

T.C
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji Anabilim Dalı

ÜRİNER GLİKOZAMİNOGLİKAN ATILIMINA ÜRİNER TAŞ HASTALIĞININ VE ESWL' NİN ETKİSİ



UZMANLIK TEZİ

Dr. Bülent ERKURT

İSTANBUL - 1997

T.C
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji Anabilim Dalı

ÜRİNER GLİKOZAMİNOGLİKAN ATILIMINA ÜRİNER TAŞ HASTALIĞININ VE ESWL' NİN ETKİSİ

T 59349

UZMANLIK TEZİ

Dr. Bülent ERKURT

İSTANBUL - 1997

İÇİNDEKİLER

1- Giriş ve Amaç	-	3 - 4
2- Genel Bilgi	-	5 - 8
3- Gereç ve Yöntem	-	9 - 10
4- Bulgular	-	11 - 14
5- Tartışma	-	15 - 20
6- Özet	-	21- 22
7- Sonuç	-	23
8- Kaynaklar	-	24 - 30

GİRİŞ VE AMAÇ

Üriner sistemde taş oluşması için kristal çekirdekleşmesi, büyüme ve agregasyon gibi etkenlerin önemi bilinmektedir. Bu etkenlere karşı üriner inhibitör maddelerin varlığı sağlıklı insanları taş oluşumundan korumakta, azlığı ya da yokluğu ise, taş hastalığının oluşumunda neden olarak gösterilmektedir (1). Tekrarlayan taş hastalığı olanların üriner inhibitör madde seviyelerinin sağlıklı gruba oranla anlamlı oranda düşük olduğu rapor edilmiştir (2,3). Taş oluşumunda etken olduğu gösterilen kalsiyum oksalat kristali büyümesi ve agregasyonuna karşı tespit edilmiş iki ana grup inhibitör mevcuttur. Bunlar düşük molekül ağırlıklı olanlar (sitrat, magnezyum, pirofosfat) ve makromoleküler (glikozaminoglikanlar) maddelerdir (4,5). Asidik makromoleküler inhibitör olarak tanımlanan Glikozaminoglikanların (GAG) üriner sistemdeki önemli kristalizasyon inhibitörü etkileri in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir (6,7,8,9). Gösterilen bu etki sonrasında hemen her tür taş kompozisyonunda üriner sistemden GAG atılım düzeyi merak konusu olmuştur.

Taş hastalarında üriner GAG atılımının tespiti için bir çok çalışma yapılmış ve çok farklı sonuçlar bulunmuştur. Bu farklılığın gerekçesi olarak gerek nesnel gerekse öznel GAG atılımının saptanması için kullanılan yöntemlerin çeşitliliği gösterilmiştir (10,11). GAG' ların kompleks yapılarından kaynaklanan bu uyumsuzluk diyet, yaş ve cinsiyet gibi değişkenlerden de etkilenmektedir.

Sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında üriner taşı olan olguların GAG atılımında farklılık olmadığını (12,13,14) veya arttığını belirten (15) yayınlar olmakla birlikte azaldığını (16,17) gösteren çalışmalar ağırlık kazanmaktadır. Cinsiyet ve yaş grubunun üriner GAG atılımına etkisi de benzeri şekilde uyumsuz sonuçlarla bildirilmiştir (18,19).

Üriner taş tedavisi " Dıştan şok dalgaları ile taş kırma " (ESWL) yönteminin böbrek ve çevre dokularında geçici hasar yaratabildiği bilinmektedir (20,21,22). Bu hasarın GAG' ların histolojik olarak belirlenen yerleşim yerlerinde ortaya çıkması GAG düzeylerini etkileyebilecektir. Bilinen GAG yerleşim yerleri ise üroepitelin mukus tabakası , bazal

glomerüler membran boyunca, Bowman kapsülü , peritübüler ve túbüler kapiller ve arteriyollerdir (23). ESWL' nin yarattığı bu hasarın üriner total GAG atılımına etkisi deneysel olarak köpeklerde ve soliter böbrekli insanlarda araştırılmış, köpeklerde saptanan anlamlı artış insanlarda gösterilememiştir (24).

Amaç :

Yukarıdaki bilgilerin ışığında bu çalışmanın amacı :

1- Sağlıklı insan grubu ile böbrek taşı olan hasta grubu arasında idrarla atılan total GAG ve komponentleri açısından farklılık olup olmadığını ,

2- ESWL' nin yarattığı doku hasarının aynı parametrelere olan etkisini araştırmaktır.



GENEL BİLGİ

Glikozaminoglikanlar karbonhidrat polimerleridir. Kimyasal yapıları üronik asit ve heksozamine gibi tekrarlayan disakkarid zincirlerinden oluşmaktadır. Sahip oldukları sülfat (hyalüronik asit haricinde) ve karboksilik grupları nedeniyle oldukça hidrofilik özellik kazanmışlardır. Yedi ayrı GAG tipi sülfat eklerinin miktarı, lokalizasyonu, bağlanış yeri ve kompozisyonu ile belirlenmiştir (25 ,26). Bunlar Hyaluronik asit, Keratan sülfat (üronik asit yerine galaktoz kullanılmıştır), Kondroidin-4-sülfat, Kondroidin-6-sülfat, Dermatan sülfat, Heparan sülfat ve Heparin' dir.

Genitoüriner sistem içinde GAG' lar farklı organlarda farklı kompozisyonlarda yer almaktadırlar. Üriner kökenleri tam olarak bilinmemekle birlikte bağ doku metabolizmasının son ürünü olarak serumdan filtre edildikleri ve böbrekte üretilmedikleri öne sürülmektedir (27). Bunun yanısıra Paulsen ve arkadaşları GAG' ların mesane ve üriner sistemden salgılandığını iddia etmişlerdir (28). Üriner patolojisi olmayan sağlıklı insandaki GAG kompozisyonu belirlenmiştir (41, 42). Normal idrarda en belirgin GAG tipi Kondroidin sülfat' dır (% 60). Geri kalan bölüm heparan sülfat (% 16-27), dermatan sülfat (% 15) ve diğerleridir.

GAG komponentlerinin farklı organlarda farklı fonksiyonları mevcuttur. Bu fonksiyonlar sadece en belirgin olan komponente bağlı değildir. İdrarda en belirgin komponent kondroidin sülfat olmasına rağmen heparan sülfatın renal filtrasyon fizyolojisinde oldukça önemli rolü vardır. Serum proteinlerinin difüzyonunu polianyonik membran bariyeri görevi yaparak engellerler (29). Bu özelliklerini yapılarında bulunan asidik polisakkaridler sağlamaktadır. GAG tabakasındaki kalıcı hasarın renal filtrasyon patolojisine yol açtığı bilinmektedir. Bu olay insülin bağımlı diabetik olgularda anormal yükselmiş üriner GAG düzeyleri ile gösterilmiştir (30).

Üriner sistemde böbrek haricinde mesane ve prostattaki GAG içeriği de histolojik olarak belirlenmiştir. Mesane' de GAG, devamlılığı olan bir tabaka halindedir ve heparin haricinde mesane yüzeyinde yer alan tüm tiplerinin geçirgenlik ve yapışma (adezyon) engelleyici görevleri vardır (25). GAG' ların hidrofilik olması düşük geçirgenlik özelliğini, böylece iyonlara ve küçük moleküllü maddelere karşı koruyucu görev yapmasını sağlamaktadır (31). Yapışmaya karşı koruyucu özelliği ise üriner sistem epitelini bakteri, kristaller ve karsinojenlere karşı korumaktadır (32).

GAG' ların ekstraselüler matriksdeki birçok fonksiyonu iyi bilinmektedir. Ancak bu fonksiyonların etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. GAG komponentleri arasındaki yapı ayrılıkları, yüksek anyonik yükleri, proteinlere bağlanma eğilimleri, izomerizasyon ve polimerizasyon özellikleri GAG' lara oldukça önemli biyolojik fonksiyonlar kazandırmıştır. Ancak bu üstün fonksiyonel özellikler laboratuvar tanı yöntemlerindeki teknik zorlukları da birlikte getirmektedir.

GAG' ların ekstraselüler matriksde bilinen fonksiyonları :

- 1- yapı sabitleyici etki,
- 2- hidrofilik özellikleri nedeniyle filtrasyon kontrolü,
- 3- hücre biyosentez modülasyonu,
- 4- hücre aralığı belirleyicisi etki,
- 5- hücrel farklılaşmasına uyarıcı etki,
- 6- anti-proliferatif etki,
- 7- anti-koagülan etkilerdir (1, 33,34).

GAG' lar ekstraselüler matrikse rasgele olarak değil, organ ve fonksiyon seçici şekilde sistematik olarak salgılanırlar (35). Bu seçicilikleri sayesinde biyosentez, farklılaşma ve proliferasyon gibi fonksiyonlarını organize şekilde yerine getirebilmektedirler (33,34).

Üriner GAG' ların öznel ve nesnel analizleri kalıtsal mukopolisakkaridozların ayırıcı tanısında başarı ile kullanılmaktadır (36,37). Mukopolisakkaridoz tiplerinin ayırıcı tanısında idrarla atılan ve her tipe özgün GAG komponenti kullanılmaktadır (36,37).

Üriner GAG' ların mesane kanseri, Werner sendromu, Weber Christian hastalığı, Rothmund Thomson sendromu, Epidermolizis bülloza vb. hastalıklarla ilişkisi belirlenmiştir (38,39,40).

GAG' ların kalsiyum kristalizasyon, büyüme ve agregasyonundaki önemli inhibitör görevleri in-vivo ve in-vitro çalışmalarda gösterilmiştir (4,5,7,8, 9). İnhibitör etkinin ortaya konmasından sonra ise organik matriksin içindeki GAG' ın taş etiolojisindeki olası etkisi araştırılmıştır. Nishio ve arkadaşları farklı taş matriks içeriklerinde farklı yapıda GAG' lar rapor etmişlerdir (43). Aynı çalışmada kalsiyum oksalat monohidrat ve ürik asit taşlarında heparan sülfat, kalsiyum oksalat dihidrat taşlarında ise hyalüronik asit ve heparan sülfat varlığı gösterilmiştir. Ancak Roberts ve Resnick hem heparan sülfatı hem de hyalüronik asiti üriner taş matriksinde saptamalarına rağmen kristal kompozisyonu ve matriks GAG tipi arasında ilişki olmadığını belirtmişlerdir (44).

Üriner kolloid ve kristal urat varlığında GAG düzeyleri azalmaktadır. Bu azalmanın gerekçesi olarak GAG' ların solid üratlara oldukça güçlü olarak bağlanabilmesi gösterilmiş ve ortamda kalsiyum , magnezyum gibi elementlerin varlığının bu etkiyi arttırdığı rapor edilmiştir (45,46). Benzeri şekilde taşı olan hiperürikozürik olgularda taşı olmayan kontrol grubuna oranla daha düşük GAG düzeyi saptanmıştır (47). Pak ve arkadaşları bu görüşü taş hastalarını idrarın kimyasal yapısına göre sınıflayarak ve atılan GAG miktarında gruplar arasında fark olmadığını göstererek desteklemişlerdir (48).

Taşlı olgularda ise sağlıklı gruba oranla daha çok sülfatlı GAG komponenti bulunması Foye ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Aynı çalışmada bu özelliğin kalsiyumun çökmesini arttırdığı öne sürülmüştür (51).

Bu arada ilginç bir gerçek de normal idrarda belirgin komponent kondroidin sülfat olmasına rağmen, GAG' ın en güçlü inhibitör aktivitesinin normal idrarda bulunmayan komponentlerinden heparine ait olduğunun in-vitro olarak gösterilmiş olmasıdır (1,47).

Total GAG miktarı 24 saatlik idrardan elde edilmektedir. Elde edilen değerlerin 24 saatlik volüm ile çarpılması ya da kreatinin değeriyle oranlanması ile 24 saatte atılan total GAG değerleri saptanabilmektedir. GAG değerinin idrar kreatininini ile oranlanması, idrarın toplandığı 24 saatlik süreç ve düşük sıvı alımına bağlı volüm farklılıklarını ortadan kaldırdığı için tercih edilen yöntemdir (49).

ESWL' nin üriner sistem taşlarında oldukça yüksek tedavi başarısına sahip olduğu çok geniş serilerle rapor edilmiştir (52). İnvaziv olmayan bir tedavi şekli olarak kabul gören yöntemin prensibi, su içinde küçük bir alanda oluşan enerjinin ani olarak şok dalgası şekline dönüşmesi esasına dayanmaktadır. Ortaya çıkan şok dalgaları yumuşak dokulara hasar vermeden geçerken solid dokularla karşılaştığında yüzeyden başlamak üzere mekanik parçalanmaya neden olmaktadır (53). Ancak cihazlar güç açısından farklı tedavi ve yan etki sonuçları yaratabilmektedirler (53,54). Tedavi amaçlı yaratılan şok dalgalarının neden olduğu yan etkilerden başlıcaları hematüri, ödem, tübüler nekroz ve ileri dönemde fibrozisdir (52). Ayrıca subkapsüler hematoma, intrarenal kanama, perinefrik kanama ve fokal parankimal değişiklikler gösterilmiştir. En sık rastlanan yan etki olan hematürinin fokal parankim hasarına bağlı olduğu belirtilmiştir (53). ESWL sonrası idrarla atılan laktik dehidrogenaz (LDH), aspartat transaminaz (AST), alanin transaminaz (ALT) ve N-asetil glukozaminidaz (NAG) düzeyindeki artış tübüler hasarı göstermektedir (21,54). Bunların yanısıra gama-GT, alfa-1 mikroglobulin ve beta-2 mikroglobulin artışları da proksimal tübüler hasarı göstermektedir. Distal tübüler hasarın göstergesi olarak ise Calbindin-D' nin üriner atılımındaki artış belirlenmiş ve renal hasarın en hassas göstergesi olarak rapor edilmiştir (55). ESWL sonrası doku hasarını gösteren üriner enzimlerdeki yükseklik 24 - 72 saat sürmekte ve ortalama 7 günde normal düzeylere inmektedir (56,57).

Bu bilgilerin ışığı altında, taş oluşumuna karşı koruyucu etkisi belirtilen GAG' ların ve komponentlerinin taşı olgulardaki kompozisyonu ve ESWL' nin bu inhibitör tabakaya zarar verip vermediği yada kompozisyon farklılığına neden olup olmadığı merak konusudur.

GEREÇ - YÖNTEM

Çalışmaya Ağustos 1995 - Şubat 1997 tarihleri arasında Anabilim dalı polikliniğimize üriner taş hastalığı nedeniyle başvuran 21 erkek, 17 kadın olgu dahil edildi (yaş ortalaması (sırasıyla, 43 ve 37). Taşlı hastaların ESWL öncesi değerlerini karşılaştırmak için oluşturulan kontrol grubunda ise hiç bir sağlık sorunu olmayan 16 erkek, 15 kadın (yaş ortalaması sırasıyla 36 ve 31) mevcut idi. Taşlı hasta grubuna 1-3 cm. arası böbrek (toplayıcı sistem) taşı olan, daha önce ESWL uygulanmamış, üriner enfeksiyonu veya makroskopik hematürisi olmayan, 25 - 50 yaş olgular dahil edildi. Tanı almış herediter hastalık, mukopolisakkaridoz, insülin bağımlı diyabet, üriner sistem tümörü, interstisyel sistiti olanlar çalışmaya alınmadı. Üriner sistem ile ilgili anomali veya geçirilmiş cerrahisi olan hastalar da çalışma dışı bırakıldı.

Tüm hastalara Dornier MFL 5000 ESWL cihazı ile 3000 şok dalgası 18 kV enerji seviyesinde ve tek vuru tekniği ile uygulandı. Sağlıklı insanlardan oluşmuş kontrol grubundan (kont.) sadece bir kez 24 saatlik idrar toplanarak, total GAG, GAG komponentleri (kondroidin sülfat, dermatan sülfat, heparan sülfat), volüm, kreatinin değerlerine bakıldı. Hasta grubundan ise ESWL öncesi 24 saat (pre-ESWL), ESWL sonrası ilk 24 saat (postESWL-1) ve 36 - 60. saatler arası (postESWL-2) olmak üzere 3 kez 24 saatlik idrar toplanarak aynı parametrelere bakıldı.

Toplanan idrarların rastgele alınmış 30 cc. si hiç bekletilmeden 2000 devirde 5 dakika süre ile santrifüj edilerek, (-) 20 derecede herhangi bir katkı maddesi olmadan korundu. Total GAG miktarı kolorimetrik yöntemle 1,9 dimethylene blue renk reaktifi ile 525 nm. de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Miktar belirtimi Heparan sülfat standart eğrisi üzerinden yapıldı (58). GAG komponentleri ise cetylpyridinium chloride presipitasyonu sonrasında selüloz asetat elektroforezi ile ayrıştırıldı. Uygulanan selüloz asetat elektroforez yönteminde 0.3 mol/l kadmiyum asetat ile hyalüronik asiti diğerlerinden ayırdı, 0.1 mol/l baryum asetat ile heparan, dermatan ve kondroidin sülfat seçildi. Daha sonra alcian blue ile boyanan komponentlerin dansitometrik olarak miktar tayinleri gerçekleştirildi (59).

GAG değerlerinin yine 24 saatlik idrardan elde edilen kreatinin değerlerine bölünmesi ile elde edilen oranlar istatiksels değerlendirme için kullanıldı (GAG (μg) / Kreatinin (mg)). Kreatin düzeyleri Jaffe reaksiyonu prensibine göre Hitachi - 705 Őeklinde saptandı.

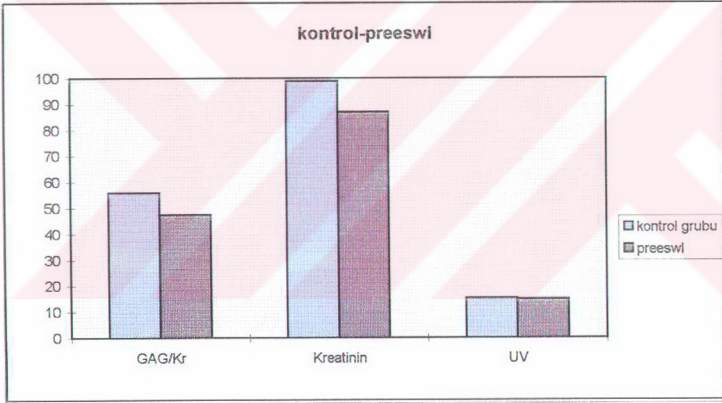
Uygulanan istatiksels analiz yöntemleri :

Total GAG / Kreatinin ve GAG komponentleri preESWL, PostESWL -1 ve PostESWL-2 gruplarında ANOVA tekrarlayan değerler yöntemi ve Student-Newman-Keuls yöntemi ile yapıldı. Parametre grupları içinde kadın erkek farklılıkları unpaired t test, alternate t test ve 2 sided p value yöntemi ile, kadınların ve erkeklerin kendi içindeki tedavi öncesi ve sonrası değerleri paired test ile, ayrıca tüm hasta grubu unpaired t testi, student t test ve 2 sided p value testleri ile sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Sunulan çalışmanın amaçlarından biri taşlı hasta grubu ile sağlıklı insan grubu arasında farklılık olup olmadığını araştırmaktır. Her iki gruptan elde edilen üriner volüm, kreatinin ve total GAG değerleri bu amaçla karşılaştırıldı. Üriner volüm ve kreatinin değerlerinde iki grup arasında farklılık olmadığı gözlemlendi (Grafik 1). GAG atılımı değerlendirildiğinde ise taşlı hasta grubunda sağlıklı gruba oranla azalma olduğu, ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (sırasıyla 5.62 ve 4.75) (Grafik - 1).

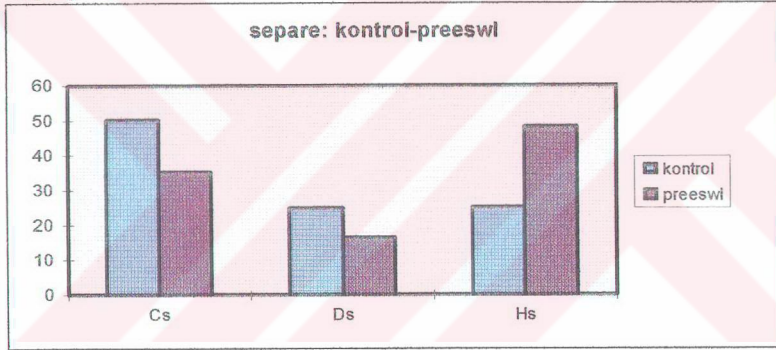
Grafik 1: Kontrol grubu ile taşlı hasta grubunun GAG, kreatinin ve üriner volüm miktarları açısından karşılaştırılması.



	GAG/Kr	Kreatinin (mg)	UV (ml)
kontrol	5,62	98,9	1,53
preeswi	4,75	87	1,49
p	0.272	0.165	0.848

Total GAG değerlerinde azalmaya rağmen istatikselsel farklılık saptanmamasından sonra ilgi çeken konulardan bir tanesi de total GAG komponentlerinde farklılık olup olmadığı idi. (Grafik 2). Kondroidin sülfat sağlıklı insan grubunda en belirgin komponent olarak dikkat çekmekte idi. Taşlı hasta grubuna bakıldığında ise heparan sülfatın en belirgin komponent haline geldiği ($p < 0.0001$), bunun yanısıra dermatan sülfat (Ds) ve kondroidin sülfatın (Ks) belirgin olarak azaldığı ($p < 0.001$) saptandı.

Grafik 2: Kontrol grubu ve taşlı hasta grubunun GAG komponentleri açısından karşılaştırılması.

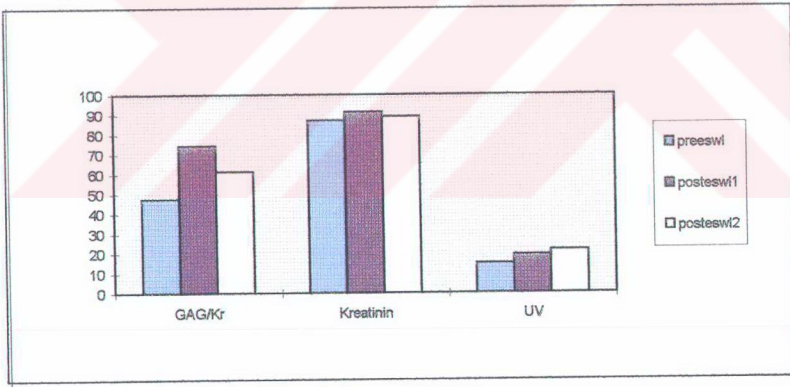


	Cs	Ds	Hs
kontrol	50,03	24,93	25,03
preeswi	35,24	16,5	48,26
p değerleri	$p < 0.0001$	$p < 0.001$	$p < 0.0001$

ESWL tedavisinin böbrekteki GAG tabakasına etkisini anlayabilmek için Pre-ESWL, postESWL-1 ve postESWL-2 gruplarında yine üriner volüm, total GAG ve komponentleri karşılaştırıldı. ESWL sonrası ilk 24 saatte üriner volümde artış saptandı ($p < 0.01$). İkinci 24 saatte ESWL öncesi değerlere göre yükselme eğiliminin hala devam etmekte olduğu izlendi (Grafik 3). Bu gruplarda kreatinin değerlerinde farklılık yoktu .

ESWL sonrası total GAG değerlerine bakıldığında belirgin artış dikkat çekici idi (sırasıyla 4.75, 7.43, $p < 0.001$) . Artıştaki anlamlı fark ESWL sonrası ikinci 24 saatlik grupta da izlendi (sırasıyla 4.75, 6.11, $p < 0.01$). Bu grup GAG atılımı ESWL öncesine göre halen anlamlı oranda yüksek seyretmektedir. Ancak ilk 24 saate oranla azalma eğilimi izlenmektedir (Grafik 3).

Grafik -3: ESWL' nin total GAG, kreatinin ve üriner volüme olan etkisi. ESWL öncesi değerler ile ESWL sonrası değerlerin karşılaştırılması.

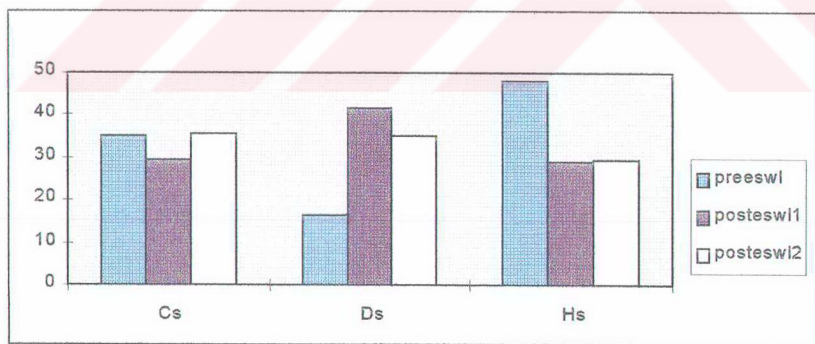


	GAG/Kr	Kreatinin (mg)	UV (ml)
preeswl	4,75	87	1,49
posteswl 1	7,43	91,3	1,91
posteswl 2	6,11	89,1	2,15

ESWL' nin GAG komponentlerine etkisi her üç komponentte de izlendi (Grafik 4). Taşlı hasta grubunda en belirgin komponent olan heparan sülfat postESWL-1 ve postESWL-2 grubunda anlamlı oranda azalmış olarak gözlemlendi (sırasıyla, 48,26,29,05, $p < 0.001$ ve 48,26, 29,32, $p < 0.001$). ESWL sonrası azalmada postESWL-1 ve postESWL-2 grupları arasında farklılık yoktu. Kondroidin sülfatta da heparan sülfatta olduğu gibi azalma izlendi (sırasıyla, 35,24, 29,23, $p < 0.05$). Ancak postESWL-2 değerlerinde tekrar preESWL değerlerine ulaşacak bir artış gözlemlendi (sırasıyla, 35,61, 29,23 $p < 0.05$).

PostESWL grubunda heparan sülfat ve kondroidin sülfat oranlarındaki azalma yerini dermatan sülfattaki anlamlı artışa bıraktı. Anlamlı yükselme her iki postESWL grubundada mevcut idi (sırasıyla,16,50, 41,71, $p < 0.001$, 16,50, 35,07, $p < 0.001$). İkinci grupta başlayan düşme eğiliminin ESWL öncesi değerlerine ulaşacak kadar olmadığı ve hala anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi (sırasıyla, 35,07, 16,50 $p < 0.01$).

GRAFİK-4: ESWL' nin GAG komponentlerine etkisi. ESWL öncesi (preESWL), sonrası ilk 24 saat (postESWL-1) ve sonrası ikinci 24 saat (postESWL-2) değerlerinin karşılaştırılması.



	Cs	Ds	Hs
preeswl	35,24	16,5	48,26
posteswl 1	29,23	41,71	29,05
posteswl 2	35,61	35,07	29,32

TARTIŞMA

Böbrekteki GAG tabakasının sağlıklı insanda koruyucu etkisinin anlaşılmasından sonra taş hastalarında tabakanın devamlılığının monitorize edilmesi önem kazanmıştır. Literatürde yer alan oldukça farklı sonuçlara karşın taş hastalarındaki GAG atılımında azalma olduğu genel olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda ESWL' nin böbrekte yarattığı bilinen harabiyetin GAG monitorizasyonu ile gösterilmesi de mümkün olabilir.

Bu çalışma GAG' ın bu iki durumdaki önemini araştırmaya yönelik olarak planlanmıştır. Sonuçlarımızın doğru değerlendirilmesinde uyguladığımız GAG saptama yönteminin önemi nedeniyle metodolojinin tartışılması da öncelik kazanmaktadır. Yapılan çalışmalarda konvansiyonel elektroforez yöntemleri ile tek bir çözücüde tüm GAG komponentlerini ayırabilmenin mümkün olmadığı gösterilmiştir (59). Tespit yöntemlerinin böylesine tartışılır hale gelmesinin gerekçesi GAG' ın üstün biyolojik fonksiyonlarını sağlayan kimyasal yapısıdır. GAG' ın yedi ayrı komponenti, hepsinin farklı moleküler ağırlıkları ve farklı sülfat dereceleri mevcuttur. Bu heterojen yapı GAG analizlerini zorlaştırmakta ve yeni yöntemlerin doğmasını güçleştirmektedir (49). Dikkat edildiğinde taşlı hastalarda kullanılan GAG yöntemlerinin mukopolisakkaridozlarda kullanılanların aynısı olduğu görülmektedir. Halbuki bu hastalarda taşlı hasta idrarında bulunmayan hyalüronik asit gibi GAG' lar esas alınmıştır (13,14,17,15). Bu çalışmalar başlatıldığında taşlı hastalarda esas olarak sülfatlı GAG' ların belirgin artış gösterdiği bilinmemekteydi. Taşlı hastalarda sülfatlı GAG düzeylerinde artış (51) gösterildikten sonra yapılan çalışmalarda ise cinsiyet, yaş ve diyet özelliklerinin üriner GAG atılımını etkilemediği anlaşılmıştır (49). Sülfatlı olmayan GAG tiplerini esas alan total GAG ölçüm yöntemlerinin yaklaşık % 15' lik olası yanılı payı nedeniyle tercih edilmemesi gerektiği düşünülmektedir. Aynı gerekçe ile total GAG komponentlerinin % değerlerini de saptamak mümkün olmayacaktır. Bizim çalışmamızda total GAG düzeyini belirlemek için kullandığımız DMB assay yöntemi Heparan sülfat standart eğrisi üzerinden yapılmıştır (58). Bu nedenle total GAG içeriğindeki sülfatlı komponentleri (heparan sülfat, dermatan sülfat ve kondroidin sülfat) içermektedir. Buna karşılık hyalüronik asit

gibi diğer çalışmalarda standart alınmış komponentleri ve yabancı proteinleri (RNA, Tamm-Harsfall) içermemektedir (59).

Sunduğumuz çalışmanın taşlı hasta grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre total GAG düzeyinde % 15 oranında azalma saptanmıştır. Aradaki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmamasına olgu sayısının göreceli olarak azlığı neden olabilir. Ayrıca çalışma grubu primer taş hastalarından oluşmaktadır (Grafik 1). Bu bulguyu yorumladığımızda primer taşların GAG tabakasında yeterli azalmaya henüz neden olmadığı, tekrarlayan taş hastalığı olan olgularda bu azalmanın daha da artan oranlarda gözlenebileceği düşünülebilir. Primer taş hastalığı olanlar ile tekrarlayan taş hastalığı olan olguları karşılaştırabilecek bir çalışmanın düzenlenmesi ilgi çekici olabilir.

Sonuçlarımızı diğer çalışmalarla karşılaştırdığımızda kullanılan yöntemlerin tam olarak açıklanmamasına rağmen Ryall, Cauderalla ve Robertson' un çalışma sonuçları ile benzer olduğu saptanmıştır (12,13,14). Ryall ve arkadaşları bizim çalışmamızda olduğu gibi taşlı olgu grubunda GAG düzeylerini sağlıklı kontrol grubuna oranla daha düşük olarak saptamış ancak onlar da bu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır (sırasıyla 16.3 mg ve 14.4 mg) (13). Kullandıkları yöntem eleştirilmesine rağmen Hesse ve arkadaşları da taşlı grupta anlamlı derecede düşük GAG değerleri bildirmişlerdir (19). Aynı çalışmada cinsiyet, yaş , diyet özellikleri ve etnik grup farklılıklarından GAG düzeyinin etkilendiği belirtilmiştir. Hesse' nin bu farklı sonuçları Sidhu ve arkadaşları tarafından doğrulanmamıştır. Bu araştırmacı ve arkadaşları aynı şekilde iyon-kromotografik yöntem kullanarak benzer gruplar oluşturduklarında farklılık olmadığını belirtmişlerdir (17). Sülfatlı bileşiklerin çalışılmaya başlamasından sonra yapılan çalışmalarda GAG atılımının cinsiyet, yaş ve etnik grup farklılıklarından etkilenmediği görüşü hakimdir (49).

Tartışmalı sonuçların böylesine yoğun olduğu bir konuya bu ilginin devamlılığı dikkat çekicidir. İlginin nedeni GAG atılımı ile taş hastalığı ilişkisi gösterilebildiğinde taş hastalığı etiolojisinin açıklanmasına katkıda bulunacağı düşüncesidir. GAG eksikliğinin taş oluşumuna neden olduğunu ortaya koyabilmek için de GAG tabakasındaki azalmanın gösterilebilmesi gerekmektedir. Aslında tartışılan, GAG' ların inhibitör etkileri ya da farklı matriksdeki dağılımları değil, bu azalmanın nasıl gösterileceğidir.

Eğer söz konusu hipotezin gerçekliği gösterilebilirse GAG düzeyleri tekrarlayan taş hastalığının takibi için kullanılabilir. Hatta tekrarlayan taş hastalığı için risk faktörü olarak değerlendirilebilir. Tekrarlayan taş hastalarının GAG atılımındaki azlığın gösterilmesi sonrasında ise protamine sülfat gibi bu tabakayı arttırıcı ilaçların kullanılması gündeme gelebilecektir.

Çalışmamızda kontrol grubunda kondroidin sülfatın, taşlı olgu grubunda ise heparan sülfatın en belirgin komponent olarak öne çıkması dikkat çekmektedir. Literatür araştırıldığında GAG komponentlerinin karşılaştırıldığı iki adet çalışma saptanmıştır (18, 51). Değişiklik olmadığını belirten Yara ve arkadaşları sadece heparan ve kondroidin sülfatı incelediğinden sonuçlarımızı karşılaştırabilmek mümkün olmamıştır. Foye ve arkadaşları ise taşlı hastalarda sülfatlı komponentlerin belirginliğini göstermişlerdir. Düzenledikleri çalışmada amaçları taşlı hastalarda sülfatlı bileşik belirginliğini göstermek olduğu için tüm sülfatlı komponentleri beraber çalışmışlardır (51).

Kristalizasyona karşı en güçlü inhibitörün heparin olduğu bunu da hyalüronik asit ve kondroidin sülfatın takip ettiği bilinmektedir. Bu güçlü inhibitörlerden sadece kondroidin sülfat idrarda bulunmaktadır. Taş hastalığının kondroidin sülfat azalmasına değil, kondroidin sülfat azlığının taş oluşmasına neden olması izlediğimiz bu komponent değişikliğini açıklayabilir. Görüldüğü üzere taşlı olgularda idrarla atılan heparan sülfat oranı artmıştır. Heparan sülfat yüksekliğini tek başına değerlendirirsek taş hastalığı için risk faktörü olarak görebiliriz. Ancak total GAG değerlerindeki azalmayla birlikte değerlendirdiğimizde heparan sülfat yüksekliği relatif bir yükseklik olabilir. Yani dermatan sülfat ve kondroidin sülfat atılmasındaki azalma nedeni ile heparan sülfat en belirgin komponent olarak dikkati çekiyor olabilir. Bir diğer olasılığa göre ise taşlı hastalarda idrarla fazla heparan sülfat atıldığı için total GAG miktarında azalma ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak taşlı olgularda GAG yıkımının arttığı bunun da bir risk faktörü olduğu kanısındayız. Bu azalmanın gerekçesi ise heparan sülfat artmasına yada kondroidin sülfat azalmasına bağlı olabilir.

Böbrek taşlarının seçici tedavisinde başarı ile kullanılan ESWL' nin böbrekte yaratmış olduğu geçici hasar idrarda saptanan enzimler ve radyolojik görüntüleme yöntemleri ile saptanabilmektedir (20, 21, 22). ESWL' nin neden olduğu hasarın GAG tabakasına etki edebileceği ilk olarak Karlisen' in çalışmasında ortaya konmuştur. Bu çalışmada 9 köpek ve 10 soliter böbrekli olguda ESWL sonrası GAG değerleri ölçülmüş ve sadece köpeklerde artış olduğu gözlenmiştir. Ancak bu araştırmada GAG komponentleri çalışılmamıştır (24). Total GAG için kullandıkları Whiteman yönteminde ise RNA, Tamm-Harsfall proteini ve üronik asit Alcian blue ile kompleks oluşturmaktadır. Oluşan bu kompleksin total GAG miktarını etkileyip yanıtıcı sonuçlar verebildiği aynı çalışmada belirtilmiştir. Oysa GAG analizleri için önde gelen koşullardan biri yabancı proteinlerden arındırılma işlemidir (60). Sonuç olarak GAG tabakasının böbrekteki lokalizasyonu düşünüldüğünde ESWL' den hasar görmesi beklenebilir.

ESWL sonrası artan üriner enzim miktarlarının kreatinin klirensi ile ilintili olmaması nedeniyle hasarın seçici olduğu bilinmektedir (54). Bu nedenle GAG tabakasına verilen hasarın sadece GAG fonksiyonlarını etkileyeceği düşünülmüştür. ESWL' nin neden olduğu hasarın böbreğin parankim fonksiyonlarını değiştirecek kadar etkili olduğu gösterilseydi sonuçlarımızı kreatin klirensi ile karşılaştırmamız daha doğru olabilirdi. Sunduğumuz çalışmada ESWL sonrası 24 saatlik idrarla atılan GAG miktarındaki anlamlı artışın ESWL' nin yarattığı hasara bağlı olduğu düşünülmüştür. ESWL sonrası ikinci gün toplanan 24 saatlik idrarda düşme eğiliminin başlamasına rağmen başlangıç değerlerine ulaşmamış olması çalışmanın bundan sonraki aşamasında daha uzun süre ile GAG atılımının takip edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Elde edilecek sonuçlar sonrasında hasarın geçici yada kalıcı olduğunun anlaşılabilceği kanısındayız. GAG tabakasındaki hasar bu tabakanın inhibitör görevinin kalıcı olarak azalmasına neden olabilir. Bu da tekrarlayan taş hastalığı için bir risk faktörüdür.

Winter ve arkadaşları 50 olguda ESWL öncesi ve sonrası enzimatik yıkama ve iyonokromotografik yöntem ile 24 saatlik idrarda total GAG ve komponentlerini ölçmüşlerdir (61). ESWL sonrası total GAG değerlerinde anlamlı oranda artış olduğunu, komponentlerinde ise farklılık olmadığını belirtmişlerdir.

Adı geçen çalışmada her iki grupta da belirgin komponent kondroidin sülfat olarak gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada kondroidin sülfat, dermatan sülfat ve hyalüronik asit için uygulanan iyonokromotografik ayırıştırma yöntemi kullanılmıştır. Bilindiği gibi bu yöntemle heparan sülfat ve keratan sülfat tespiti mümkün değildir. Bizim alışmamızda total GAG değerlerinde saptanan anlamlı artış bu çalışma da saptanmıştır (61). Winter ve Karlsen' in çalışmaları literatürde bu konuda rastladığımız ilk çalışmalardır. Karlsen deneysel olarak köpeklerde ve soliter böbrekli insanlarda sadece total GAG atılımını, Winter ise total GAG ve heparan slfatsız komponentlerini incelemişlerdir.

Çalışmamızda değerlendirmemiz gereken önemli sonuçlardan birisi de gruplar arasındaki GAG komponentlerinde saptadığımız farklılıklardır. Bu farklılıklar değerlendirildiğinde preESWL grubunda heparan sülfat, postESWL-1 grubunda ise dermatan sülfatın belirgin olduğu dikkat çekmektedir. ESWL sonrası artma gösteren dermatan sülfat, postESWL-2 grubunda azalmaya başlamış, ancak başlangıç değerlerine ulaşamamıştır. Dermatan slfatda ESWL sonrası gözlenen bu yüksek oran gerek sağlıklı kontrol grubu, gerekse ESWL ncesi taşlı hasta grubuna göre anlamlı derecede fazladır ($p < 0.0001$).

Bu kompozisyon farklılığı bazal membranda depolanan komponentlerin farklı olabileceğini düşündürmektedir. Bu komponentlerde farklılık var ise idrarda farklı komponentlerinin belirgin olmasının gerekçesi bazal membrana verilen hasara bağlı olabilir . Bazal membran komponentlerinin histolojik olarak tanımlanmasının bu farklılığı aıklıyacağı kanısındayız. Başka açıdan değerlendirmek istediğimizde hasar sonrası bazal membrandan açığa çıkan bilinmeyen proteinler seçici olarak bazı komponentler ile bağlanıp kompozisyon farklılığına neden olabilir. Hasar sonrası dermatan sülfat belirginliği kadar ilgi çeken özelliklerden biri de heparan sülfat atılımındaki azalmadır. Ancak atılımdaki azalmaya rağmen hala sağlıklı kontrol grubundaki oranlardan yüksek değerlere sahiptir. Bu kompozisyon farklılığındaki oranlar tekrarlayan taş hastalarının ESWL' lerinde yada aynı olgu grubunun tekrarlayan ESWL seansları sonrasında değişebilir.

Bütün bu bulguları birlikte değerlendirdiğimizde sebebi ne olursa olsun taş hastalarında ESWL sonrası GAG atılımının arttığını ve farklı komponent kompozisyonlarına neden olduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır.

Gerek tedavi öncesi taşlı olgu grubunda gerekse ESWL uygulanmış taşlı olgu grubunda doğru sečilmiř GAG komponentlerinin karşılaştırılması ile ilgili çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Sunduđumuz alışma gerek doğru yöntemin seçilmesi gerekse komponentlerinin değerlendirilmesi açısından literatürde yer alan ilk çalışmadır. Her iki olgu grubunda da komponent farklılığının açıklanabilmesi için daha fazla sayıda çalışmaya gereksinim olduğu kanısındayız.



ÖZET

Sunulan çalışma taş kristalizasyonunda, büyümesinde ve agregasyonunda makromoleküler inhibitör görevi yapan GAG düzeyinin bu etkisi nedeniyle taşı olan olgularda daha düşük olabileceği ve aynı taşı olgularda ESWL sonrası beklenen doku hasarını yansıtabileceği düşünülerek planlanmıştır.

Bu prospektif çalışmaya Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na üriner taş hastalığı nedeniyle başvuran ve ESWL kararı alınan 38 ve sağlıklı 21 olgu alındı. Kontrol grubunda bir kez, taşı olgularda ise ESWL öncesi, hemen sonrası ve 2. gün olmak üzere 3 kez 24 saatlik idrar toplandı. 24 saatlik idrarların volüm, total GAG ve kreatinin değerleri ölçüldü.

Çalışma sonucunda üriner taşı olan hastalarda sağlıklı gruba oranla GAG değerlerinin daha düşük olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmadığı görüldü .

Ayrıca kontrol grubu ile taş hastaları GAG komponentleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı istatistiksel farklılıklar olduğu saptandı ($p < 0.001$). Sağlıklı grupta kondroidin sülfat'ın , taşı olgularda ise heparan sülfat'ın belirgin olduğu gözlemlendi.

ESWL sonrası GAG değerleri ileri derecede anlamlı yükselme gösterdi ($p < 0.001$). Bu artışta ESWL' nin yarattığı doku hasarının etkili olduğu kanısındayız. Düşme eğiliminin başlamasına rağmen ikinci gün GAG değerlerinde hala anlamlı yüksekliğin devam etmesi bir sonraki aşamanın daha uzun süreli takip gerektiğini belirtmektedir. Hasarın kalıcı yada geçici olduğunun anlaşılması GAG' in inhibitör görevini etkileyebilir. Olası kalıcı hasarda ise bu konum tekrarlayan taş hastalığı için risk faktörü olabilir .

Yine bu grupta GAG komponentleri incelendiğinde ESWL öncesi heparan sülfat belirginliğinin ESWL sonrası yerini dermatan sülfata bıraktığı görülmektedir ($p < 0.001$).

Bu anlamlı farklılık glomerüler bazal membranda depolanan komponentlerin farklı olmasına bağlı olabilir. Bunun tanımlanması için de histolojik incelemeleri içeren yeni araştırmalara gereksinim vardır.



SONUÇ

- 1- İdrarla atılan GAG miktarı taşlı olgularda % 15 oranında azalmaktadır, istatistiksel olarak anlamlı oranlara ulaşması için daha geniş serilere gereksinim vardır.**
- 2- Sağlıklı kontrol grubunda kondroidin sülfat, taşlı olgu grubunda heparan sülfat atılım oranı daha fazladır.**
- 3- ESWL sonrası GAG tabakası hasar görmekte ve idrarla atılan GAG miktarı artmaktadır.**
- 4- ESWL sonrası GAG atılım komponentlerinde farklılık gerçekleşti ve dermatan sülfat atılım oranı en fazla hale geldi.**
- 5- ESWL sonrası gerek total GAG atılımının artmasının, gerekse GAG komponentlerindeki farklılıkların geçici yada kalıcı olduğuna karar verebilmek için daha uzun süre ile takip gereklidir.**

Kaynaklar:

- 1- Ryall RI, Marshall VR : The relationship between urinary inhibitory activity and endogeneous concentrations of glycosaminoglycans and uric acid : Clin Chim Acta: 141: 197 - 204. 1984.
- 2- Robertson WF, Peacock M: Calcium oxalate crystaluria and inhibitors of crystallisation in recurrent renal stone formers. Clin. Sci : 43 : 499 - 506. 1972.
- 3- Robertson WG, Peacock M, Marshall RW, et al : Saturation inhibition index as a measure of the risk of calcium oxalate stone formation in the urinary tract. N Engl J Med : 294 : 249-252 1976.
- 4- Nicar, M.J., Skurla,C., Sakhee, K. and Pak, C.Y.C.: Low urinary citrate excretion in nephrolithiasis. Urology, 2: 8,1983.
- 5- Whiteman P.: The quantitative determination of glycosaminoglycans in urine with Alcian Blue 8GX. Biochem.J.,131 : 351, 1973.
- 6- Sallis J.D and Lumley, M.F: On the possible role of glycosaminoglycans as natural inhibitors of calcium oxalate stones. Invest. Urol., 16: 361, 1978.
- 7- Koide T., Takemoto M., Itatani H, Takaha M. and Sonoda T., Urinary macromolecular substances as natural inhibitors of calcium oxalate crystal aggregation. Incest. Urol., 18 : 382, 1981.
- 8- Robertson WG, Peacock M, and Nordin, B.E.C. Inhibitors of the growth and aggregation of calcium oxalate crrystals invitro. Clin Chim Acta . 43 : 31,1973.
- 9- Robertson WG, Knowles F, Peacock M: Urinary mucopolysaccharide inhibitors of calcium oxalate crystallization : in Fleisch H, Robertson WG, Smith LH, et al. (eds): Urolithiasis Research. Newyork Planum Press; pp 331-334. 1976.

- 10- Blumenkrantz N, Asboe Hansen G: Method for quantitative determination of uronic acids. *Anal Biochem*: 54: 484 - 489 1973.
- 11- Kodama C, Kodama T, Yosizawa Z : Methods for analysis of urinary glycosaminoglycans. *J Chromatography*: 429 : 295 1988.
- 12- Sallis JD, Lumley MF: On the possible role of glycosaminoglycans as natural inhibitors of calcium oxalate stones. *Invest Urol* : 16 : 296 - 299. 1979.
- 13 - Ryall RL, Marshall VR : The value of the 24 hour urine analysis in the assessment of stone formers attending a general hospital outpatient clinic. *Br. J Urol*: 55: 1 - 5. 1983
- 14- Cauderella R, Stefani F, Rizzoli E, Malavolta N, Dantuono G : Preliminary results of glycosaminoglycans excretion in normal and stone forming subjects. Relationship with Uric acid excretion. *J Urol*: 129: 665-667. 1983
- 15- Trinchieri A, Mandressi A, Luongo P, Longo G, Pisani E; The influence of diet on urinary risk factors for stones in healthy subjects and idiopathic renal calcium stone formers. *Br J Urol* : 67 : 230 - 236. 1991
- 16- Robertson WG, Peacock ,Heyburn PJ, Marshall DH, Clark PB: Risk factors in calcium stone disease of the urinary tract. *Br J Urol* 50: 449 - 454. 1978
- 17- Sidhu H, Hermal AK, Thind SK, Nath R, Vaidyanathan S: Comparative study of 24 hour urinary excretion of glycosaminoglycans by renal stone formers and healthy adults. *Eur Urol* : 16 : 45 - 47. 1989
- 18- Michelacci YM, Glashan RQ, Schor N: Urinary excretion of GAG' s in normal and stone forming patients. *Kidney International*: 16 : 45. 1989

- 19- Hesse A, Wuzel H, Vahlensieck W: The excretion of GAG' s in the urine of calcium-oxalate-stone patients and healthy persons. Urol Int 41 : 81:1986.
- 20- Miller G.L., Wilson W.T., Fulgham P.F., Mc. Dougall, L.L., Erdman W.A. and Preminger G.M.Ş Morphologic renal changes following piezoelectric and spark gap lithotripsy, J. Urol. part 2, 141 : 271 A, abstract 406, 1989.
- 21- Akdaş A, Türkeri L, İlker Y, Şimşek F, et al. Short term bioeffects of extracorporeal shock wave lithotripsy. J Endourology, vol 8, No:3, 187 - 190, 1994.
- 22- Vahlensieck, W., Jr., Kürz, H.J., Steinhauer, H., friedburg, H. and sommerkamp, H.: Side effects of extracorporeal piezoelectric shock wave lithotripsy (EPL) Urol Res., 18 : 53, 1990.
- 23- Cauderella R, Rizzolli E, Malavolta N Clinical and metabolic aspects of urinary glycosaminoglycans excretion in calcium stone formers. In Marteli A, Buli P Mars, chesini B (eds) Inhibitors of crystallisation in renal-lithiasis and their clinical application. Proceedings of international Meeting, Bologna. Acta Med Rone, p 187. 1987.
- 24- Karlsen S.J., Smevik B., Klingenbergglund., and Berg K.J. Do Extracorporeal Shock Waves affect urinary excretion of glycosaminoglycans ?. Br J of Urol., 67, 24 - 28. 1991
- 25- Ruoslahti E : Structure and biology of proteoglycans. Ann Rec Cell Biol: 4 : 229. 1988.
- 26- Martin Jr DW, Mayes PA, Rodwell W, et al : Harper' s Review of Biochemistry, 20 th ed, Los Altos, CA: 53: 1. 1985.

- 27- Bichler, K.H., Sallis, J and Broring, S.: Observations on urinary glycosaminoglycan concentration in relation to the type of calculus and its tissue tumors. In: Urinary Calculus. Edited by J. Gbrockis and B. Finlayson. Littleton, Massachusetts: PSG Publishing Co., sect, IV, chapt.33, pp.335-340,. (4- 10).A. 1981.
- 28- Poulsen, J.H.: Determination of sulfate and uronic acid in glycosaminoglycans of human dermis and in urine. Scand.J.Clin. Lab. Invest., 41: 367, 1981.
- 29- Martinez-Hernandez A, Amenta PS: The basement membrane in pathology. Lab Invest: 48 : 656. 1983
- 30- Baggio B, Briani G , Cicerello E , et al : Urinary glycosaminoglycans, sialic acid and lysosomal enzymes increase in nonalbuminemic diabetic patients. Nephron: 43 : 187. 1986
- 31- Parsons CL, Greenspan C, Moore SW, et al: The primary antibacterial defense mechanism of the bladder. Invest Urol: 13 : 72. 1975
- 32- Parsons CL : Bladder surface glycosaminoglycans: Efficient mechanism of environmental adaptation. Urology: 27 : 9. 1986
- 33- Trelstad RL: Glycosaminoglycans: Mortar, matrix, and mentor. Laboratory investigation: 53:1. 1985
- 34- Woods A, Hook M, Kjellen L, et al : Relation of Heparan sulfate proteoglycans to the cytoskeleton and extracellular matrix of cultured fibroblasts. J cell Biol, , 99: 1743. 1984

- 35- Bichler, K.H., Sallis, J and Broring, S.: Observations on urinary glycosaminoglycan concentration in relation to the type of calculus and its tissue tumors. In: Urinary Calculus. Edited by J. Gbrockis and B. Finlayson. Littleton, Massachusetts: PSG Publishing Co., sect, IV, chapt.33, pp.335-340, .A. 1981
- 36- Pennock C.A., J. Clin. Pathol., 29 (1976) 111.37- A. Dorfman and R. Matalon, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 73 630. 1976.
- 37- Murata Y., Yukiama T. and Horiuchi Y., Clin. Chim. Acta, 49, 129. 1973.
- 38 - Grases F., Conte A. Glycosaminoglycans and oxalocalcic Urolithiasis. Nephron : 68 : 449 - 553. 1994.
- 39- Murata K., Ishikawa T. and Oshima Y., Clin.Chim.Acta.49, 129. 1973.
- 40- Hennessey P.T., Hurst R.E., Hermstreet G.P. and G. Cutter Res., 41, 3868. 1981
- 41- Friman C, Juvani M: Urinary excretion of glycosaminoglycans in malign disease of haemopoetic and lymphatic tissues. Acta Med Scand:198:115. 1975.
- 42- Hennessey PT, Hurst RE, Hemstreet III GP, et al: Urinary glycosaminoglycan excretion as a biochemical marker in patients with bladder carcinoma. Cancer research: 4: 3868 1981
- 43- Nishio S, Abe Y, Nakatsuk A Matrix glycosaminoglycan in urinary stones. Journal of Urology, 134 : 503. 1985
- 44- Roberts S.D, Resnick M I. Glycosaminoglycans content of stone matrix. Journal of Urology, 135: 1078 1986.

- 45- Hwang I.S.T, Preminger G.M., Poindexter J., and Pak Y.C.C. Urinary glycosaminoglycans in normal subjects and patients with stones. The journal of Urology. Vol.139. 995 - 997.1988.
- 46- Finlayson B, duBois L. Adsorption of heparin on sodium urate. Clinica Chimica Acta, 84: 203. 1978
- 47- Caudarella R, Stefani F, Rizzoli E et al. Preliminary results of glycosaminoglycans excretion in normal and stone forming subjects: relationship with uric acid excretion. Journal of Urology, 129: 665. 1983.
- 48- Pak C Y C, Barilla D E, Holt K et al. Effect of oral purine load and allopurinol on the crystallization of calcium salts in urine of patients with hyperuricosuric calcium urolithiasis. American Journal of Medicine, 65: 593. 1978
- 49- Yara M. Michelacci, R.Q. Glashan, Nestor Schor. Urinary excretion in normal and stone forming subjects. Kidney International., Vol.36, pp, 1022-1028. 1989
- 50- Felstrom B, Danielson B G, Ljunghall S et al. The inhibition of calcium oxalate crystal growth by chondroitin SO₄, heparin, pentosan polysulphate and Tamm-Horsfall glycoprotein. In : Schwille P O, Smith L H, Robertson W G, Vahlensieck W (eds) Urolithiasis and related clinical research. Plenum press, New York, pp 887-890.1991
- 51- Foye W O, Hong H S, Kim C M Et al. Degree of sulfation in mucopolysaccharide sulfates in normal and stone forming urines., Investigative Urology 14: 33. 1976
- 52- Chaussy CG, Fuchs GJ, : Current state and future developments of noninvasive treatment of human urinary stones with extracorporeal shockwave lithotripsy. J Urol., 141: 782-789. 1989

- 53- Wilson WT, Preminge GM, Extracorporel shockwave lithotripsy. *Urologic Clinics of North America*, 17 : 231, 1990.
- 54-Holmes SAV, Whitfield HN : The current status of lithotripsy : *Br J of Urol*. 68 : 337, 1991.
- 55- Hasegawa S, Kato K, Takashi M, et al. Increased levels of Calbindin D in serum and urine from patients treated by extracorporeal shockwave lithotripsy. *J Urol*. 149 : 1414, 1993.
- 56- Assimos DG, Boyce WH, Furr EG, et al. Urinary enzyme levels after extracorporeal shockwave lithotripsy (ESWL): *J of Urol*. part 2, 137 : 143 A, 1987.
- 57- Daniel MP, Burns JR. Renal function immediately after piezoelectric extracorporeal lithotripsy : *J of Urol*. 144 : 10, 1990.
- 58- Fandale R.W., Buttle D.J., Barrett A.J.. Improved quantitation and discrimination of sulphated glycosaminoglycans by use of dimethylene blue. *Biochimica et Biophysica Acta* 883 () 173-177. 1986
- 59- Heickendoff L., Ledet T., Rasmussen L.M.. Glycosaminoglycans in the human aorta in diabetes Mellitus. A study in tunica media from areas with and without atherosclerosis plaque. *Diabetologia* 37 : 286 - 292, 1994.
- 60-Angell AH, Resnick MI : Surface interaction between glycosaminoglycans and calcium oxalate. *J Urol* : 141 : 1255. 1989.
- 61- Cappaletti R., Chiarugi V.P .. *Anal Biochem*. 99 311. 1979
- 62- Winter P., Ganter K., Leppin U., Scoeneich G., Hesse A. Glycosaminoglycans in urine and extracorporeal hock wave lithotripsy. *Urol Res*, 23 : 401-405 :1995.