzerinde modeller oluşturulduğu görülmektedir. Primatlar nadiren kullanılmıştır. Yüksek bütçe gerektirmesi ve insanlardan daha az kollajen depozisyonu ile iyileşmesi sebepleri arasındadır. Diğer hayvanlar da, boyutları, ısı ve bakım masrafları nedeniyle kısıtlı yararlar sağlamaktadır (5).

AKUT YARA İYİLEŞMESİ MODELLERİ

Akut yara iyileşmesi, hayvanlarda oluşturulabilecek en basit modeldir. İnsizyonel, eksizyonel, tam kat yara ve yanık modelleri birçok hayvan da uygulanmıştır (2, 5). Cildin anatomi ve fizyolojisinin, iyileşmenin patofizyolojisi üzerinde büyük bir etkisi vardır. Ulaşılabilirlik, düşük bütçe ve kolay idare edilebilmesi nedeniyle rodentlerde yara iyileşmesi çalışmalarında mükemmel preklinik modeller oluşturulmaktadır. Ancak rodent modellerindeki yara iyileşmesi, temelde insanlardan oldukça farklıdır (2). Rodentlerdeki temel mekanizma kontraksiyon iken, insanlarda re-epitelizasyon ve granülasyon dokusu oluşumu ana basamaklardır (2,6,7).

Domuz cildinin insan cildine daha fazla benzeşmesi nedeniyle çalışmalarda domuz kütanöz yara iyileşme modeli sıklıkla kullanılmaktadır (2,8,9). Yara İyileşme Derneği (Wound Healing Society) 2012 yılında Atlanta'daki konferansında domuz modellerinin diğer hayvan modellerine göre daha avantajlı olduğunu dile getirilmiştir (2).

KRONİK YARA İYİLEŞMESİ MODELLERİ

Hayvanlarda; diyabet, mekanik basınç, iskemi veya reperfüzyon hasarı oluşturarak kronik yaraların gelişmesi sağlanabilir. Kronik yaralar hayvanlarda sık görülmez bu nedenle tüm hayvan modellerinin kısıtlılıkları vardır (5).

A-DİYABETİK YARA MODELLERİ

Hiçbir model tümüyle diyabetik patolojik süreci ve varyasyonlarını temsil edemez. Her model bu kompleks hastalığın bir yönünü taklit edebilir.

Hiperglisemi, fare ve ratlarda streptozosin veya alloxanın intraperitoneal veya kaudal ven enjeksiyonu ile (selektif olarak pankreasta insulin üreten beta hücrelerde tahribat yaratarak) kimyasal olarak indüklenebilir. Hayvanlarda kesi, yanık veya radyasyon ile kronik yara oluşturmadan önce birkaç hafta boyunca hipergliseminin etkilerinin oturması beklenir (5). Velander ve arkadaşlarının çalışmasında streptozosin ile diyabet oluşturulan Yorkshire domuzlarında diyabetik ülser geliştirilmiştir; bu yaraların diyabetik olmayan farelere göre daha yavaş kapandığı görülmüştür. (6).

Diyabet ve insülin direnci genetik manipülasyonlarla da geliştirilebilir. Tip 1 diyabet modelleri arasında non-obez diyabetik (örn NOD) fare, streptozosin ile indüklenmiş diyabetik rat veya fare, bio-breeding (örn. BB) rat ve Chinese hamster vardır. Tip 2 diyabet modelleri arasında ise obez ob/ob fare (leptin reseptör defek-

ti), db/db fare (leptin reseptör geninde nokta mutasyonu), NONcNZO10 fare ve Zcuker fa/fa ratlar vardır. En sık tip 2 diyabet modeli (db/db fare) insan sonuçlarını öngörmek anlamında önemli kısıtlılıklara sahiptir; çünkü insan tip 2 diyabet leptin anormallikleri içermez ve poligeniktir. Hiçbir hayvan modeli tip 2 diyabete bağlı gelişen kronik yarayı taklit edemez (5,11).

B- BASI ÜLSERİ MODELLERİ

Bası ülserlerinin primer sebebi özellikle bir kemik yüzey üzerinde uzamış mekanik basınca bağlı gelişen tekrarlayan iskemi reperfüzyon hasarıdır. Bası ülserleri, gevşek derili hayvanlarda (ratlar, fareler) cilt altına cerrahi olarak metal plaka yerleştirilir ve eksternal magnet kullanarak cilt üzerinde aralıklı ve periyodik kompresyonlar oluşturulur (5). Gevşek derisi olan hayvanlarda subkütanöz yağ azdır ve daha çok ratlar insan cildinde yaşlanma için uygun modellerdir (5,12). Greyhound köpekleri de ince cilt yapısına sahip olmaları sebebiyle tercih edilmiştir (13). Domuzlar ise genç insanlardaki bası ülserleri için daha uygundur; çünkü daha sıkı ciltleri vardır (5,12). Domuzlarda kemik çıkıntı üzerinde bası ülseri geliştirilebilir(5,14).

C- İSKEMİK YARA MODELLERİ

Tavşan kulak ülser modeli iskemik yara simülasyonu için kullanılmaktadır. Kulak damar ligasyonu ile kütanöz iskemi oluşturulmaktadır. Bipediküllü flep (cerrahi olarak minimal kan akım desteği ile izole cilt alanı) domuzlarda dorsal cilt üzerinde iskemi yaratmak için kullanılmıştır. Dokuların hipoksik durumu moleküler belirteçler ile doğrulanmıştır (5).

D- BİYOFİLM-ENFEKTE YARA MODELLERİ

Bakteriyel enfeksiyon ve biyofilm tabakası insanlardaki kronik yaraların karakteristik özellik-

lerindedir (15,16). Biyofilm üzerinde hayvan çalışmaları yapılmıştır (5). Rodent, tavşan veya domuzlarda yara oluşumundan sonra, *Pseudomonas aeruginosa* veya *Streptococcus aureus* yara üzerine uygulanır. Konağın immün yanıtı, virulans, patojeniteye göre bakteriyel konsantrasyon ayarlanır (17). Oklüzif bir yara örtüsü cross-kontaminasyonu önlemek ve bakteriyel üreme için optimal koşulları sağlayabilmek amacıyla uygulanmalıdır. Tavşan kulağı iskemi ile beraber biyofilm modelini kombine etmek için kullanılabilir (5,18).

HAYVAN TÜRLERİNİN SEÇİMİ

Hayvan türlerinin seçiminde etkisi olan birçok faktör vardır; bütçe, erişim, kolay bakım, araştırmacının deneyimi ve insan fizyolojisine olan benzerliği. Küçük hayvanlar daha düşük bütçeli bir araştırma avantajı sağlar. Ancak yara boyutu, cilt kalınlığı, foliküler patern ve kıl folikülünün büyüme siklusu gibi insanlardan farklı olan durumlar nedeniyle kısıtlılıklar oluşmaktadır (5). Örneğin fazla kıl yoğunluğu olan bölgeler daha az kıl yoğunluğu olan bölgelere göre daha hızlı iyileşirler (19).

A-FARE

Fareler maliyet etkinliği olan ve genetik manipülasyona cevap verebilir bir türdür. Farelerin dorsal cildine yapılan tam kat cerrahi insizyonlar ve eksizyonlar en popüler yara modellerindedir. Dorsal alanların kullanımı, hayvanın erişmesini zorlaştırır. Ancak farelerdeki yara iyileşmesinin insanlardan temel olarak farklı olması, farelerin insan yara kapanmasının simülasyonunda kullanımını kısıtlayıcıdır (5). Ayrıca, erkek farelerin cildi dişilere göre %40 daha güçlüdür. Dişilerin ise daha kalın epidermal ve hipodermal tabakaları vardır (20). Kıl foliküllerinin etkisinin azaltabilmek için, yaralar telojen veya erken eksojen fazda oluşturulmalıdır. Alternatif

olarak (Hr gen mutasyonu) kıl gelişiminin engellendiği fareler kullanılabilir (5). Transgenik fareler de yara modellerinde kullanılmıştır (5).

B-FARE KUYRUĞU

Fare kuyruğu modeli, kronik yara modeli olarak kullanılabilir. Kuyruğun dorsal kısmına, dikdörtgen (0.3-1.0 cm) tam kat eksizyon yapılır; farenin vücudunun 1 cm distalindedir. Eksize edilen cildin altından fasya açığa çıkar. Böylece tam kat hasar oluşturulmuş olur. Birkaç günde iyileşebilen sırttaki dorsal yaralara göre, kuyruktaki yaralar 21 günde iyileşir; böylece araştırmalara daha fazla zaman kazandırır. Kuyruktaki kıllar kısa olduğu için, hayvanları öldürmeden yaraların takibi ve ölçümleri yapılabilir (5). Zhou ve arkadaşlarının çalışmasında da fare kuyruk modeli ve fare dorsal cilt yara modeli karşılaştırılmıştır. Fare kuyruk modelinin kütanöz yara çalışmaları için umut vadeden bir model olduğuna değinilmiştir (21).

C-RATLAR

Ratlar da fareler gibi gevşek deriye sahiptir ve kontraksiyonla iyileşir. Kontraksiyon ile iyileşme re-epitelizasyona göre daha hızlıdır çünkü yeni doku oluşmaz. İnsanların aksine, ratlar ve farelerde hipertrofik skar veya keloid oluşmaz. Ratların boyutu, daha büyük cilt alanında çalışma yapılabilmesi, kolay bulunması ve uysal doğası nedeniyle birçok yara modelinde ratlar tercih edilmiştir. Erkek Sprague Dawley ratlar (250-300 gr) genellikle tercih edilen türdür (5). Fleplerin tutmasına etki eden faktörlerin araştırıldığı bir çalışmada ratlarında sırtında iskemik, H şekilli, çift flep modeli kullanılmıştır (22). Ancak bu modelin kısıtlılıkları vardır. Gould ve arkadaşları tarafından model daha optimize hale getirilmiştir. Nekroz gelişmeden 2 hafta boyunca iskemik bozulmuş iyileşme gösteren bir flep oluşturulmuştur (23).

D-TAVŞAN KULAĞI

Tavşan kulağı iskemik yara modeli olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Tavşan kulağı 3 ana arter ile vaskülarize olmaktadır. Kulak tabanından çevresel bir insizyon ile rostral ve santal arterleri ligate ederek iskemik zon oluşturulur. Kıkırdak boyunca 6 mm punch biyopsi ile tam kat yara oluşturulur. Bu yara kontraksiyon yerine granülasyon ve epitelizasyon ile kapanacaktır. Bu esnada iske mi düzelebilir; yaklaşık 14 günde kollateral dolaşım oluşur. Bu modelin temel avantajı, diğer kulak kontrol olarak kullanılabilir ve büyük bir alan sağlaması sebebiyle aynı kulakta benzer birkaç yara daha oluşturulabilir. Tavşan yaralarının insan yaralarıyla olan benzerlikleri arasında gecikmiş epitelizasyon ile artan skar gelişimi, ileri yaş, topikal steroidler ve kollajen sentez inhibitörleri ile azalmış skar oluşumu vardır (5).

E-DOMUZ

Epidermal ve dermal kalınlık, epidermal turnover süresi (yaklaşık 30 gün), kıl foliküllerinin patern ve yapısı, dermal kollajen ve elastinin içerik ve yapısı, dermal metabolizma, var olan immün hücreler ve büyüme faktörlerine olan yanıt, domuz ve insan cildi arasındaki temel benzerliklerdir. Bu nedenle domuzlar yara iyileşmesi için standart modellerdir (5,24). Muhtemelen en önemli benzerlik ise parsiyel kalınlıktaki yaraların insan ve domuzlarda kontraksiyon yerine re-epitelizasyon ile iyileşmesidir. Ancak, dairesel tam kat yaralar domuz modellerinde kontraksiyon ile iyileşmektedir. Ayrıca domuz modelleri, perkütan permeabilite ve transdermal emilim açısından diğer hayvan modellerine göre insan cildine en yakın modeldir (5). Ancak domuzlar daha pahalı ve daha zor bakım gerektirir. Domuz cildindeki yüksek pH, yağlı subkutan doku ve baskın apokrin ter bezleri, ekrin ter bezlerinin belirli bölgelerde sınırlı olması gibi insanlardan farklılıkları da vardır. Cilt

damar ağı (özellikle dermiste) insan cildinde daha zengindir (5,24). Weanling domuzları insanlara benzer kalınlıkta dermise sahiptir; daha büyük hayvanlarda daha kalın ve sert cilt görülmektedir (5).

Domuz modelleri parsiyel ve tam kat eksizyonel yaralar, insizyonel yaralar, lazer ile oluşturulan yaralar, iskemik yaralar, ikinci derece yanıklarda ve basınç ülserinde kullanılmıştır (5,8).

F-KOBAY (GUİNEA PİG)

Yarada vitamin C eksikliğinin etkileri genellikle kobaylarda çalışılmıştır. Kobaylar, insanlar gibi C vitaminini diyet kaynaklarından almaktadır (25). Vitamin C eksikliği olan kobaylar, yara iyileşmesinde kollajenin rolünü araştırmak için kullanılmıştır; çünkü C vitamin kollajen sentezinde gereklidir (5).

G-HAMSTER

Hamster modeli skar araştırmasında kullanılan bir xenograft modelidir; insan skar dokusu aşılanarak oluşturulmuştur. Hochman ve arkadaşlarının çalışmasında, skar dokusu örneği bağışıklıktan muaf bir alan olacak şekilde hamsterin yanak kesesinin çift katlı epitelyal katmanlarının arasına yerleştirilmiştir. Skar dokusu, yeni kan damarlarının gelişiminin olduğu 42 güne kadar iyi bir şekilde tolere edilmiştir (26). Ancak greftin implante edilmesindeki karmaşıklık ve yüksek bütçe gerektirmesi bu modelin uygulanabilirliğinin kısıtlıdır (27).

H-ZEBRA BALIĞI

Zebra balıkları (zebrafish) birçok doku ve organda rejenerasyon yapabilmektedir. Yetişkin bir zebra balığının gövdesinde hızla yara modeli oluşturulabilir (28). Memelilerde iç içe geçmiş yara iyileşmesi fazlarının aksine, zebra balıklarında yara iyileşmesi basamakları sıralı bir şekilde devam eder. Böylece kimyasal ve

genetik manipülasyonun etkileri daha iyi anlaşılabilir (5,28).

SONUÇ

Hayvan modelleri insan yara iyileşmesi için çok önemli bilgiler elde etmemizi sağlamaktadır. Ancak çalışmalarda hayvan modelleri arasındaki farklar mutlaka dikkate alınmalıdır. Çalışmanın amacına yönelik her modelin avantaj ve dezavantajları araştırmacı tarafından dikkatli bir şekilde ele alınmalıdır. Hayvan modellerinde, insanlardaki kronik yara patofizyolojisindeki kompleksliğin ve heterojenitenin tam olarak yansıtılması mümkün olmayabileceği unutulmamalıdır (5).

Kaynaklar

- Ozgok Kangal MK, Regan JP. Wound Healing. [Updated 2018 Dec 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-.
- Wilhelm KP, Wilhelm D, Bielfeldt S. Models of wound healing: an emphasis on clinical studies. *Skin Res Technol.* 2017 Feb;23(1):3-12. doi: 10.1111/srt.12317. Epub 2016 Aug 9.
- Helfman T, Ovington L, Falanga V. Occlusive dressings and wound healing. *Clin Dermatol* 1994;12:121e7.
- Elliot S, Wikramanayake TC, Jozic I, Tomic-Canic M. A modeling conundrum: murine models for cutaneous wound healing. *J Invest Dermatol.* 2018;138:736e40.
- Grada A, Mervis J, Falanga V. Research techniques made simple: Animal models of wound healing. *J Invest Dermatol.* 2018 Oct;138(10):2095-2105.e1. doi: 10.1016/j.jid.2018.08.005.
- Galiano RD, Michaels J, Dobryansky M, Levine JP, Gurtner GC. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing. *Wound Repair Regen* 2004; 12: 485–492.
- Dunn L, Prosser HC, Tan JT, Vanags LZ, Ng MK, Bursill CA. Murine model of wound healing. *J Vis Exp* 2013; 28: e50265.
- Seaton M, Hocking A, Gibran NS. Porcine models of cutaneous wound healing. *ILAR J* 2015; 56: 127–138.
- Sullivan TP, Eaglstein WH, Davis SC, Mertz P. The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen* 2001; 9: 66–76.
- Velander P, Theopold C, Hirsch T, Bleiziffer O, Zuhaili B, Fossum M, et al. Impaired wound healing in an acute diabetic pig model and the effects of local hyperglycemia. *Wound Repair Regen* 2008;16:288e93.
- Fang RC, Kryger ZB, Buck I, Donald W, De La Garza M, Galiano RD, et al. Limitations of the db/db mouse in translational wound healing research: is the NONcNZO10 polygenic mouse model superior? *Wound Repair Regen* 2010;18:605e13.
- Nguyen P, Smith A-L, Reynolds K. A literature review of different pressure ulcer models from 1942-2005 and the development of an ideal animal model. *Australas Phys Eng Sci Med* 2008;31:223e5.
- Swaim SF, Bradley DM, Vaughn DM, Powers RD, Hoffman CE. The greyhound dog as a model for studying pressure ulcers. *Decubitus* 1993;6:32e5, 38e40.
- Swaim SF, Hanson RR, Coates JR. Decubitus ulcers in animals. In: Parish LC, Witkowski JA, Crissey JT, editors. *The decubitus ulcer in clinical practice.* Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 1997. p. 217e38.
- Edwards R, Harding KG. Bacteria and wound healing. *Curr Opin Infect Dis* 2004;17:91e6.
- James GA, Swogger E, Wolcott R, Secor P, Sestrich J, Costerton JW, et al. Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen* 2008;16:37e44.
- Robson MC. Wound infection: a failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *Surg Clin* 1997;77:637e50.
- Gurjala AN, Geringer MR, Seth AK, Hong SJ, Smeltzer MS, Galiano RD, et al. Development of a novel, highly quantitative in vivo model for the study of biofilm-impaired cutaneous wound healing. *Wound Repair Regen* 2011;19:400e10.
- Ansell DM, Klopper JE, Thomason HA, Paus R, Hardman MJ. Exploring the “hair growthwound healing connection”: Anagen phase promotes wound re-epithelialization. *J Invest Dermatol* 2011;131:518e28.
- Wong VW, Sorkin M, Glotzbach JP, Longaker MT, Gurtner GC. Surgical approaches to create murine models of human wound healing. *BioMed Res Int* 2011;2011(1110-7243):969618
- Zhou S, Wang W, Zhou S, Zhang G, He J, Li Q. A novel model for Cutaneous Wound Healing and Scarring in the Rat. *Plast Reconstr Surg.* 2019 Feb;143(2):468-477. doi: 10.1097/PRS.00000000000005274.
- Quirinia A, Jensen FT, Viidik A. Ischemia in wound healing I: design of a flap model changes in blood flow. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 1992;26:21e8.
- Gould LJ, Leong M, Sonstein J, Wilson S. Optimization and validation of an ischemic wound model. *Wound Repair Regen* 2005;13:576e82.
- Montagna W, Yun JS. The skin of the domestic pig. *J Invest Dermatol* 1964;42: 11e21.

25. Bartlett MK, Jones CM, Ryan AE. Vitamin C and wound healing: I. Experimental wounds in guinea pigs. *New Engl J Med* 1942;226:469e73.
26. Hochman B, Bôas FCV, Mariano M, Ferreira LM. Keloid heterograft in the hamster (*Mesocricetus auratus*) cheek pouch. *Acta Cir Bras* 2005; 20: 200–12.
27. Li J, Wang J, Wang Z, Xia Y, Zhou M, Zhong A, Sun J. Experimental models for cutaneous hypertrophic scar research. *Wound Repair Regen*. 2019 Sep 11. doi: 10.1111/wrr.12760.
28. Richardson R, Slanchev K, Kraus C, Knyphausen P, Eming S, Hammerschmidt M. Adult zebrafish as a model system for cutaneous wound-healing research. *J Invest Dermatol* 2013;133:1655e65.

TÜD/TÜRK ÜROLOJİ AKADEMİSİ YAYINLARI

1. Üriner Sistem Taş Hastalığının Tedavisi
2. Üriner İnkontinans Tanı ve Tedavi
3. Mesane Kanseri Güncelleme
4. Böbrek Kanseri Güncelleme
5. Testis Kanseri Güncelleme
6. TÜAK/Türkiye ESRU Asistan El Kitabı
7. Uretra Darlıklarına Yaklaşım
8. Erkek ve Kadın Cinsel Sağlığı
9. Güncel Üroloji
10. Robotik Üroloji Güncelleme
11. Pratik Ürodinami
12. TÜAK/Türkiye ESRU Asistan El Kitabı 2. Baskı
13. Tıp Hukuku
14. Ürolojide Perioperatif Süreç Yönetimi
15. Çocuk Ürolojisi Güncelleme
16. Ürolojide Lazer Kullanımı
17. Üroonkoloji El Kitabı
18. Güncel Üroloji 2. Baskı
19. Genito-Üriner Hastalıklarda Fitoterapinin Yeri
20. Genito-Üriner Sistem Protezleri Atlası
21. Üroonkoloji Operatif Atlas
22. Ürolojide Sık Kullanılan Deney Hayvan Modelleri

ISBN 978-605-68063-3-9



9 786056 806339