

99777

T. C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI
Prof. Dr. HALUK KİPER

DENEYSEL BÖBREK TRANSPLANTASYONUNDA
E VİTAMİNİNİN, REPERFÜZYON HASARI VE DOKU
LİPİD PEROKSİD DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI.

Dr. Kenan YÜCE

UZMANLIK TEZİ /

ESKİŞEHİR, 1989

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
YÖNTEM VE GEREÇLER	20
BULGULAR	27
TARTIŞMA	42
SONUÇ	57
ÖZET	60
ÖZET (İngilizce)	61
KAYNAKLAR	62

G İ R İ Ő

Transplantasyon ve kanlanmanın geçici olarak durdurulmasının gerektiği cerrahi girişimler nedeniyle organlar iskemik bir dönem geçirirler. İskeminin bu organlarda koşullara bağlı olarak verdiği zarar yanında, asıl hasar iskemi sonunda kanlanmanın yeniden sağlandığı anda başlamakta ve ortaya çıkan serbest radikaller dokuyu harab etmektedir(17,50,85,86).

Doymamış yağ asitlerinden proton ayrılmasıyla ortaya çıkan serbest radikal ara ürünleri serbest oksijenle reaksiyona girerek peroksidikaller ile lipid peroksidleri oluştururlar(68). Lipid peroksidasyonun en fazla oluştuğu yer biyomembranlardır. Bu nedenle sonuğa membran bütünlüğünde bozulmalar ve de subsellüler organellerin membran ile ilgili fonksiyonlarında değişiklikler ortaya çıkar(15,26,30,50,62,71,93).

Özellikle son 15 yıldır, serbest radikallerin oluşturduğu doku hasarının önlenmesine yönelik çalışmalara karşın kliniğe uygulanabilecek kesin tedavi yöntemleri geliştirilememiştir(1,100).

E vitamini, oksijen radikallerinin hücre membran lipidlerine karşı başlattıkları oksidatif reaksiyonu, lipofilik antioksidan etkisiyle önler(90). Ancak E vitamininin bu konudaki etkisi hakkında çok az sayıda çalışma yapılmıştır.

Literatürde, lipid peroksidlerin böbreğin korteks ve medullasındaki dağılımını birlikte araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Bu çalışmanın amacı bu dağılımı belirlemek ve 24 saat soğuk iskemi süresi olan bir böbrek transplantasyonu modelinde E vitamininin böbreği reperfüzyon hasarından koruyup koruyamayacağını saptamaktır.

GENEL BİLGİLER

Kronik böbrek yetmezliği nedeniyle her yıl toplumda milyonda 50-57 kişi ya ölmekte, ya kronik diyaliz programına alınmakta veya bu hastalara böbrek transplantasyonu yapılmaktadır(21).

Kronik diyaliz tedavisi böbreğin kaybolan endokrin fonksiyonlarını yerine koyamayacağı gibi, ekskretuar fonksiyonlarını da tamamen karşılamaz. Yardımcı personele ihtiyaç göstermesi, pahalı olması, belirli aralıklarla makinaya bağlanmak zorunluluğu ve önemli komplikasyonları ve hastaya verdiği maddi ve manevi yük nedeniyle iyi bir tedavi şekli değildir(21,74,112). Fonksiyonlarını yitirmiş hastalıklı böbreklerin yerine sağlam bir böbrek transplantasyonu ile böbrek fonksiyonlarının normale getirilmesi, kronik böbrek yetmezliğinin ideal tedavisidir(15, 21).

Karaciğer, kalp ve hatta akciğer transplantasyonları, terminal organ yetmezliklerinde deneysel olmaktan çıkıp rutin tedavi şekli haline gelmiştir. İmmunolojik engeller aşılıp, problemler çözüldükçe transplantasyonun başarısı artmaktadır. Bu gün transplantasyonun başarısını

sınırlayan, yaygınlaşmasını engelleyen faktörler, organ bulma güçlüğü ve organ koruma-saklama yöntemlerinin yetersiz olmasına bağlı organ kayıplarıdır(21,77).

Böbrek transplantasyonu sonrası sık karşılaşılan komplikasyonlardan birisi akut tübüler nekrozdur ve kadavra donör böbreklerin % 30-60'ında, canlı donör böbreklerinin ise %10-11'inde geliştiği bildirilmiştir(5,21,110,114). Akut böbrek yetmezliği (ABY) mortalitesi yüksek bir komplikasyondur. Etiyolojisi karmaşık olup cerrahi teknik, daha önceden mevcut olan hastalıklar ve preoperatif diyagnostik işlemler gibi bir çok faktörü kapsar. Aorta ya da renal arterin uzun süre klempe edilmesi, kan kaybı, diyabetes mellitus, kronik hipertansiyon, yaş, preoperatif anjiografide kullanılan kontrast maddeler, aminoglikozidler başta olmak üzere antibiyotikler, nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar örnek gösterilebilir(16,120).

ABY'nin klinik gidişi üç evre gösterir(34,48,120):

A-BAŞLANGIÇ EVRESİ: Böbreğin etkenle karşı karşıya olduğu dönemdir. Hastalık basit düzenlemelerle önlenebilir.

B-GELİŞME EVRESİ: Böbrekte anatomik harabiyet ve fonksiyonel kayıp vardır. Bu evrede böbrek fonksiyonlarının dışardan müdahale ile üstlenilmesi gerekir. Basit düzenlemeler böbreği kurtarmak için yeterli değildir.

C-İYİLEŞME EVRESİ: Böbrek fonksiyonlarının düzeldiği haftalar ve aylar süren dönemdir.

İskemik ABY patogenezinin sorumlu faktörleri:

- a) Renal hemodinami,
- b) Nefronal faktörler,
- c) Metabolik ve hücre sel faktörler

başlıkları altında incelemek mümkündür(48).

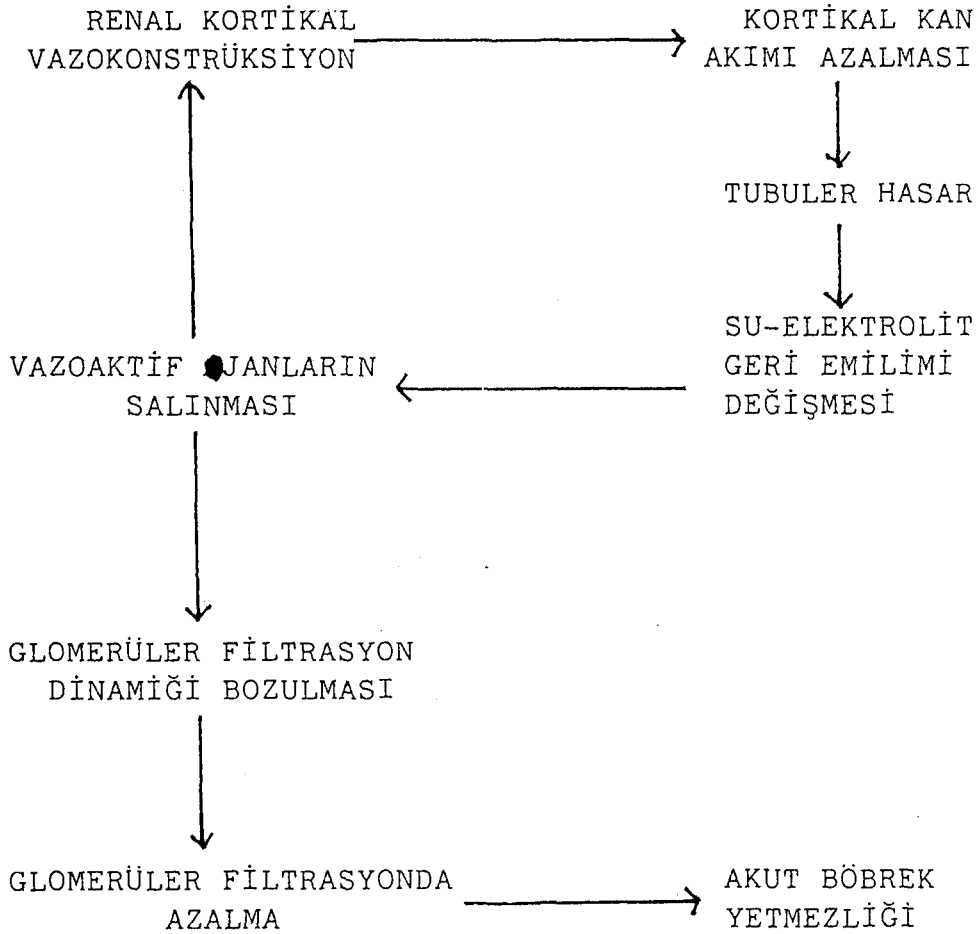
a) Hemodinamik faktörler:

ABY'nin gelişmesi bakımından organizmalar arasında da büyük farklılıklar görülmektedir. Bir hastada renal hipoperfüzyonla birlikte üç dakikalık bir kardiyak arrest ABY'ne neden olabilirken bir başkasında olmayabilir. Nefron seviyesinde de bu bakımdan bir heterojenite söz konusudur. Histolojik olarak tubuler lezyonların yama tarzında olmasının nedeni her bir nefronun hasara karşı değişik duyarlılık göstermesidir(16,19,95). Korteksin oksijenlenmesinin de heterojen olduğu saptanmıştır(11). Kortiko-medüller oksijen gradiyenti medüller damarların organizasyonuna bağlıdır. Vasa rektaların arteriyel ve venöz dalları arasında oksijenin karşı akım difüzyonu söz konusudur. Respirasyon edilen oksijen, medüller oksijen basıncını etkilemez ve böbrekte A-V şant yapar(11). Mitokondrial zincirde elektronları direkt oksijene ulaştıran terminal oksijen taşıyıcısı olan sitokrom a.₃ kullanılarak medüller oksijen basıncı hakkında ileri bilgiler elde edilmektedir. Bu yolla renal arter ve ven kanında pO₂ yüksek olsa bile böbreğin önemli bir kısmının hipoksik olduğunu göstermek mümkündür(11).

İskemi ve hipotansiyona böbreğin ilk cevabının renal kortikal vazokonstriksiyon olduğu ve buna bağlı renal kortikal iskeminin ABY'ne yol açtığı ileri sürülmüştür(11,48,110,120). Ancak renal kortikal vazokonstriksiyonun hem iskemiye, hem de glomerüler filtrasyonu azaltarak böbreğin oksijen ihtiyacını düşürme amacını güden refleks bir savunma olayı olduğu belirtilmiştir(34,110,120). Diğer yandan iskemik periyodu takiben medüllada oluşan hipereminin eritrosit kümelenmesine bağlı olduğu,

böbrek fonksiyonları ile medüller hiperemi arasındaki ilişki nedeniyle ABY'nin etyo-patogenezinde medullanın önemli rol oynadığı gösterilmiştir(81).

İskemi sonrasında total kan akımının çoğu kez iyi bir şekilde korunmasına karşın, medüller kan akımı re-sirkülasyondan hemen sonra ciddi biçimde azalır ve renal medulla kalıcı iskemiden zarar görür(81). İskemik yaralanmada $Na^+ - K^+ - ATP$ -ase azalmasının dış medüllada korteksten daha belirgin olduğu gösterilmiştir(11). Renal hemodinami Şekil 1'de şematize edilmiştir.



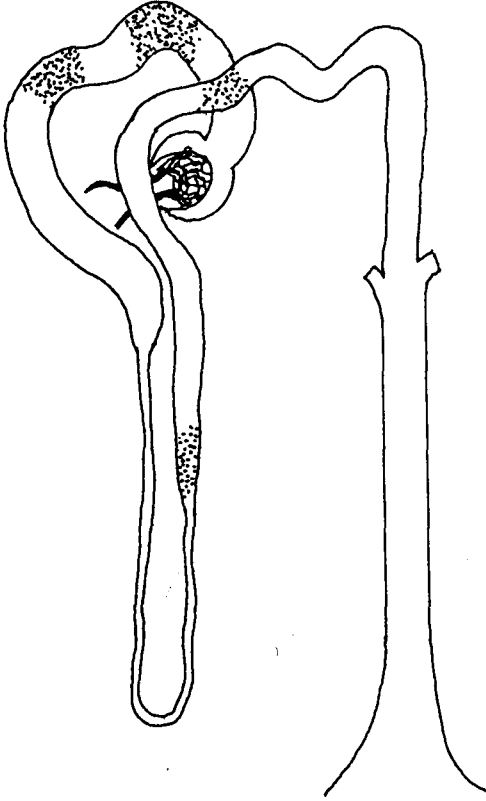
ŞEKİL 1: Akut böbrek yetmezliğinde hemodinami.

Renal hemodinamik patolojilerden sorumlu etkenler olarak renin-anjiotensin sistemi, dolaşımdaki katekolaminler, prostaglandinler , tromboksan A₂(TxA₂) ve adenzin gibi mediyatörler gösterilmiş, birbirleriyle gelişen çalışmalar yayınlanmıştır(10,34,59,61,79,96,120).

b) Nefronal faktörler:

ABY'de konsantrasyon yeteneğinin azalması yalnızca en sabit bulgu değil aynı zamanda en erken bulgudur. Prerenal azotemide, kortikomedüller kan akımı dış medulla'ya yeterli oksijen ulaştıramadığı zaman önce Henle kulpunun medüller kalın assendan kolunda hafif iskemik hasar oluşmakta ve nekroz başlamasıyla birlikte tubuloglomerüler feed-back sistemi de aktive olmaktadır. Bu durumda bile distal ve kollektör tüplerin kısmen korunması nedeniyle Na⁺ reabsorpsiyon yeteneği devam eder ve idrarda fraksiyone Na⁺ itrahi düşük bulunur. Klasik prerenal azotemiyle ABY arasında, idrar osmolalitesinde azalma, poliüri ve hafif derecede renal yetmezlik ile karakterize bir klinik tablo tanımlanmış, prerenal poliürik yetmezlik, parsiyel ATN, gizli böbrek yetmezliği, ara form gibi isimler verilmiştir. Bu durumda furosemid ve/veya mannitollü sıvılar profilaktik değer taşır(11).

İskemi medüller tübül epitel hücrelerinde şişmeye arkasından tübül lümeninin daralmasına ve zamanla nefronların medüller segmentlerinin tamamen tıkanmasına neden olur. Glomerüler ultrafiltrasyon devam ettiği için tıkanmanın proksimalindeki segmentler dilate olur ve basınç filtrasyon durana kadar artar(81). Nefronun iskemik harabiyetten zarar gören bir başka bölgesi, proksimal tubulusun pars rektasıdır(19,48,120). Bu bölgeden nekroze o-



ŞEKİL 2: İskemik akut tübüler nekrozda nefronda nekroz alanlarının dağılımı.

lup lümene dökülen epitel hücrelerinin oluşturduğu tıkaçlar Henle kıvrımında otururlar(11,81).

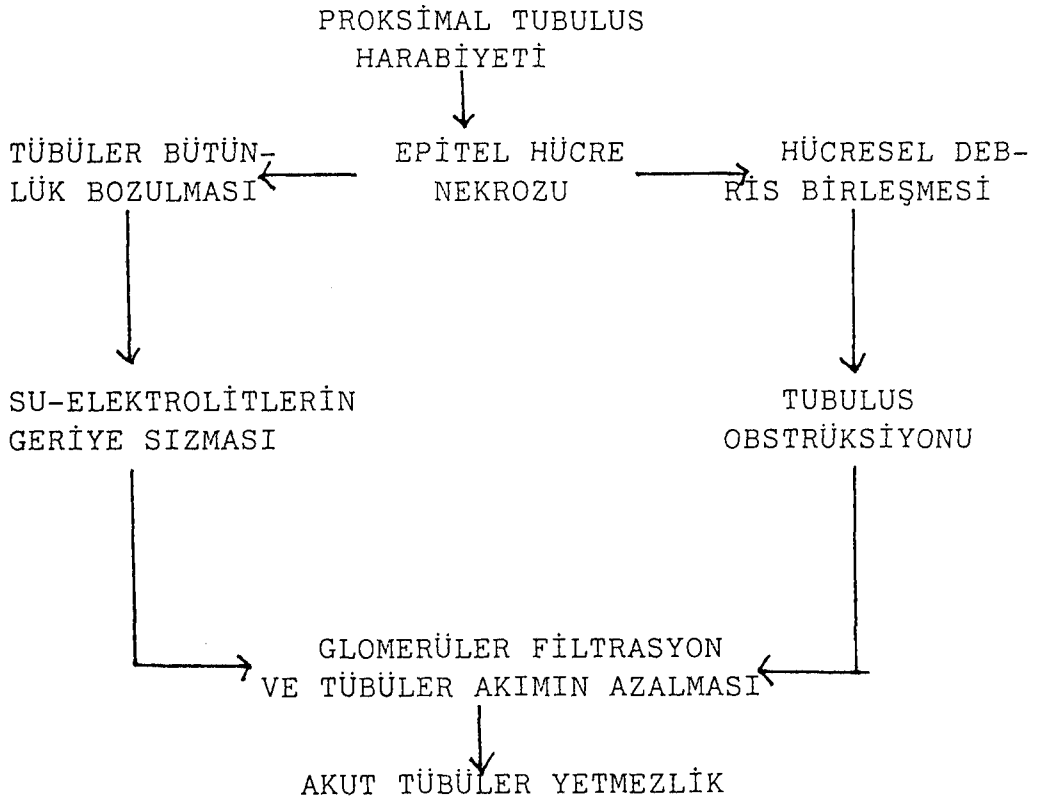
İskemiye bağlı gelişen akut tübüler nekrozda, nefron içinde tubulusları segmental ve fokal olarak tutan nekroz ve bazal membran yırtılması söz konusudur. % 90 olguda histolojik kesitlerde tek hücre nekrozu, küçük nekrotik hücre kümeleri, non- nekrotik kısımlarda tüplerde dilatasyon görülür(11,39,97) Şekil 2.

Distal tüplere ve kolektör tüplere oturan eozinofilik hyalen silendirler, "Tamm-Horsfall" proteini adı

verilen distal tüp ve çıkan

tüp hücrelerince sekrete edilen

spesifik bir üriner glikoprotein, myoglobin ve hemoglobinden oluşur. Ayrıca interstisyel ödem ve dilate vasa rekta içinde PNL grupları da gözlenir(11,81,97). Elektron mikroskopik incelemelerde mikrovillus kaybı, proksimal tübüllerde vakuolizasyon, mitokondrial şişme görülür(97). Şekil 3'de ABY'de nefronal faktörler ve olaylar şematize edilmiştir(34,48).



ŞEKİL 3: ABY'de nefronal olaylar zinciri

c) Metabolik ve hücrel faktörler:

Son yıllarda ABY patogeneğinde metabolik ve hücrel faktörlerin önemini ortaya koyan çalışmalar yapılmıştır. İskemi sırasında hücrel harabiyete yol açtığı ileri sürülen bazı faktörler şunlardır(48,84).

1. Yüksek enerji fosfatlarında azalma,
2. Hücre içine kalsiyum göçü,
3. Hücrenin sentez ve enzimatik fonksiyonunda kayıplar,
4. Membran parçalayıcı süreçlerin aktivasyonu,
5. Endojen membran toksinlerinin ortaya çıkması.

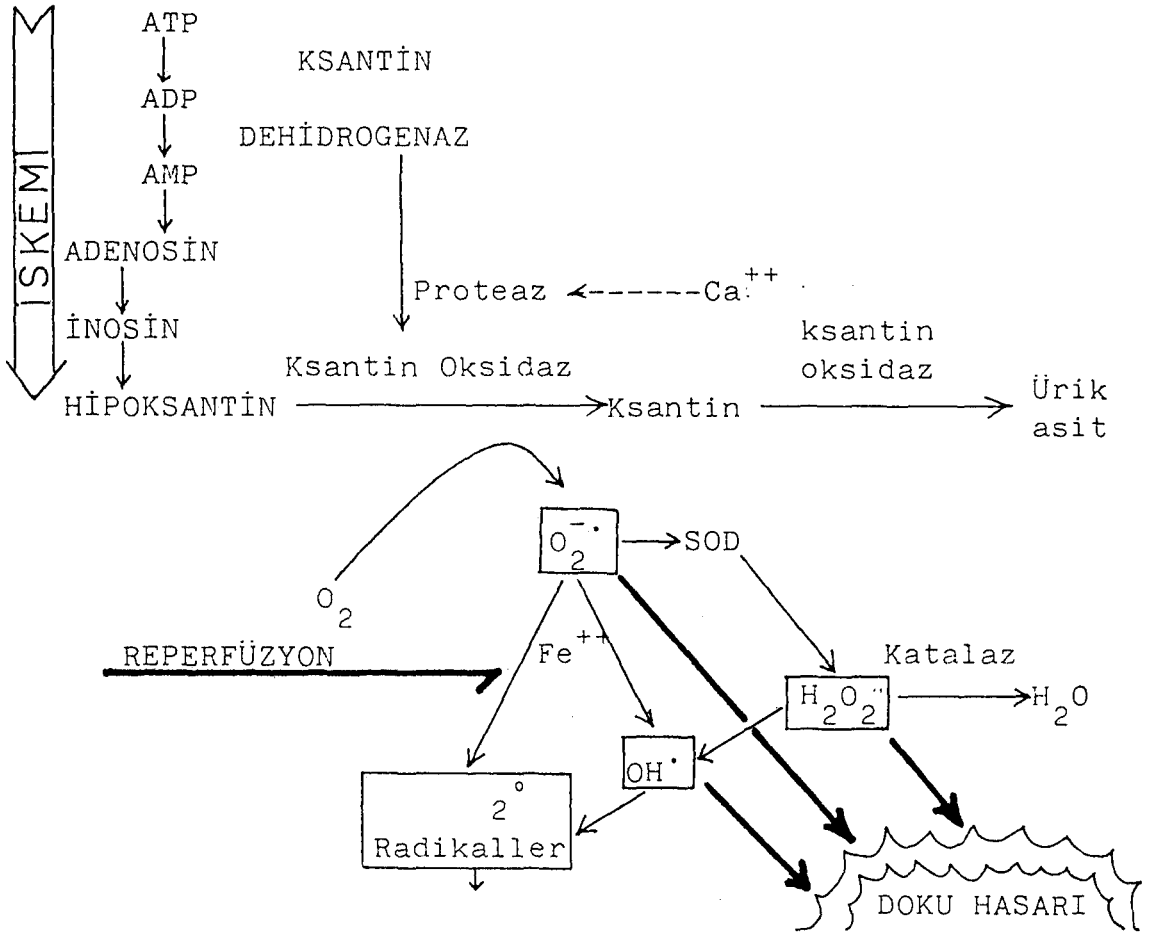
Hücre yaralanmasında önemli rol oynayan metabolik komponent adenin nukleotid sistemidir(120). İskemi ve depolama sırasında doku adenin nukleotid düzeyleri azalır-

ken nukleosid, adenozin ve inozinde ise artışlar meydana gelir. Kalp ve böbrek canlılığını saptamada doku ATP düzeyinin öneminden bahseden araştırmacılara karşılık(66), düşük ATP düzeyinin tespitinin perfüze böbreğin daha sonraki fonksiyonlarının ve prognozunun değerlendirilmesinde fazla önemli olmadığı (65) ileri sürülmüştür. Araştırmacılar iskemik periyoddan sonra dokunun ATP oluşturma yeteneğinin doku canlılığının bir göstergesini oluşturduğunu belirtmişlerdir(68,108).

İskemik böbrek dokusunda kalsiyumun rolü ve kalsiyum antagonistlerinin yararlı etkileri üzerine yapılan çalışmalar sonucu, geçirgenliği bozulan hücre membranlarından geçerek hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artmasının hücre ölümüne neden olduğu sonucuna varılmıştır. Hücre içi kalsiyumun artması, pH değişikliğine, $Na^+ - K^+$ ATP-ase inhibisyonu, intrasellüler proteazların aktivasyonu, oksidatif fosforilasyonda çiftleşmenin bozulması yoluyla harabiyete yol açtığına inanılmaktadır(45,90). Kalsiyum kanal blokörlerinin yararlı etkilerinden bahseden yayınlar vardır. Ancak bunların aynı zamanda güçlü vazodilatatör ajan olmaları nedeniyle çalışmaları sağlıklı değerlendirmek güçtür(20,35,45,120).

ABY'ne yol açan bir diğer hücre sel faktör PGI_2 / TxA_2 sistemidir. Bu sistem glomerüler filtrasyon hızının kontrolü, kan akımının dağılımı ve vasküler tonüsün ayarlanması ile trombosit agregasyonunun önlenmesinde rol oynar. PGI_2 'nin azalması damar endotel hasarı, renal perfüzyonun bozulması ve bir dizi patolojik olayın ortaya çıkmasına neden olduğu halde, TxA_2 inhibitörü verilenlerde bu değişikliklerin olmadığı gösterilmiştir(48,49).

Son yıllarda üzerinde en çok çalışılan konulardan biri de iskemi-reperfüzyon sırasında dokularda meydana gelen serbest oksijen radikalleri ve onların etkileridir(2,30,84). Serbest oksijen radikalleri, oksijen toksisitesi ve fagositozun oluşturduğu inflamasyon ile birlikte ortaya çıkan sellüler hasardan sorumlu tutulmaktadır(5,15,30) Şekil 4.



ŞEKİL 4: Reperfüze edilen iskemik dokuda serbest radikal ürünlerinin ortaya çıkış mekanizması.

1969 yılında McCord ve Fridovich'in endojen bir serbest radikal temizleyicisi olan süperoksit dizmutazı (SOD) bulmaları ile serbest radikale bağlı doku yaralan-

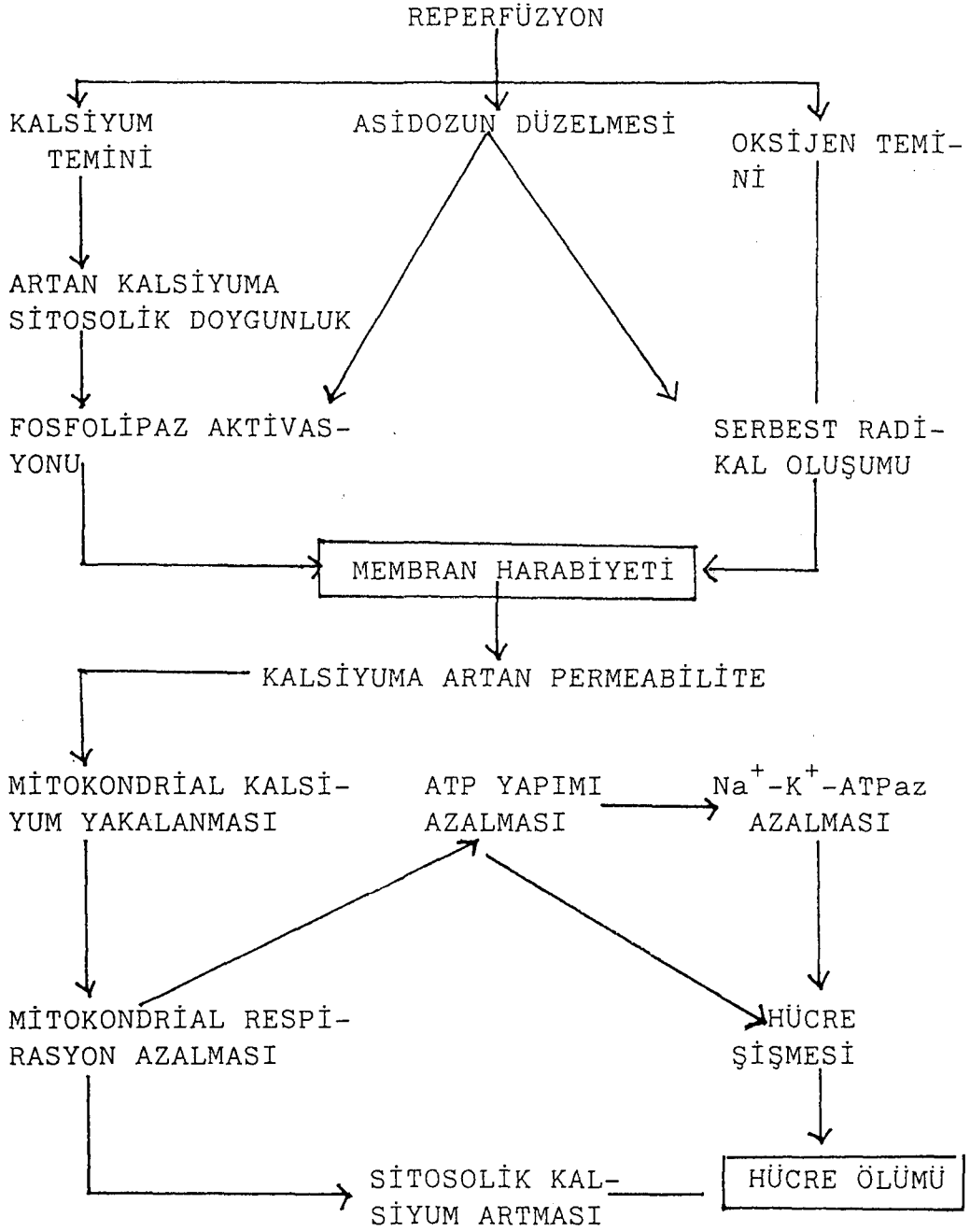
masının anlaşılmasında hızlı bir ilerleme kaydedilmiştir(71).

Ksantin oksidazın iskemiyle aktivasyonu, parankimal dokularda serbest radikal oluşumu için potansiyel bir mekanizmadır. Deneysel iskemi modellerinde (SOD) uygulaması, reperfüzyondan hemen önce yapılırsa hasardan koruyucu etkisi elde edilir. Bu nedenle daha önce iskemik olduğu düşünülen hasarın reperfüzyon sırasında ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır(5,15,71).

Reperfüzyon sırasında hücresel, metabolik faktörlerin hücre yıkımındaki etkilerini Şekil 5'de görüldüğü gibi özetlemek mümkündür(48).

Dokuda adenin nükleotidlerin yıkımına bağlı olarak hipoksantin akümülyasyonu olur. Oksijensiz ortamda hipoksantin, ksantine oksidasyonu gerçekleşmez. Ancak iskeminin başlamasıyla birlikte ksantin dehidrogenaz protealaze olarak hızla ksantin oksidaza dönüşür. Reperfüzyon sırasında ortama birdenbire bol oksijen girdiğinde oksidasyon hızla ilerler ve buna paralel olarak moleküler oksijen azalır. Bu azalmanın sonunda süperoksit radikalleri ortaya çıkar(15,44,71,88).

Süperoksit anyonlarının detoksifikasyonu için endojen bir oksijen radikali temizleyicisi olan SOD'ın etkili olabilmesi için, oksijenasyon ve O_2^- üretiminin olduğu dönemde ortamda bulunması gerektiği, bu durumda etkisinin hızlı olacağı düşünülmektedir. Süperoksit radikallere ait sitotoksitenin, genellikle bir organik demir kompleksi ile katalize edilen hidroksil radikallerinin oluşumundan sonra ortaya çıktığı düşünülmektedir(3, 15,44,71,88).



ŞEKİL 5: Reperfüzyon hasarına bağlı hücre ölümünün şematik özeti.

Yaşlanma süreci, karaciğer nekrozu, hemolitik anemi, beyin iskemisi, karaciğer iskemisi ve iskemik kalp hastalığı gibi birçok patolojik bozuklukta lipid peroksid oluşumu, sellülar hasarın nedeni olarak gösterilmiştir.

tir. Doymamış yağ asitlerinden proton ayrılmasıyla serbest radikal ara ürünleri oluşmakta ve bunlar serbest oksijenle reaksiyona girdiğinde peroksiradikaller ile lipid peroksidlar ortaya çıkmaktadır(68). Membran lipidlerinde poliunsatüre yağ asitlerinin bulunması nedeniyle lipid peroksidasyonunun patolojik sonuçları, membran bütünlüğünde ve membran ile ilgili fonksiyonlarda bozulma şeklinde ortaya çıkar(68).

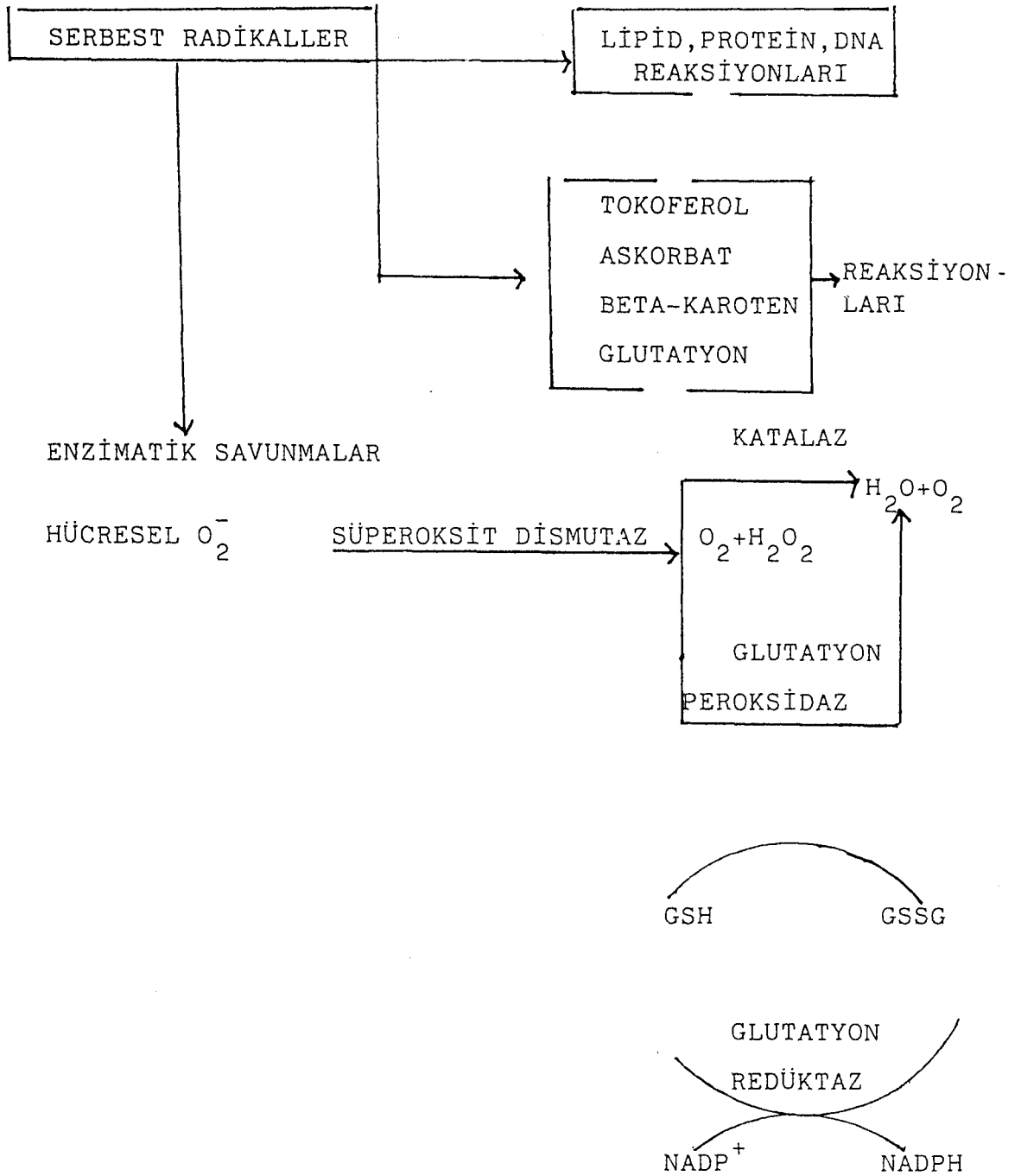
1968 yılında Yagi ve ark.ı tarafından tiyobarbütirik asitin (TBA), Malondialdehit(MDA) ve ilgili kromojenlerle reaksiyon verdiği ilk kez ortaya konmasından sonra insan serumundaki lipoperoksid konsantrasyonlarını ölçebilmek mümkün olmuştur. O zamandan beri bu yöntem myokard iskemisi ve infarktüsü, serebral iskemi ve felç, ateroskleroz, diyabetes mellitus, gebelik ve preeklampsi, multipl skleroz, müsküler distrofi, değişik karaciğer hastalıkları, yanıklar ve paraquat zehirlenmesi gibi bir çok değişik hastalıklarda dolaşımdaki lipoperoksidleri belirlemek için kullanılmaktadır(123).

Radyasyona veya ilaca bağlı doku hasarı da peroksidasyon süreciyle izah edilebilir. Karbontetraklorür gibi ksenobiyotikler hepatosit membranlarında lipid peroksidasyonuna yol açar. Bu durum α -tokoferol ve askorbik asit gibi antioksidanlarla önlenbilir(32,68).

Memeli hücrelerinde, toksik kimyasal maddelere ve hücre metabolizmasının normal oksidatif ürünlerine bağlı zararlı olaylara karşı koruyucu mekanizmaları vardır.

Şekil 6'da bu endojen koruyucu sistemler şematize edilmiştir(50). Bu sistemde yer alan elemanlardan biri olan tokoferol, oksijen radikallerinin hücre membran

lipidlerine karşı oksidatif saldırısını antioksidan etkisiyle korur.



ŞEKİL 6: Serbest radikal savunma mekanizmaları.

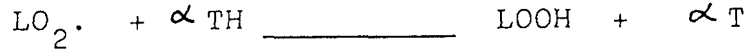
E vitaminin in vivo oluşan serbest radikalleri yakalayarak, onların dokulardaki doymamış lipidlerle meydana getireceği peroksidasyon reaksiyonlarını şu şekilde önlediği sanılmaktadır(41,58,90,93,109).

a) Zincirleme lipid reaksiyonu

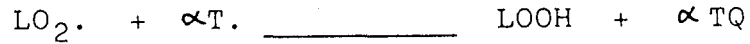


(LH:Lipid)

b) Hidrojen transferi



(TH: alfa-tokoferol)

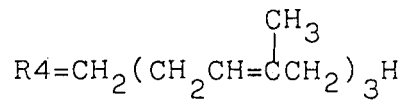
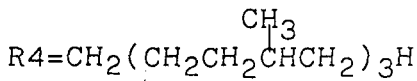
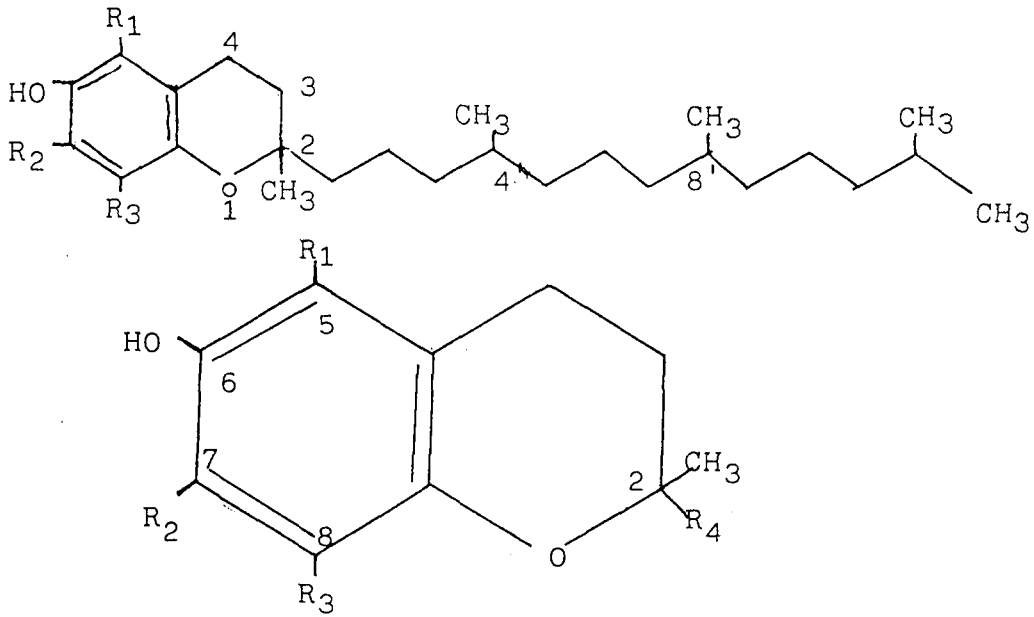


(αTQ : alfa-tokoferolkinon)

1922 yılında Evans ve Bishop tarafından bulunan E vitamini, 1936 yılından buğday tohumundan elde edilmesinden sonra tokoferol adını almıştır(53,93).

Kroman halka yapısında tokoferoller olarak bilinen ve E vitamini aktivitesi gösteren 8 tane tabii madde vardır. Bunların arasında en fazla biyolojik aktivite göstereni tokoferoldür. 6 no'lu karbon atomunda bulunan -OH grubundan dolayı stabil değildir, asetat türevine dönüştürülerek stabil hale getirilir(58,108,109)(Şekil 7).

Moleküler model çalışmaları, E vitamini molekülünün yan zincirinde bulunan 4' ve 8' nolu karbon atomları ile (Şekil 7) zarlara bağlı fosfolipidlerdeki araşidonik asitin stabil bir kompleks teşkil edebileceğini göstermiştir(93).



	R ₁	R ₂	R ₃
α:	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β:	CH ₃	H	CH ₃
γ:	H	CH ₃	CH ₃
δ:	H	H	CH ₃

	R ₁	R ₂	R ₃
ε:	CH ₃	H	H
ζ:	CH ₃	CH ₃	H
η:	H	CH ₃	H
θ:	H	H	CH ₃

Tokoferoller

Tokotrienoller

Biyolojik membranların değişmez lipid komponenti olan E vitamininin yağda çözünebilirlik özelliği, bu vitaminin bilinen en önemli fonksiyonuyla doğrudan ilişkili-

dir(62).Membran lipidlerinin peroksidasyonunda inhibi-tör olarak davrandığı bilinen E vitamini kolesterole benzer şekilde biyolojik membranların komponentlerinin moleküler mobilitesini kısıtlayarak ya da potansiyel olarak toksik olan poliansatüre yağ asitlerini peroksi-dasyondan korurken, hem olmayan demiri içeren protein-lerin oksidasyonunu da önler(24,41,93,116).

E vitamininin yokluğu halinde, membran permeabi-litesinde ve stabilitesinde kontrol edilemeyen değişik-likler olabileceği, bundan dolayı biyolojik membranların oluşturduğu kompartmanlara bölme fonksiyonunun ve kom-partmanlar arası elektrolit dengesinin bozulabileceği öne sürülmüştür(24,62,116). Lucy, lipidlere bağlı ara-şidonik asitle kompleks teşkil ederek zarların yapısına giren E vitamininin fonksiyonlarının şunlar olabilece-ğini belirtmiştir (27,62).

E vitamini: 1. Hücre ve hücre zarlarında bulunan uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin in vivo ve in vitro oksidatif bozulmalarına engel olur, 2. Doymamış yağ asiti, özellikle araşidonik asit içeren zarların ge-çirgenliklerini azaltır,3. Zarlara bağlı fosfolipidle-rin in vitro fosfolipazlar tarafından bozunmasını önler.

Yapılan çalışmalar sonucu E vitamininin ve C vi-tamininin antioksidan etkilerinin olduğu, bu etkinin her ikisi için sinerjistik olduğu,bireysel antioksidan etki-lerinden daha fazla olduğu kanıtlanmıştır(121).

Svingen ve ark. 1 ratlarda, adriamisin vererek oluşturdukları deri nekrozunun tedavisinde DMSO ve E vi-taminini kullanmışlardır. Sistemik uygulamada yararlı bulmadıkları bu maddelerin 2 günlük topikal uygulamayla

ülser çapının kontrol grubuna göre % 68 oranında küçüldüğünü gözlemişlerdir(105).

Yapılan çeşitli araştırmalardan elde edilen bulgular E vitamininin antioksidan etkisini destekler nitelikte olup kısaca aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür (62,93,100):

a) E vitamini eksik yemlerle beslenen hayvan dokularında biyokimyasal ve histolojik metodlarla gösterilebilen lipid peroksitlerinin teşekkülü,

b) Deney hayvanlarında yemlere ilave edilen uzun zincirli doymamış yağ asitleri miktarının arttırılması ile E vitamini gereksinimi arasında paralellik olması,

c) E vitamini noksan yemlerle beslenen hayvanlarda eritrositlerin H_2O_2 ile hemolizlerinin artması,

d) Karbon tetraklorid ve ozonun deney hayvanlarında radikal teşekkülü ile meydana getirdikleri toksik etkilere karşı E vitamininin koruyucu rol oynaması,

e) E vitamini eksikliğinde zarlarda meydana gelen otooksidasyondan, eritrositlerde zarlara bağlı Na^+ - K^+ ATP ase kaslarda ATPase karaciğer mikrozomal oksidaz aktivitelerinin değişmesi, serbest haldeki enzimlerin aktivitelerinin aynı kalması,

f) E vitamini noksanlığında mikrozomlarda meydana gelen peroksidasyon nedeniyle amino asit kullanımının yavaşlaması.

YÖNTEM VE GEREÇLER

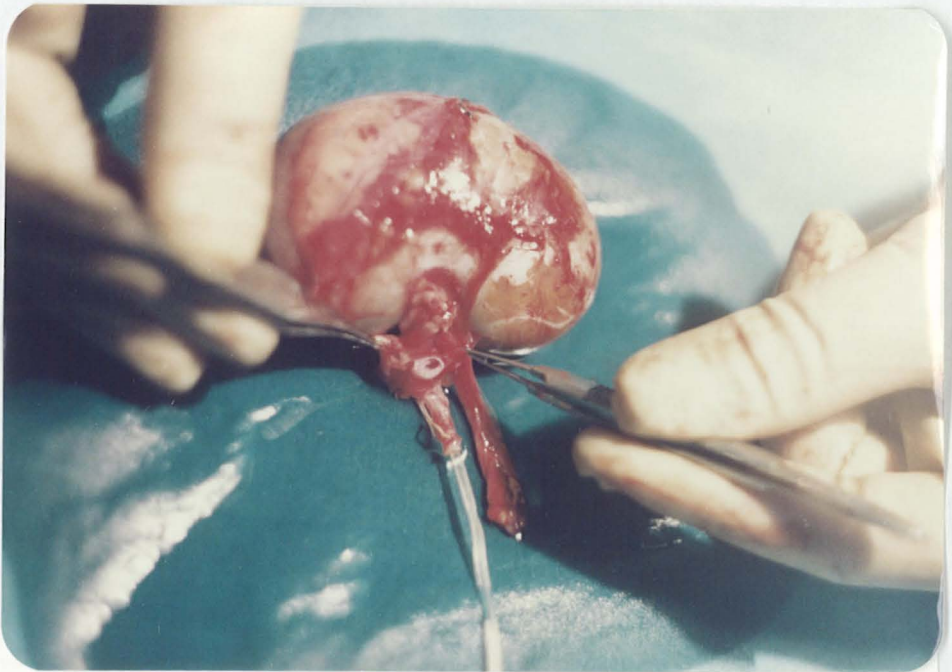
Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı deney laboratuvarında gerçekleştirilen bu çalışmada, Belediye İl Veteriner Müdürlüğünden temin edilen 10 günlük karantina sürelerini doldurmuş, karantina süreleri boyunca aynı tür yiyeceklerle beslenmiş sokak köpekleri kullanıldı. 13-30 kg arasında değişen bu köpeklerde cinsiyet farkı gözlemlenmedi.

Böbrek donörleri olan köpekleri, plasebo verilecek olan kontrol grubu (n:10) ve E vitamini verilecek olan deney grubu(n:11) olmak üzere iki gruba ayırdık. Nefrektomiden 6 gün önce başlanarak, deney grubu donörlerine zeytinyağı içinde eritilerek hazırlanmış 10 mg/kg/gün dl.- α - tocopherol acetate(Vi-Plex,Haver) tek doz halinde İM verildi. Kontrol grubu donörlerine ise 0.1 ml/kg lık dozda steril, rafinerize zeytinyağı İM yapıldı.

5. doz enjeksiyon gününde laboratuara alınan hayvanlar 12 saatlik açlık döneminden sonra 6 mg/kg keta-
min HCl(Ketalar,Parke-Davis) İM verilerek anesteziye edildi. Supin pozisyonunda operasyon masasına yatırılıp steril şartlar altında femoral venlerine katater yerleştirildi. Anestezilerine 2 mg/ml Na thiopenthole(Pentho-
tale,ABBCOTT) içeren serum fizyolojik solüsyonunun ihtiyaca göre kataterden IV drip infüzyonuyla devam edildi.

150 İÜ/kg heparin(Liquemin,Roche) İV yapıldıktan sonra median kesiyle laparotomi yapıldı.

Her iki renal arter, ven ve üreterler disseke edildi. Üreterler böbreklere 10 cm uzaklıktan damarlanması korunarak kesildi. % 20'lik mannitol solüsyonundan 500 mg/kg dozunda 5 dakika sürede verilerek diürezin üreterlerde güzlenmesinden sonra, 45 dakika arayla önce sol, sonra sağ nefrektomi yapıldı. İhmal edilebilecek kadar kısa bir süre sıcak iskemide kalan böbreklerin arterleri kataterize edilerek, oda sıcaklığındaki (13^o-15^oC) laktatlı Ringer solüsyonu 135 cm yükseklikten böbrek ağırlığının her gramı için 3 cc olacak şekilde 15 dakikalık sürede perfüze edildi(Resim 1).



RESİM: 1.- Transplante edilmek üzere donörden alınan böbreklerin, renal arterden verilen "flush" solusyonu ile soğutulması.

Deney grupları şu şekilde belirlendi:

GRUP I (Soğuk iskemi, kontrol grubu) (n:5): Böbrek-ler kontrol grubu donörlerden alındıktan sonra, saklama aşamasına kadar gerekli işlemler (flaşing, perfüzyon vs.) yapıldıktan sonra buzdolabında 0° - $+ 4^{\circ}$ C'de 32 saat süreyle saklandı.

GRUP II (Soğuk iskemi, deney grubu) (n:6): Deney grubu köpeklerden alındıktan ve gerekli işlemlerden geçtikten sonra buzdolabında 0° - $+ 4^{\circ}$ C'de 32 saat süreyle saklanan böbreklerin oluşturduğu gruptur.

GRUP III (1 saat reperfüzyon, kontrol grubu) (n:6): Kontrol grubu köpeklerden alındıktan sonra 24 saat süreyle soğukta saklanan ve transplante edildikten 1 saat sonra nefrektomi yapılan böbreklerden oluşmaktadır.

GRUP IV (1 saat reperfüzyon, deney grubu) (n:6): Deney grubu köpeklerden alındıktan ve 24 saatlik soğuk iskemiye maruz kaldıktan ve transplante edildikten 1 saat sonra nefrektomi yapılan böbreklerden oluşmaktadır.

GRUP V (8 saat reperfüzyon, kontrol grubu) (n:9): Kontrol grubu köpeklerden alındıktan sonra 24 saat süreyle soğukta saklanan ve transplante edildikten 8 saat sonra nefrektomi yapılan böbreklerin oluşturduğu gruptur.

GRUP VI (8 saat reperfüzyon, deney grubu) (n:9): Deney grubu köpeklerden alındıktan sonra 24 saat süreyle soğukta saklanan ve transplante edildikten 8 saat sonra nefrektomi yapılan böbreklerin oluşturduğu gruptur.

Transplantasyon yapılacak alıcı deney hayvanları transplantın 24 saatlik soğuk iskemi süresinin bitimine 2 saat kala, 12 saatlik açlık dönemini takiben laboratuara alındılar. Yukarıda tarif edildiği gibi anestezi-leri yapıp supin pozisyonunda, başı sol tarafa baka-

çak şekilde operasyon masasına tesbit edildiler. Femoral vene katater yerleştirildikten sonra % 0.9 NaCl solüsyonun infüzyonuna 60 cc/kg/gün dozunda başlandı. Bölge temizliğinden sonra gonion mandibuladan başlayan sternuma kadar uzanan kesiyle cilt, ciltaltı geçildi ve böbreğin yerleşebileceği genişlikte flep disseksiyonu yapıldı. V. Jugularis eksterna ve A. karotis kominis bulunup 5-6 cm'lik segmentleri disseke edildikten sonra naylon teyplerle askıya alındı. 24 saatlik soğuk iskemiyi süresini tamamlamış böbrekler damar uçları avive edilerek 7/0 prolenle kontinü sütürlerle anastomoz edildi. Anastomozların tamamlanmasından sonra bulldog klemp-ler açılarak böbreğin kanlanması sağlandı. Böbrek üzerinden ve pedikülünden olan kanamalar kontrol altına alındıktan sonra üreter kataterize edildi. 2 no'lu resim anastomoz gerçekleştirildikten sonra böbreği ve anastomozları göstermektedir.



RESİM: 2.- Böbreğin boyun damarlarına anastomozundan sonraki görünümü.

Böbreğin üzeri daha önce hazırlanmış fleplerle pedikül damarları kıvrılmayacak, katlanmayacak şekilde dolaşımı kontrol edildikten sonra üreter katateri cilt dışına alındı ve katlar kapatıldı. Grup V ve Grup VI deneklerine transplantasyondan sonra laparotomi yapılarak her iki böbrek pedikülü klempe edildi. Bu hayvanlara 60 cc/kg/gün % 0.9' NaCl solüsyonu 8 saat süreyle infüze edildi. Deney sonunda köpekler intrakardiyak pentotal ile öldürüldü.

Deney sürelerinin sonunda nefrektomi yapılır yapılmaz böbreğin longitudinal aksı boyunca yarısı alınarak derhal deepfreze kondu, diğer yarısı histopatolojik tetkik amacıyla % 10'luk formaldehit solüsyonu içinde tespit edildi.

Grup V ve VI hayvanlarından idrar ve eş zamanlı olarak kan örnekleri alındı. İdrar miktarları 2 saatlik stabilizasyon döneminden sonra toplanmaya ve ölçülmeye başlandı. 8. saat idrar örneğinden BUN, kreatinin, sodyum değerleri, tespit edildi. Fraksiyone sodyum ekskresyonu (FE_{Na} %) hesaplandı(91).

Başlıca kullanım yeri akut böbrek yetmezliğinin tanısı olan FE_{Na} % ise aşağıdaki formülle Grup V ve Grup VI'da kullanıldı.

$$FE_{Na} = \frac{U_{Na} \times P_{cr}}{P_{Na} \times U_{cr}} \times 100$$

FE_{Na} : Fraksiyonel sodyum ekskresyonu(%)

U_{Na} : İdrar sodyum miktarı (mEq/l)

P_{cr} : Plazma kreatinin miktarı(% mg)

P_{Na} : Plazma sodyum miktarı (mEq/l)

U_{cr} : İdrar kreatinin miktarı(% mg)

Deepfreez'de saklanmış böbrekler(-20° , -25° C'de saklandı) den LİPİD PEROKSİT düzeyleri şu şekilde çalışıldı(78-124).

Donmuş dokunun korteksinden ve medullasından ayrı ayrı birer gramlık doku parçaları alındı. ULTRA-TURRAX T25 homojenizatöründe, soğuk 0.15 M KCl çözeltisi ile soğuk ortamda homojenize edildi. % 10'luk böbrek homojenatından 0.2 ml alındı, üzerine 0.2 ml % 8.1 lik sodyum dodesil sülfat, 1,5 ml % 20'lik asetik asit (pH:3.5),1.5 ml % 0.8'lik tiyobarbitürik asit ve 0.6 ml distile su ve 5 ml butanol/piridin(15/1) karışımı eklendi. Organik faz homojenize edilerek ayrıldı. Homojenat içermeyen bir ayraç körüne karşı absorbanlar 532 nm dalga boyunda spektrofotometrede okundu. Standart olarak 1.1, 3.3 - tetrametoksipropan kullanıldı. Protein tayini biüret yöntemine göre yapıldı. Doku lipid peroksid tayini,GATA Biyokimya Anabilim Dalı araştırma laboratuvarlarında yapıldı. Sonuçlar nano mol Malondialdehit (MDA)/gr doku proteini olarak verildi.

Formaldehit içinde tesbit edilmiş böbreklerden üçer kesit alınıp parafin bloklar hazırlandı. 6 mikron kalınlığında kesitler yapıлып, hematoksilen eozin ile boyandı ve Ana.Üni.Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında tek bir patolog tarafından kör olarak değerlendirildi.

rildi(Prot.No:1989,11).

Nefrektomi spesmenlerinin histopatolojik ince - lenmesinde konjesyon, hidropik dejenerasyon, epitelyal ayrışma, hyalin silendirler, nüve değişiklikleri(piknoz, karyolizis, karyoreksiz), nekroz kriterlerine göre değerlendirildi.

On büyük büyütme sahasında toplam 10 hücrede piknoz, karyolisiz, karyoreksiz görülmesi halinde hafif (+), 10-50 hücrede görülürse orta(++), 50 den fazla görülmesi halinde ise şiddetli (+++) dereceleri verildi.

On büyük büyütme sahasında toplam 1-5 tubulus epitel hücrelerinde tam,kısmi nekroz hafif (+), 5-10 tubulus epitel hücrelerinde tam veya kısmi nekroz orta (++) , 10'dan fazla tubulus epitel hücrelerinin nekrozu ise şiddetli (+++) olarak derecelendirildi.

Diğer bulgular semi-kantitatif olarak yok, hafif, şiddetli olarak derecelendirildi.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Anadolu Üniversitesi Tıp Fakültesi Bioistatistik Bilim Dalında gerçekleştirildi. Değerlendirmelerde eşleştirilmiş t testi, Varyans analizi, Fisher X^2 analizi kullanıldı (83,115).

B U L G U L A R

İDRAR MİKTARLARI

24 saatlik soğuk iskemi döneminden sonra transplante edilerek 8 saat süreyle perfüzyonu sağlanan GRUP V(8 saat reperfüzyon,kontrol grubu) ve GRUP VI (8 saat reperfüzyon, deney grubu) böbreklerinden 2 saatlik stabilizasyon dönemini takiben 6 saatlik sürede elde edilen idrar miktarlarının istatistiksel karşılaştırılmaları Tablo 1'de verilmiştir.

TABLO: 1.- G V ve G VI da saatlik idrar miktarlarının karşılaştırılması.

GRUPLAR	N	ORTALAMA	S.SAPMA	S.HATA
Grup V	9	11.94	14.14	4.71
Grup VI	9	21.83	23.08	7.69

V. Grupta 4 böbrekten idrar alınamazken, VI. Grupta 3 böbrek anüride kalmıştır. Bu verilerin değerlendirilmesinde her iki grup arasında idrar miktarları açısından fark bulunamamıştır($t:1.13, SD: 16, p > 0.05$ ns.)

İDRAR BUN DEĞERLERİ

Gurup V ve Grup VI böbreklerinden elde edilen idrarların BUN değerleri Tablo II'de verilmiştir.

TABLO II: G V ve G VI da idrar BUN miktarlarının karşılaştırılması.

GRUPLAR	N	ORTALAMA	S.SAPMA	S.HATA
Grup V	5	160	86.89	38.86
Grup VI	6	140	47.33	19.32

Bu verilere göre her iki grup arasında idrar BUN değerleri arasında bir fark bulunamamıştır ($t:0.49$, $SD:9$, $p > 0.05$ n.s).

İDRAR KREATİNİN DEĞERLERİ

Grup V ve Grup VI böbreklerinden elde edilen idrar kreatinin değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo III'de verilmiştir.

TABLO III: G.V ve G VI da idrar kreatinin miktarlarının karşılaştırılması.

GRUPLAR	N	ORTALAMA	S.SAPMA	S.HATA
Grup V	5	17.2	12.38	5.98
Grup VI	6	23.17	24.28	9.91

Bu verilerin değerlendirilmesinde, her iki grup arasında fark olmadığı ortaya çıkmıştır($t: -0.49$, $SD:9$, $p > 0.05_{ns.}$).

İDRAR SODYUM DEğERLERİ

Grup V ve Grup VI böbreklerinden elde edilen idrarların sodyum değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo IV'de verilmiştir.

TABLO IV: G V ve G VI da idrar sodyum miktarlarının karşılaştırılması.

GRUPLAR	N	ORTALAMA	S.SAPMA	S.HATA
Grup V	5	129.2	19.71	8.8
Grup VI	6	79.4	59.67	26.68

Bu verilerin değerlendirilmesinde her iki grup arasında fark olmadığı görülmektedir($t:1.98$, $SD:8$, $p > 0.1_{ns.}$).

İDRAR POTASYUM DEğERLERİ

Grup V ve grup VI böbreklerinden elde edilen idrarların potasyum değerlerinin istatistiksel karşılaştırılması Tablo V'de verilmiştir.

TABLO V: G V ve G VI da idrar potasyum miktarlarının karşılaştırılması.

GRUPLAR	N	ORTALAMA	S.SAPMA	S.HATA
Grup V	5	13.54	6.78	3.03
Grup VI	6	21.67	9.23	3.77

Bu verilere göre her iki grup arasında idrar potasyum değerleri arasında bir fark bulunamamıştır (t:1.65 SD:9, $p > 0.05$ n.s.)

FRAKSİYONEL SODYUM EKSKRESYONU (FE_{Na} %)

Grup V ve Grup VI böbreklerinin hesaplanan fraksiyone sodyum ekskresyon oranlarının istatistiksel karşılaştırılması Tablo VI'da verilmiştir.

TABLO VI: G V ve G VI da fraksiyonel sodyum ekskresyonu değerlerinin karşılaştırılması.

GRUPLAR	N	ORTALAMA	S.SAPMA	S.HATA
Grup V	5	18.05	10.73	4.8
Grup VI	6	8.56	1.99	0.8

Bu verilerin değerlendirilmesinde gruplar arasında önemli derecede (t: -2.67, SD:9, $p < 0.05$ *) farklılık olduğu görülmüştür.

BÖBREK DOKU LİPİD PEROKSİD MİKTARLARI

6 grup olarak ayrılan böbreklerin hepsinin korteks ve medullalarından alınan doku örneklerinden lipid peroksid düzeyleri ölçüldü. Tablo VII ve VIII'de soğuk iskemi, 1 saat perfüzyon ve 6 saat perfüzyon gruplarını oluşturan deney ve kontrol böbreklerinin korteks ve medullaları arasındaki lipid peroksid düzeylerinin istatistiksel değerlendirilmeleri verilmiştir.

Bu değerlendirilmeler sonunda tüm gruplarda böbreklerin korteksleri ve medullaları arasında lipid peroksid oluşumunun miktarları açısından bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır.

Tablo IX'da tüm grupların böbreklerinin korteksleri arasındaki varyans analizi verilmiştir. Bu analizin ışığında yapılan grafik çalışmada (Grafik I) görüldüğü gibi soğuk iskemi grubunun E vitamini verilen deney grubunda lipid peroksid düzeyinin yüksek olduğu görülmektedir.

Tablo X'da tüm grupların böbreklerinin medullaları arasındaki varyans analizi verilmiştir. Bu analize göre yapılan grafik (Grafik II) de görüldüğü gibi gruplar arasında herhangi bir farklılık yoktur. Ortaya çıkan farklılıklar tesadüfidir ve anlamsızdır.

	SOĞUK İSKEMİ		1 SAAT REPERFÜZYON		8 SAAT REPERFÜZYON	
	Korteks	Medülla	Korteks	Medülla	Korteks	Medülla
	(n:5)	(n:5)	(n:6)	(n:6)	(n:9)	(n:9)
ORTALAMA *	473	381	625	859	1156	998
S.SAPMA	335	531	428	533	334	483
S. HATA	150	237	175	218	111	161
	t:0.33		t:-0.84		t:0.81	
	SD: 8		SD: 10		SD: 16	
	p > 0.05 n.s.		p > 0.05 n.s.		p > 0.05 n.s.	

* : nanomol MDA/gr protein

TABLO: VII. Kontrol grubu böbreklerin korteks ve medülla lipid peroksit değerlerinin karşılaştırılması.

	SOĞUK İSKEMİ		1 SAAT REPERFÜZYON		8 SAAT REPERFÜZYON	
	Korteks (n:6)	Medulla (n:6)	Korteks (n:6)	Medulla (n:6)	Korteks (n:9)	Medulla (n:9)
ORTALAMA *	1266	1256	658	1150	1156	998
S.SAPMA	725	682	302	651	433	350
S. HATA	296	278	123	266	144	117
	t: 0.02		t: -1,68		t: -0.86	
	SD: 10		SD: 10		SD: 16	
	p > 0.05 n.s.		p > 0.05 n.s.		p > 0.05 n.s.	

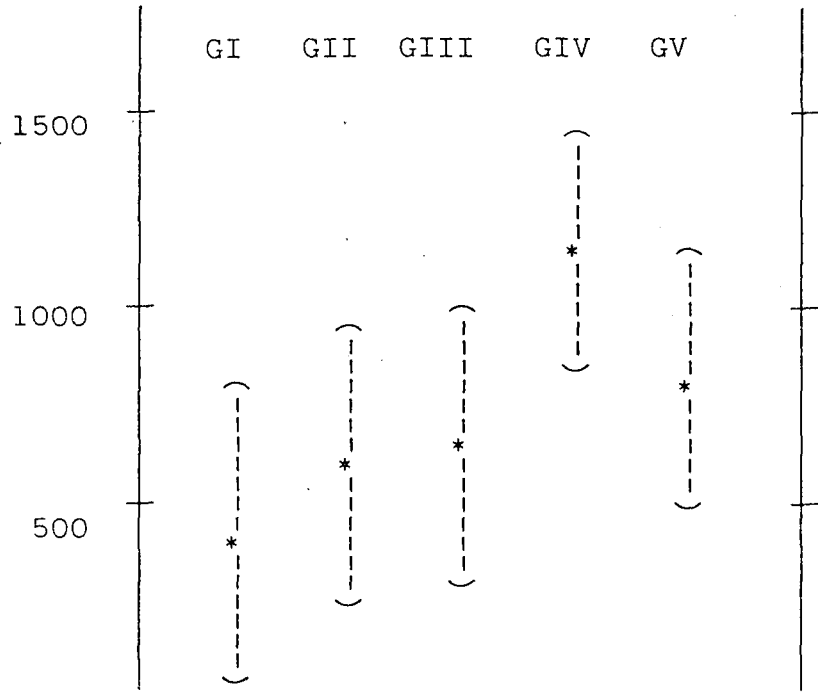
*: nano mol MDA/ gr protein

TABLO: VIII. Deney grubu böbreklerin korteks ve medulla lipid peroksit değerlerinin karşılaştırılması.

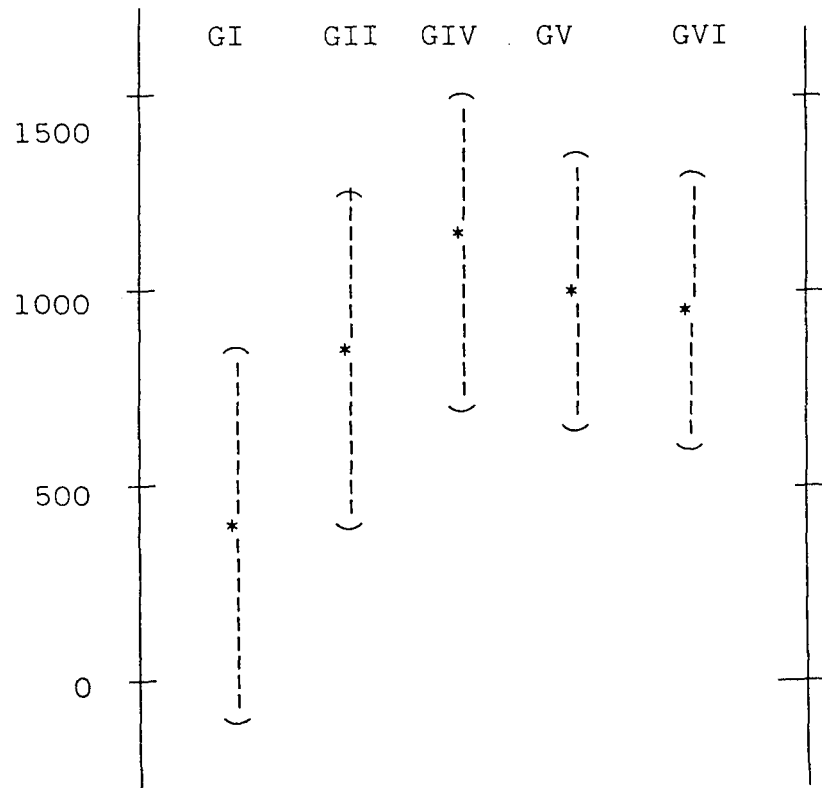
Tablo IX ve X'da bütün grupların kortekslerarası ve medüllalararası varyans analizi verilmiştir. Bu tablolarda görülebileceği gibi 0. saat soğuk iskemide kalmış böbrek korteks lipid peroksid ortalama değeri, 473 ± 335 nmol MDA/gr protein, 0. saat soğuk iskemide kalmış böbrek medülla ortalama lipid peroksid değeri 381 ± 531 nmol MDA/ gr protein olarak bulunmuştur. E vitamini uygulanmış ve soğuk iskemiye maruz kalmış II. grup böbreklerinde çok yüksek lipid peroksid değerleri alınmış, histopatolojik incelemede bu grup böbreklerin üçünde yaygın piyelonefrit saptanmıştır. Bu nedenle bu grup, tablolardan ve grafikten çıkarılmıştır.

TABLO IX : Deney gruplarının kortekslerarası doku lipid peroksid düzeylerinin varyans analizi.

GRUPLAR	N	ORT.LİPİD PEROKSİD DÜZEYİ (nanamol MDA/gr protein)	ST.SAPMA
GRUP I	5	473.0	335.3
GRUP III	6	625.0	428.4
GRUP IV	6	657.7	302.4
GRUP V	9	1156.3	333.8
GRUP VI	9	805.0	433.0



GRAFİK: 1. Korteks lipid peroksit düzeyleri



GRAFİK: 2. medulla lipid peroksit düzeyleri

TABLO X: Deney gruplarının medüllaları arası doku lipid peroksid düzeylerinin varyans analizi.

GRUPLAR	N	ORT.LİPİD PEROKSİD DÜZEYİ (nanomol MDA/gr protein)	ST.SAPMA
GRUP I	5	380.8	530.8
GRUP III	6	859.3	533.1
GRUP IV	6	1150.0	650.8
GRUP V	9	997.6	483.3
GRUP VI	9	964.2	349.5

Deneylerin sonunda alınan böbreklerin makroskopik incelenmesinde, böbrekler hafif ve orta derecelerde şiş, kesit yüzeylerinde ise korteksler soluk, medullaların hiperemik olduğu görüldü.

Mikroskopik değerlendirme sonuçları ve istatistiksel değerlendirmeleri Tablo XI, XII ve XIII'de verilmiştir.

TABLO XI: Grup I ve Grup II böbreklerinin incelenmesi.

Tubulus epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon

	Grup I	Grup II
YOK	-	-
HAFİF	2	4
ORTA	3	4
ŞİDDETLİ	-	-

$p > 0.05$ n.s.

Bu grup böbreklerinde görülen ödem daha çok medüllaya lokalizeydi. II. grup böbreklerinden ikisinde şiddetli piyelonefrit, ikisinde de orta derecede piyelonefrit saptandı. Bu nedenle çalışmadan çıkarıldı.

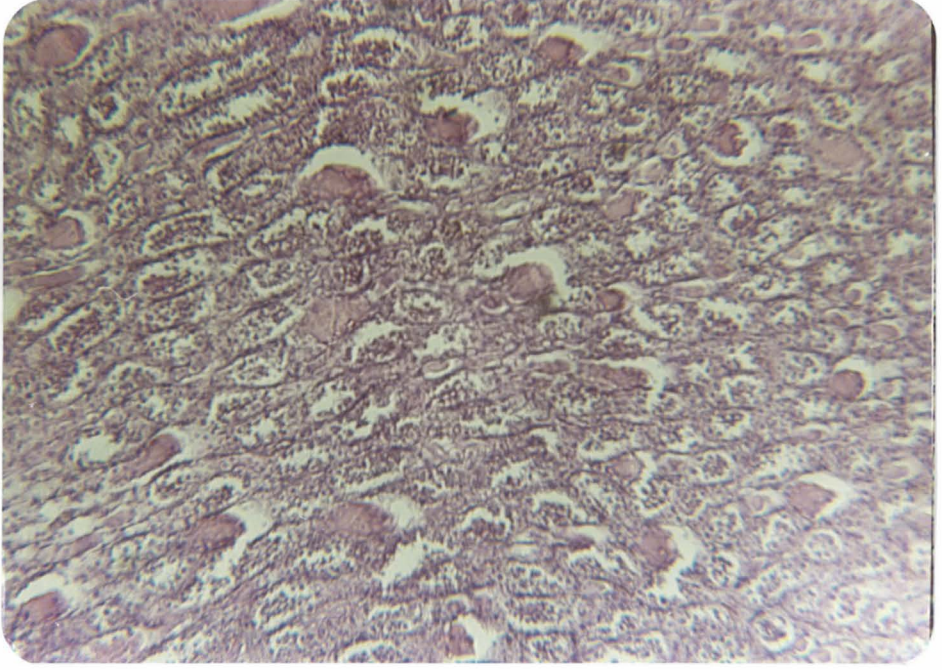
III. ve IV. Gruba ait böbrek kesitlerinde izlenen histopatolojik bulgular benzer olup bunlar:

- Daha çok medullada belirgin olan konjesyon,
- Proksimal ve distal tubulus epitellerinde daha belirgin olan hidropik dejenerasyon,
- Proksimal tubulusların düz segmentlerinde daha belirgin epitelyal ayrışma,
- Distal ve toplayıcı tubuluslarda izlenen hyalin silindirler,
- Proksimal tubulusun kıvrımlı segmentinde ve distal tubuluslarda da izlenebilen nekrobiyotik değişiklikler(karyolizis, karyoreksiz, piknozis),
- IV. grupta iki böbrekte proksimal tubulusların düz kısmında yama şeklinde, hafif olarak derecelendirilen fokal epitel nekrozu dikkati çekmiştir(Tablo XI I).

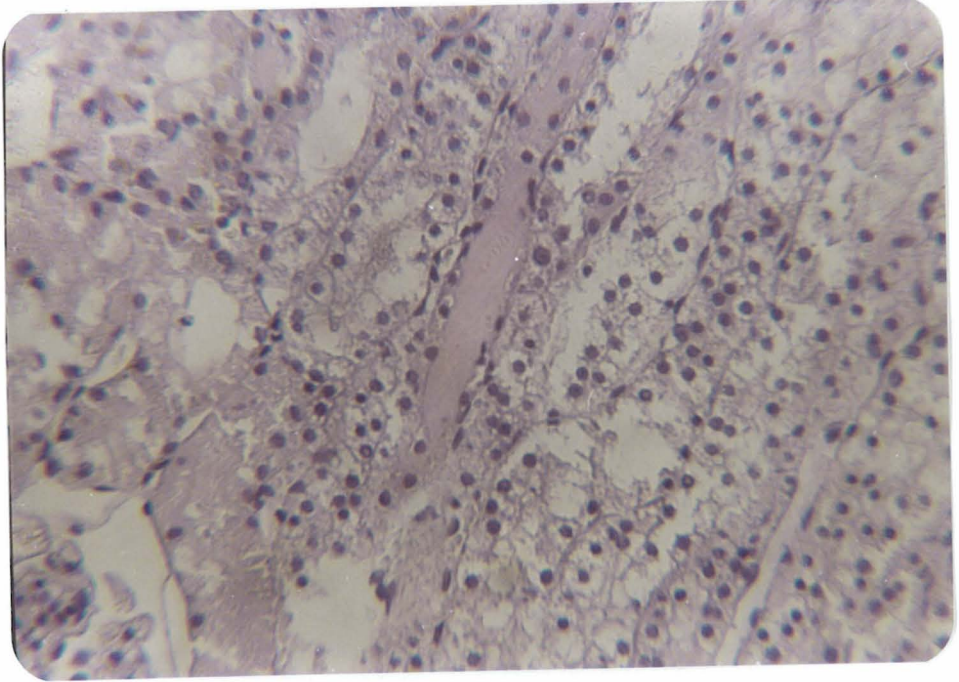
III. ve IV grupta izlenen histopatolojik bulguların incelenmesinde istatistiksel olarak önemli derecede farklılık tesbit edilememiştir.

V.ve VI. grup böbreklerinde izlenen histopatolojik bulgular da birbirine benzer görünümündedir. Bu değişiklikler III. ve IV. grupta görülen değişikliklere benzemekle birlikte daha şiddetlidir. Ayrıca nekroz bu grubun hemen tüm üyelerinde görülen bir bulgu olmuştur(Tablo XII I), (Resim 3,4,5).

Bu bulgulara ilaveten VI. grubun iki üyesinde glomerüllerin bir kısmında 6'dan fazla polimorf nüveli lökosit infiltrasyonu, yine aynı grubun iki üyesinde bazı alanlarda ve bazı glomerüllerin kapiller ağında fibrinoid nekroz dikkati çekmiştir.



RESİM: III.- V. Grup böbreklerinde tubuluslarda
gözlenen proteinöz materyal.(H.E. X 64



RESİM: IV.- V. Grup böbreklerinde gözlenen tubu-
lus epitellerinde hidropik dejeneras-
yon,epitelyal ayrılma, fokal epitelyal
nekroz gözlenmektedir.(H.E. X 124

T A R T I Ő M A

Böbrek transplantasyonunda vasküler anastomoz teknikleri iyi standardize edildiğinden başarı oranı gittikçe yükselmekte, tekniğe ait komplikasyonlara nadir rastlanmaktadır(22). Ancak transplantasyonlara özgü sayılabilecek reperfüzyon olayının iskeminin kendisinden çok daha fazla hasara yol açtığı özellikle son 10 yılda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur(4,15,89). Daha uzun süreli saklama tekniklerinin geliştirilmesi çalışmalarına reperfüzyon hasarını önlemeyi amaçlayan çalışmalar eklenmiştir. Bu maksatla Allopurinol(4,26, 77,106), ATP-MgCl₂(33,63,101), Koenzim Q₁₀(67,108), Askorbik asit(37), DMSO(51,55), E vitamini(68,107), Glutasyon(37,90), Katalaz(56,57), SOD(5, 57), Verapamil(35, 91) gibi ajanlar kullanılmıştır.

Bu ajanlar arasında E vitamininin temel komponenti olan α -tokoferol ve bazen de sentetik derivesi olan α - tokoferol asetat klinikte sterilite, kaslar distrofi, kardiyak vasküler bozukluklar, fotosensitizasyon eriteması, anemi tedavisinde kullanılmakta ve yanıkta immüniteyi uyardığı için önerilmektedir(40,105, 116).

Tokoferol molekülü 6 numaralı karbon atomunda bulunan -OH grubundan dolayı stabil olmayıp asetat türevine dönüştürülerek stabil hale getirilir(41,58,93,109). Çalışmamızda 1 miligramı, 1 milletlerarası üniteye eşit olan dl- α - tokoferol asetat kullandık.

Yağda eriyen E vitamini sıvı yağların hepsinde çeşitli oranlarda bulunmaktadır. En az miktarda sıvı zeytinyağında bulunduğu(82) için(0.6-3.0 mg/100 gr) plasebo grubuna yapılan IM zeytinyağı enjeksiyonları ile deney hayvanlarına ihmal edilebilecek kadar az miktarda E vitamini verilmiş olmaktadır.

Takenaka ve ark. böbrek iskemisi yapacakları ratlara 2 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarında E vitamini uygulamışlardır. Deney hayvanlarını, operasyondan 1 saat önce tek doz 10 mg/kg, operasyondan 3 ve 7 gün önce başlanarak 2 ve 10 mg/kg/gün dozlarında enjeksiyonlar yaparak hazırlamışlardır. Değişik sürelerde sıcak iskemi uyguladıkları deneklerden E vitamini alan ve 120 dakika iskemide kalan grupta yaşama oranını % 46.7 oranında yüksek bulmuşlardır(107).

Marubayashi ve ark. deneysel hepatik iskemi modellerinde 3 gün süreyle tek doz 10 mg/kg α -tokoferol uyguladıkları ratları kullanmışlardır. 1 günlük doz uygulaması sürvi oranında, karaciğer ve mitokondri E vitamini düzeylerinde bir değişiklik yapmazken, 3 günlük uygulama ile yaşama oranındaki artış % 45.5 olmuştur(68).

Yasunaga ve ark. optimal E vitamini dozlarını saptamak için yaptıkları çalışmalarında, farelere ip. olarak değişik dozlarda E vitamini enjekte etmişler, sonuçta 5-20 mg(İÜ)/kg/gün dozlarının optimal doz olduğunu bildirmişlerdir(125).

Bu literatür bilgileri ışığında 5 gün süreyle, 10 mg/kg/ gün dozda dl- α - tokoferol uygulamasının deney modelimiz için uygun bir doz ve süre olduğunu düşündük.

Deneysel çalışma modellerinde iskemik atak öncesi mannitol verilmesinin yararını tartışan pek çok çalışma vardır(20,36,44,54,107).

Pentlow ve ark. köpeklerde yaptıkları transplantasyon modellerinde iskemiden önce uygulanan 500 mg/kg dozundaki mannitolün yararlı olduğunu göstermişlerdir. Renal vasküler direnci azalttığını, renal kan akımını arttırdığını, bu nedenle böbreğin flushing solüsyonlarıyla daha iyi perfüze olduğunu belirten araştırmacılar, mannitolün osmotik diüretik olması nedeniyle tübüler artıkları temizlediğini, bu nedenlerden dolayı yararlı olabileceğini bildirmişlerdir(92).

Koyama ve ark. domuzlarda yaptıkları böbrek preservasyonu ve transplantasyonuna dayalı deney modellerinde donör hayvanlara iskemiden önce, mannitol(12.5gr), furosemid(20 mg) ve heparin(5000 ü) uygulamışlar ve amaçlarının klinik pratiği tatbik etmek olduğunu bildirmişlerdir(54). Hoshino ve ark. domuzlarda yaptıkları benzer çalışmalarında da aynı şekilde ve aynı amaçla mannitol, furosemid ve heparin kullanmışlardır(44).

Green ve ark.nın normotermik iskemideki tavşan böbreklerinin farmakolojik ajanlarla korunmasına yönelik çalışmaları, iskemiden önce mannitol verilmesinin yararlı olduğunu göstermektedir. Bu yararlı etkinin kan akımının yeniden sağlanmasından sonraki ilk 1 saat içinde belirgin olduğu belirtilmektedir. Aynı araştırmacılar iskemiden sonra verilen çok yüksek dozdaki(2.5 gr/kg) men-

nitolün renal hasarı azaltmadığını göstermişlerdir. Furosemid de sadece iskemiden önce kullanıldığında etkili olmuştur(36).

Deney modelimizde yukarıdaki araştırmacıların deney modilini aynı amaçlarla kullandık ve nefrektomi öncesi 500 mg/kg dozunda mannitolü diürezin ortaya çıkışını kontrol ederek deney hayvanlarına infüze ettik. Aynı araştırmacıların kullandıkları heparini 5000 ü. şeklinde sabit bir dozda değil, 150 Ü/kg olarak vücut ağırlığına göre hayvanlara uyguladık.

Bütün transplantasyon modellerinde olduğu gibi böbrek transplantasyonlarında da organın içerisinden soğutulmuş solüsyonlar geçirilerek " flaşe" edilmesi bir zorunluluktur. Böylece damar yatağındaki kanın uzaklaştırılması ve trombozların önlenmesinin yanı sıra organın tamamını eşit bir şekilde, kısa sürede soğutmak mümkün olmaktadır(46,122).

Green ve ark. tavşanlarda yaptıkları bir ototransplantasyon çalışmasında nefrektomi yapıldıktan sonra, renal artere konan bir katater yoluyla 2°C'deki, 30 cc hipertonic sitrat veya % 0.9 NaCl solüsyonuyla böbrekleri flaşe etmişlerdir. Daha sonra böbrekler 0°C'de eş solüsyon içinde saklanmıştı(36). Bu çalışmada izotonik tuz solüsyonu ile perfüzyon tavşan böbreğinde hasara yol açtığı halde, hipertonic sitrat solüsyonunun mükemmel bir koruyuculuk sağladığı gösterilmiştir. Bu ve buna benzer çalışmada çeşitli solüsyonlar kullanılmakta ve karşılaştırılmaları yapılmaktadır. Ancak tüm çalışmalardaki ortak görüş, izoosmotik sıvıların hücre şişmesine neden olması nedeniyle fonksiyon bozukluğuna yol açtığı yolundadır(9,23,28,29,43,65,74,111,119). Çalışmamızda flaşing

solüsyonu olarak Ringer laktat kullandık. Bu nedenle böbreklerin patolojik değerlendirilmesinde bir miktar hücre şişmesinin ortaya çıkması kaçınılmaz bir sonuçtur.

Jacobsen ve ark. tavşanlarda yaptıkları çalışmalarında hızlı soğutulan böbreklerde renal kortikal nekroz geliştiğini ve renal fonksiyonların daha bozuk olduğunu gözlemişlerdir(46). Bu nedenle biz çalışmamızda böbrekleri iki aşamada soğuttuk. Bunun için oda sıcaklığındaki (13 °C-15 °C) Ringer laktat solüsyonunu böbreklerden 15 dakika süreyle geçirdikten sonra, böbrekleri 0 °C-4 °C'deki saklama solüsyonu içine koyduk.

Transplantasyon modellerinde 24 saatlik soğuk iskemi süresi sık kullanılan uygun bir süredir(9,103). Bu nedenle deney modelimizde bu süreyi seçtik. Yapılan çalışmalar, soğuk iskemi süresinin hasarda rolünün az olduğunu, yani bir hasar olmuşsa bunun erken meydana geldiğini göstermiştir(17,104).

Deneyde kullanılan böbreklerin aynı fizik şartlara maruz kalmasını sağlamak amacıyla bütün böbrekleri eşit basınçla perfüze etmek için, perfüzyon sıvılarını 135 cm yükseğe astık. Bishop ve ark. ratlarda böbrek perfüzyonu ile ilgili yaptıkları bir çalışmalarında böbrekleri 130 cm yükseğe asılmış solüsyonla perfüze etmişlerdir(9).

Klinik ve deneysel organ transplantasyonları, organın yerleştirildiği yere göre " ortotopik" veya " heterotopik" olarak gerçekleştirilir. Deneysel ve klinik böbrek transplantasyonları için iliyak damarlara anastomoz tercih edilen bölgedir(44,112).Renal korunmanın değerlendirilmesine yönelik deneysel çalışmalar, kısa süreli servikal transplantasyonun faydalı ve güvenilir olduğunu göstermektedir(38,99). Biz de deney süremizin kı-

salığı nedeniyle böbreği boyun damarlarına transplante etmeyi uygun bulduk.

Sekiz saat reperfüzyonu sağlanan Grup V ve Grup VI böbreklerinin fonksiyonel kapasitelerini tayin için çalışmalar yapıldı. Bu grupların idrar miktarlarının incelenmesinden kontrol grubunda (Grup V) ortalama idrar miktarı 11.94 ± 14.14 ml/6 saat iken E vitamini uygulanmış deneklerin böbreklerinin oluşturduğu grupta (Grup VI) ortalama idrar miktarı 21.88 ± 23.08 ml/6 saat olmuştur. Kontrol grubunda 4 böbrekten hiç idrar elde edilemezken, deney grubunda 3 böbrekten idrar alınamamıştır. Gruplar arasında idrar miktarları açısından fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Proctor ve ark. nın deneysel böbrek prezervasyonu ve transplantasyonu çalışmalarında, anastomozdan hemen sonra bir miktar idrar akımı görmüşler, saatler içinde idrar akımının azaldığını izlemişlerdir. Aynı araştırmacılar çalışmalarında idrar akımının 6. saatten başlayarak artıp stabilleştiğini 48. saatte maksimum düzeyine ulaştığını bildirmişlerdir(94).

Deneklerimizin idrar miktarlarının ortalama değerleri gözönüne alındığında her iki grup arasında önemli farklılık gözükmesine karşın, istatistiksel olarak anlamsız sonuç çıkması Proctor ve ark. nın da değindiği gibi idrar akımının stabilleşmesinin 6.saatten itibaren başlaması ve bizim deney süremizin 8. saatte sona ermesinden kaynaklanmaktadır.

İdrar BUN değerlerinin incelenmesinde, V. grup deney böbreklerinin ortalama idrar BUN değeri 160 ± 86.89 mg/dl iken VI. grupta bu değer 140 ± 47.33 mg/dl'dir. Gruplar arasında fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

İdrar kreatinin değerlerinin V. grup böbreklerde ortalama 17.2 ± 12.38 mg/dl, VI. grup böbreklerde ise 23.17 ± 24.28 mg/dl olduğu görülmüş, istatistiksel değerlendirmede gruplar arasında görülen farkın önemli olmadığı ortaya çıkmıştır ($p > 0.05$). Ortalama değerleri - ne bakıldığında her iki grupta da kreatinin değerleri - nin düşük olduğu, bu değerlerin kontrol grubunda daha da düşük olduğu görülmektedir.

İdrar/plazma kreatinin oranının 20'nin altında olmasının akut tübüler nekrozun bir göstergesi olduğu bildirilmiştir(48). İskemik akut böbrek yetmezliği profilaksisinde kullanılan DMSO ve Allopurinol kreatinin itrahının yeterli olmasını ve akut tübüler nekrozun gelişmesini önlerken, Dimetiltiyöre (DMTU) ve katalaz benzer deney modellerinde idrar kreatininini üzerine etkili olmadığı bulunmuştur(34,48,84).

İdrar ortalama sodyum değerlerinin incelenmesinde V. grup 129.2 ± 19.71 mEq/L, VI. grupta ise 79.4 ± 59.67 mEq/L bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirmede $t = 1.98$ $p > 0.1$ olduğu görülmüştür.

İdrar sodyum itrahi, nefronun filtre edilen Na yükünü tutabilme yeteneğini yansıtır. Renal hipoperfüzyonda, tübül fonksiyonu yerindeyse, proksimal ve distal reabsorbsiyon sonucu böbrek sodyumu tutar(20). Bu durum klinikte prerenal, renal azotemi ayırımında önemlidir. Böbrek cevabı iyiye idrar sodyum düzeyi genellikle düşük olur(< 20 mEq/L). Akut tübüler nekrozda idrar sodyumu tipik olarak 40 mEq/L nin üzerindedir(20).

Renal iskeminin oluşturduğu uyarı nedeniyle ortaya çıkan prostaglandinlerin sodyum salınımında rolleri vardır. PGE_2 ve PGI_2 natriüretik ve diüretik ajanlardır.

Prostaglandin E'nin proksimal nefron dışında bir yeri etkileyerek su ve tuz itrafini arttırdığı ileri sürülmüştür(52,79,80,95,102). Görüldüğü gibi bizim her iki grupta da akut tübüler nekroz geliştiğini destekler yüksek idrar sodyum değerleri bulunmaktadır. Ortalama değerlere bakıldığında Grup VI'nın idrar sodyum ortalama değerinin belirgin olarak daha düşük bulunduğu görülmektedir.

İdrar potasyum değerleri V. grupta ortalama 13.54 ± 6.78 'dir. VI. grup ortalama idrar potasyum değeri ise 21.67 ± 9.23 bulunmuştur($p > 0.05$).

Winaver ve ark. iskemik yetmezlikte idrarda potasyum düzeyinde bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir(18). Bu bakımdan bizim bulgumuz literatürle uyumludur. Ancak literatürde iskemik yetmezlik nedeniyle ortaya çıkan Akut tübüler nekrozda idrar K^+ miktarının azaldığını bildiren çalışmalar da vardır(48).

Fraksiyonel sodyum ekskresyonu akut böbrek yetmezliğinin tanısında kullanılan testlerden biridir. Fraksiyonel sodyum ekskresyonu değerinin 1'den yüksek olması yetmezliği gösterir(98,123).

Çalışmamızda V. Grup böbreklerin fraksiyonel sodyum ekskresyonu ortalama değerleri $\% 18.05 \pm 10.73$, VI. Grubun ise $\% 8.56 \pm 1.99$ bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirmede gruplar arasında önemli derecede fark vardır($p < 0.05$).

Prerenal azotemide ve tübül fonksiyonlarının iyi korunduğu akut glomerulonefritte bu oran $\% 1$ 'den azdır (20). Akut tübüler nekroz gibi intrinsik renal olaylarda, üriner sodyum düzeyi tipik olarak 40 mEq/L 'nin üstünde FE_{Na} oranı $\% 2$ 'den büyüktür(20). Her iki deney grubumuzda da $\% 2$ 'den yüksek değer elde edilmiştir ki,

bu her iki deney grubumuzda da Akut tübüler nekrozun gelişmiş olduğunun ifadesidir. Ancak E vitamini ile yüklenmiş köpeklerin böbreklerinin oluşturduğu VI. grup FE_{Na} değerinin, kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olduğu ortaya çıkmıştır.

İskemik böbrek dokusundaki hasarın göstergelerinden birisi olan lipid peroksid düzeyleri, tüm grupların korteks ve medullalarında çalışıldı.

I. Grup(soğuk iskemi, kontrol) böbreklerinin ortalama lipid peroksid düzeyleri kortekste 473 ± 335 nmol MDA/gr protein, medullada ise 381 ± 531 nmol MDA/gr protein bulunmuş, yapılan istatistiksel çalışmada gruplar arasında fark bulunamamıştır($p > 0.05$).

II. Grup(soğuk iskemi, deney) böbreklerinin ortalama lipid peroksid düzeyleri kortekste 1266 ± 725 nmol MDA/gr protein, medullada ise 1256 ± 682 nmol MDA/gr protein bulunmuştur. Yapılan istatistiksel çalışmada korteks ve medulla arasında fark bulunamamıştır($p > 0.05$). Ancak bu grup böbreklerinin histopatolojik incelenmesinde böbreklerden ikisinde şiddetli, ikisinde daha az olmakla birlikte piyelonefrit gözlemlendi. Henüz reperfüzyon yapılmamış böbreklerdeki lipid peroksid düzeylerindeki yükselmenin enfeksiyona bağlı olabileceği düşünüldü. Bu konuda yayınlanmış bir yazıya rastlanmamış olup, araştırmamızın protokolü dışında olan bu bulguya tesadüfen rastlandığı için burada tartışılmadı. Ancak bu bulgu enfeksiyona bağlı doku yıkımında lipid peroksidasyonun rolünün aydınlatılmasınınin tedaviye getirebileceği yeni yaklaşımların ortaya çıkması ihtimali nedeniyle araştırılmaya değer olduğu düşüncesini doğurdu.

III. Grup böbreklerin ortalama lipid peroksid düzeyleri kortekste $625 \bar{+} 428$ nmol MDA/gr protein, medullanın ise $859 \bar{+} 533$ nmol MDA/ gr protein bulunmuştur. Her iki grubun istatistiksel değerlendirilmesinde gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür($p > 0.05$).

IV. Grup böbreklerinin ortalama lipid peroksid düzeyleri kortekste $658 \bar{+} 302$ nmol MDA/ gr protein, medullada ise $1150 \bar{+} 651$ nmol MDA/gr protein bulunmuş, gruplararası istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır($p > 0.05$).

V. Grup böbreklerinin ortalama lipid peroksid düzeyleri kortekste $1156 \bar{+} 334$ nmol MDA/ gr protein, medulla değeri ise $998 \bar{+} 483$ nmol MDA/ gr protein bulunmuştur. Grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde korteks ve medulla arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır($p > 0.05$).

VI. Grup böbreklerinin ortalama doku lipid peroksid değeri kortekste $805 \bar{+} 433$ nmol MDA/gr protein, medullada ise bu değer $964 \bar{+} 350$ nmol MDA/gr protein bulunmuş, istatistiksel değerlendirme, gruplar arasında fark olmadığını göstermiştir($p > 0.05$).

Bugün iskemiye ve reperfüzyona bağlı böbrek hasarının fizyopatolojisinin aydınlatılması yolunda mesafeler alınmasına rağmen bilgilerimiz eksiktir. Hasarın, böbreğin korteksinden mi, medullasından mı başladığı sorusu tartışılmaktadır. Bu çalışmanın amaçlarından birisi de reperfüzyon hasarının nedenlerinden birisi olan lipid peroksidlerin, önce böbreğin hangi anatomik bölümünde oluştuğunu, miktarını ve histopatolojik bulgularla ilişkisini ortaya koymaktır. Yapılan pek

çok çalışmayla iskemi sonrası böbrek korteksinde vazokonstrüksiyon geliştiği gösterilmiştir. Araştırmacıların bir kısmı ABY'de kortikal vazokonstrüksiyonun sorumlu olduğunu (11;48), diğer bir kısmı da bu olayın medüller kan ihtiyacını karşılamak amacıyla refleks geliştiğini asıl sorunun medullada oluşan eritrosit kümelenmesine bağlı olduğunu bildirmişlerdir(70,81). Nitekim eritrosit kümelenme şiddetiyle ABY'nin şiddetinin orantılı olduğu, iyileşmenin eritrosit kümelerinin ortamdaki kaybolma zamanı ve hızıyla birlikte seyrettiği bildirilmiştir(5).

Yukarıda dökümünü yaptığımız lipid peroksid düzeylerine göre hiç bir grup ve aşamada korteksler ve medullalar arasında farklılık görülmemiştir. Gerek deney grubu, gerekse kontrol grubu yeterli sayıda deneyin yapıldığı üçer gruptan oluşmuştur. Literatürde bulgumuzu ne doğrulayacak ne de reddedecek herhangi bir çalışma bulunduğundan böbrekte lipid peroksidlerin eş zamanlı olarak korteks ve medullada eşit miktarlarda oluştuğunu söyleyebiliriz.

İskemik böbreklerde lipid peroksidlerin varlığı zorlukla kanıtlanmıştır. Bu çalışmada kullandığımız lipid peroksid tayin yöntemimiz çok yaygın kullanılmasına rağmen Green ve ark.nca eleştirilmiş, doğru bir indeks sağlamadığı ileri sürülmüştür(37). Aynı yazarlar yaptıkları çalışmalarında bizim lipid peroksid tayin yöntemimizin alternatifi olarak, lipid peroksidlerin tüm primer amino gruplarıyla karakteristik floresans-konjuge schiff bazları oluşturmak üzere reaktivasyonuna dayalı yeni geliştirilmiş yöntemi kullanmışlardır. Peroksid ve aldehitlerin membran fosfolipidleriyle konju-

gasyonunun sonucu olduğu düşünölen yağda çözödür schiff bazlarının aranmasının, invivo lipid peroksidlerinin varlığının kanıtlanması için daha duyarlı ve spesifik bir test olduğunu ileri sürmüşlerdir(37).

Green ve ark. nın tavşanlarda yaptıkları soğukta saklama yöntem ve sürelerinin böbreklerde reperfüzyon sonrası serbest radikal hasarıyla ilişkisini araştıran çalışmalarında lipid peroksidasyona ilişkin kanıtlar aramışlardır. 24 ve 48 saat hipertonic sitrat ve izotonik NaCl solüsyonunda saklamada gruplar arasında fark bulunamazken ototransplante edilip reperfüzyon yapıldığında schiff baz oluşumunda önemli artışlar gözlemişlerdir. Sonuçlarını mg protein başına düşen floresans yoğunluğu cinsinden vermişler, Soğuk iskemi gruplarıyla reperfüzyon grupları arasında 4,5 - 5 kata varan değişiklikler gözlemişlerdir (37).

Deneyimizdeki soğuk iskemi ve reperfüzyon gruplarının incelenmesinde lipid peroksid oluşumu, 1 saatlik reperfüzyonda yaklaşık 1,5 kat, 6 saatlik reperfüzyondan sonra ise 2,5 kata varan artışlar olmuştur. Ancak gruplar arasındaki fark istatistikî olarak gösterilememiştir.

Paller ve ark. ratlarda yaptıkları deneysel böbrek iskemisi ve reperfüzyonu çalışmalarında korteks lipid peroksidleri düzeyi 130 nmol MDA/gr protein, 60 dakika iskemi ve 15 dakika reperfüzyondan sonra korteks lipid peroksid düzeyi 215 nmol MDA/gr protein olmuştur. Yaptıkları çalışma sonucu lipid peroksid düzeylerinin korteks mitokondrial düzeyinde hasar yaptığı ve bu hasarın SOD ile azaltılabileceğini bildirmişlerdir(84). Aynı araştırmacılar korteks doku homojenatından ayır -

dıkları mitokondrilerde, kontrol grubunda iskemisiz 5.4 nmol MDA/mg protein iskemi ve reperfüzyonda 7.0 nmol MDA/ mg protein, SOD ile tedavi edilenlerde ise 5.6 nmol MDA/mg protein bulmuşlardır. Bu değerler bizim değerlerimize göre oldukça yüksektir.

Çalışmamızda kortekslerarası ve medullalararası farkı ortaya koymak için istatistiksel çalışma yaptık (TabloVIII ve IX), (Grafik I ve II). Piyelonefrit tespit ettiğimiz için çıkardığımız II. grubun dışında gruplar arasında fark bulamadık. Bu sonucu literatür - de bazı araştırmacıların ifade ettikleri gibi lipid peroksid yöntemimize bağlıyoruz. Bu araştırmacıardan Wong ve ark.(1987) geliştirdikleri yeni bir yöntemi tanıtmışlardır. Araştırmacılar, kullandığımız yöntem olan tiyobarbitürik asit ve MDA reaksiyonuyla lipoperoksidlerin spektrofotometrik olarak ölçülmesinin klinik kabul görmesinin sınırlı kaldığını, bunun nedeninin de bu testin analitik özgüllüğü, hassasiyeti, tekrarlanabilirliği, iyileşmenin takibi, stabilitesi, ilaçlarla etkileşmesi konusundaki şüpheler olduğunu belirtmişlerdir. Tiyobarbitürik asit ve MDA reaksiyonunun yüksek basınç sıvı kromatografisi aracılığı ile daha hassas bir şekilde tayin edilebileceğini bildiren araştırmacılar kliniğe uygulanabilecek güvenilir bir yöntem olarak tavsiye etmişlerdir. Ancak bu yöntemle çalışırken çok titiz ve dikkatli teknik uygulanması gerektiğini bildirmişlerdir(124).

Böbrekte iskemiye bağlı histopatolojik bulgular, tubuler epitel nekrozu, tubul lümenleri içinde epitelial silendirler, tubuler hasar bulguları(fırçamsı kenar düzleşmesi, epitel hücrelerinin düzleşmesi, epitel-

yal ayrılma, bazal membran yırtılması, hidropik de-
jenerasyon), geç dönemde tubulus genişlemesi, tubuller
içinde hyalin silendirler ve konjesyondur(31,70,76,81,
97).

Soğukta saklanmış böbreklerin 32 saat sonraki
incelenmesinde hafif ve orta derecelerde hidropik de-
jenerasyon dışında bir bulguya rastlamadık. Halbuki
24 saat soğuk iskemiyi takiben sadece 1 saat kanlanma-
sını sağladığımız böbreklerde konjesyon, epitelyal ay-
rılma, distal ve toplayıcı tubuluslarda hyalin silen-
dirler, nekrobiyotik değişiklikler, iki böbrekte de
hafif fokal epitel nekrozu tesbit ettik. Kısa süre kan-
lanmada bu kadar dramatik patolojik değişiklikler an-
cak reperfüzyona bağlı serbest radikal hasarı ile
açıklanabilir.

Araştırmacılar daha çok patolojik değişiklikler-
in natürünü değil, lokalizasyonlarını tartışmışlardır
(49,110).

Reperfüzyondan sonra medüller kan akımının cid-
di bir şekilde azaldığını bildiren araştırmacılar, is-
keminin medüller tubul hücrelerinde hidropik dejeneras-
yona yol açtığını buna bağlı olarak nefronun medüller
segmentlerinin tıklandığını, asıl harabiyetin medüllä-
da oluştuğunu ileri sürmüşlerdir(81).

Wilkes ve Myers iskemiden zarar gören kısmın
proksimal tubulusların pars rektalarının olduğunu(76,
120) Mason ve ark. ise medüller konjesyon ve Henle kul-
punun kalın kolunda nekroz görüldüğünü bildirmişler-
dir(70).

Histopatolojik değerlendirmelerimizde lezyonla-

rın korteks ve kortikomedüller bileşkede yoğunlaştığını gördük. Deney ve kontrol grupları arasında hiç bir parametrede gruplar arasında fark yoktu.

Çalışmamızda transplante edilen böbrekleri reperfüzyon hasarından korumada E vitamininin koruyucu olduğuna ilişkin fonksiyonel, biokimyasal ve histopatolojik yeterli bulgu saptayamadık. Ancak literatürdeki az sayıdaki çalışma E vitamininin yararlı olduğunu savunmaktadır(68,107). Bu konuda daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

S O N U Ç

Biyolojik membranların değişmez lipid komponenti olan E vitamini, lipid peroksidasyonuna bağlı hücre yaralanmasını antioksidan özelliğiyle önler. İskemi-reperfüzyon deneyleriyle kanıtlanmış yararlı etkisini transplantasyon modelinde denemek amacıyla bu çalışma yapıldı.

5 gün süreyle plasebo ve 10 mg/kg/gün E vitamini İM uygulanmış köpeklerden alınan böbrekler kontrol ve deney olmak üzere üçer gruba ayrıldı. 32 saat soğuk iskemi (G I ve G II), 24 saatlik soğuk iskemi sonrası allotransplantasyon yapılarak 1 saat reperfüzyonu (G III ve G IV) ve 8 saat reperfüzyonu (G V ve G VI) sağlanan böbrekler olmak üzere gruplandırıldı.

Deneylerin sonunda böbreklerin fonksiyonel, biyokimyasal, histopatolojikdeğerlendirilmeleri yapıldı. Buna göre;

1- Kontrol grubundan 4 böbrekten idrar alınamazken, deney grubundan 3 böbrekten idrar alınamadı. İdrar miktarları arasında istatiksel fark yoktu.

2- İdrar BUN ve kreatinin değerleri arasında gruplar arasında bir fark yoktu.

3- İdrar Na⁺ ve K⁺ değerleri arasında bir fark elde edilemedi.

4- Fraksiyonel sodyum ekskresyonu oranlarının değerlendirilmesinde her iki grupta akut tübüler nekrozun geliştiği görüldü. Ancak deney grubunda bu değer önemli derecede düşüktü.

5- Bütün gruplardaki korteks ve medulla lipid peroksid düzeyleri arasında bir fark yoktu. Böbrekte iskemi ve reperfüzyon nedeniyle oluşan lipid peroksidlerin böbreğin korteks ve medullasında aynı zamanlarda ve eşit miktarlarda oluştuğunu düşündürdü.

6- Akut tübüler nekrozun böbreğin korteks ve medullasında birlikte ve aynı şiddetde oluştuğu kanısına varıldı.

7- Tüm grupların kortekslerinin lipid peroksid düzeylerindeki değişikliğin önemsiz olduğu görüldü.

8- Tüm grupların medüllalarının lipid peroksid düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulundu.

9- G II'de görülen yüksek lipid peroksid düzeyinin bu grupta sonradan histolojik olarak kanıtlanan piyelonefritli böbreklerin bulunması nedeniyle ortaya çıkmış olabileceği düşünüldü. Çalışma dışı tesadüfi bulunan bu bulguyla ilgili literatürde çalışmaya rastlanamadı.

10- 32 saat soğuk iskemide kalan böbrekte zayıf ve orta derecede hidropik dejenerasyonun dışında lezyon görülemezken, 24 saatlik soğuk iskeminin arkasından 1 saat süreyle kanlanması sağlanan böbreklerde görülen dramatik patolojik değişiklikler reperfüzyon ve serbest radikal hasarına bağlanmıştır.

11- Histopatolojik değerlendirmelerde çeşitli parametrelerde kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel farklılık görülememiştir.

Bu bulgular, E vitamininin köpeklerde yapılan deneysel böbrek transplantasyonundayaraklı olduğuna ilişkin sonuç için yeterli değildir.

Ö Z E T

Bir böbrek allotransplantasyonu modelinde böbrek korteks ve medullasındaki lipid peroksid oluşumunu ve dağılımını tesbit etmek, lipid peroksidasyonuna bağlı doku hasarının önlenmesinde E Vitamininin etkisini araştırmak amacıyla bu çalışma yapıldı.

Donör köpekler deney (n:11) ve kontrol(n:10) gruplarına ayrıldı. Deney grubunu oluşturan deneklere 5 gün süreyle İM olarak 10 mg/kg/gün α -tocopherol acetate kontrol grubuna ise plasebo uygulandı. Deneklere 150 İÜ/kg heparin, 500 mg/kg mannitol verildikten sonra bilateral nefrektomi yapıldı. Böbrekler Ringer laktat solusyonuyla flaşe edildikten sonra 0°C- +4°C' da saklandı.

Böbrekler, 32 saat soğuk iskemi (GI n:5,GII n:6) ile 24 saatlik soğuk iskemiden sonra transplante edilerek 1 saat (GIII n:6, GIV n:6) ve 8 saat((GV n:9,GVI n:9) reperfüzyonları sağlanan gruplara ayrıldı.

Deneylerin sonunda tüm böbreklerde lipid peroksid oluşumunun böbreğin korteks ve medullasında eşit miktarlarda ve eş zamanlı olduğu gözlemlendi. Diğer fonksiyonel, biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler sonucu E Vitamininin köpek böbrek transplantasyonunda reperfüzyon hasarını önlemek için yeterli olmadığı sonucuna varıldı.

SUMMARY

This study was planned to investigate the lipid peroxide formation and distribution in renal cortex and medulla and the effects of vitamine E in the prevention of tissue damage due to lipid peroxidation in the renal allotransplantation model.

The donor dogs were separated into experiment (n:11) and control (n:10) groups. In the experiment group 10 mg/kg/day α tocopherol acetate IM was given whereas placebo was used in the control group. Bilateral nephrectomy was performed after the administration of heparine 150 mg/kg and mannitol 500 mg/kg. The kidneys were flushed with ringer lactate solution and kept under 0° C - +4° C.

After 32 hours (GI n:5, GII n:6) and 24 hours of cold ischemia, the kidneys were transplanted and the groups were separated as 1 hour (GIII n:6, GIV n:6) and 8 hours (GV n:9, GVI n:9) of reperfusion.

At the end of the experiments, the lipid peroxide formation of all kidneys were found to be equal and simultaneous in the renal cortex and medulla. The other functional, biochemical and histopathological findings have shown that vitamine E was not sufficient in the prevention of reperfusion damage in the dog kidney transplantation.

KAYNAKLAR

1. Angel, M.F.,:Free radicals: Basic consepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. Plastic and Reconstructive Surgery, 79:990-997, 1987.
2. Aydın,A.,Kiper,H.,Karahüseyinoğlu,E.,Yaşar,B. ve ark.: İskemik Hepatit. Anadolu Tıp Dergisi, 9:41-47, 1987.
3. Aydın, A.,Kiper,H.,Karahüseyinoğlu,E.,Yaşar,B. ve ark.: Deneysel karaciğer iskemisinde dimethylsulfoxide'in hücre koruyucu etkileri Anadolu Tıp Derg.9:27-40,1987
4. Baker,G.L.,Autor,A.P. and Corry,R.J.: Effect of allqur-inol on kidneys after ischemia and reperfusion. Current Surgery, Nov-Dec: 466-469,1985.
5. Baker,G.L.,Corry,R.J.:Oxygen free radical inducede damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion protective effect of SOD. Ann. Surg,202:628-641, 1985.
6. Belzer,F.D.,Ashby,B.S.,Dunphy,J.E.: 24 hour and 72 hour preservation of canine kidneys. The Lancet, 9 Sept.:536-539, 1967.
7. Benjamin,J.L. and Sell,K.W.: Effects of temperature on kidneys preserved by hypothermic perfusion.

- Transplantation, 14:501 1972.
8. Bilgin,N. Haberal,M. ve ark.: Türkiye'de böbrek transplantasyonunun evrimi. Diyaliz,Transplantasyon,yanık, 1:7-11, 1983.
 9. Bishop,M.C. and Ross,B.D.: Evaluation of hypertonic citrate flushing solution for kidney preservation using the isolated perfused rat kidney. Transplantation, 25:235 1978.
 10. Blachshear,J.L.,Orlandi,C. and Hollenberg,N.K.: Serotonin and the renal blood supply role of prostoglandin and the 5HT-2 receptor. Kidney International, 30:304-310, 1986.
 11. Brezis, M. Rosen,S.,Silva,P.,Epstein,F.H.: A new perspective renal ischemia. Kidney International, 26:375-383, 1984.
 12. Brophy,D.,Najarian,J.J., Kjellstrand,C.M.: Acute tubular nekrosis after renal transplantation. Transplantation, 29:245-248, 1980.
 13. Bulay, O.: Hücre zedelenmesi, lokal dolaşım bozuklukları,iltihap,immünite ve timus hastalıkları. Ankara Üniversitesi Tıp Fak. Yayınları Sayı:439 Ankara 1983.
 - 14 .Bulkley, G.B.: The role of oxygen free radicals in human disease processes. Surgery , 94:407-411,1983.
 15. Bulkley,G.B.: Free radical mediated reperfusion injury a selective review. Br. J. Cancer, 55(suppl Vlll)66-73 1987.
 16. Cederholm,C.,Almen,T. ve ark. Acute renal failure in rats. Acta Radiol. Diag. 27:241- 1986.

17. Clark, E.A., Opelz, G. ve ark.: Evaluation of Belzer and Collins kidney preservation methods. The Lancet Febr. 17:361-363, 1973.
18. Collins, G.M. ve ark.: Kidney preservation for transplantation. Brit.J.Surg. 59:187 1972.
19. Conger, J.D., Robinnette, J.B. and Kelleher, S.P.: Nephron heterogeneity in ischemic acuterenal failure. Kidney International 26:422-429, 1984.
20. Corwin, H.L., Bonventre, J.V.: Acute renal failure. Med. Clinics of North Am. 70:1037-1054, 1986.
21. Çağlar, Ş.: Klinik Nefroloji. 2. Baskı, Medial Yayınlları, Ankara, 1986.
22. Değerli, Ü., Tunalı, V.: Cerrahide komplikasyonlar ve tedavileri. 4. Baskı, Nobel Kitabevi, 1984.
23. Downes, G., et all.: Mechanism of action of washout solutions for kidney preservation. Transplantation 16:46-53, 1973.
24. Drummond, C.J.: The ionization behaviour of dl- tocopherol in model membranes, micelles and vesicles. BBA 836:275-278, 1985.
25. Erden, M., Bor, N.M.: Redükte glutatyon ve glutatyon redüktaz enziminin klinik önemi. Doğa-TAG: 24-32, 1980.
26. Erden, M., Bor, N.M.: Changes of reduced glutathion, glutathion reductase, and glutathione peroxidase after radiation in guinea pigs. Biochemical Medicine, 31:217-227, 1984.
27. Erin, A.N., Spirin, M.M., et all.: Formation of tocopherol complexes with fatty acids. BBA, 774:96-102, 1984.
28. Fabre, J.W., Bishop, M., Sen, T., et all.: A study of three protocols of blood transfusion before renal transplantation in the dog. Transplantation 26:94-98,

- 1978.
29. Fischer, J.H., Czerniak, A., Hauer, U., Isselhard, W.: A new simple method for optimal storage of ischemically damaged kidneys. *Transplantation*, 25: 43-49, 1978.
 30. Fridovich, I.: The Biology of oxygen radicals. *Science*, 201:875-879, 1978.
 31. Fried, T.A., Hishida, A., Barnes, J.L., and Stein, J.H.: Ischemic acute renal failure in the rat protective effect of uninephrectomy. *Am. J. Physiol.* 247:F568-F574, 1984.
 32. Fukuzawa, K., Takase, S., and Tsukatani, H.: The effect of concentration on the antioxidant effectiveness of α - tocopherol in lipid peroxidation induced by superoxide free radicals. *Arch. Biochem. Biophys.* 240: 117-120, 1985.
 33. Garvin, P.J., et al.: Renal cortical levels of adenosine triphosphate. *Arch. Surg.* 116:221, 1981.
 34. Gaudio, K.M., and Siegel, N.J.: Pathogenesis and treatment of acute renal failure. *Pediatric Nephrol. Ped. Clinics of North Am.* 34:771-787, 1987.
 35. Gingrich, G.A., Barker, G.R., Lui, P., and Steward, S.C.: Renal preservation following severe ischemia and prophylactic calcium channel blockade. *The Journal of Urology.* 134:408-410, 1985.
 36. Green, R.D., Boyer, D., Halasa, N.A., and Collins, G.M.: Pharmacological protection of rabbit kidneys from normothermic ischemia. *Transplantation.* 28:131-134, 1979.
 37. Green, C.G., Healing, G., Lunec, J., Fuller, B.J., and Simpkin, S.: Evidence of free-radical induced damage in rabbit kidneys after simple hypothermic preservation and autotransplantation. *Transplantation.* 41: 161-165, 1986.

38. Guttinger, W.P., Linke, C.A., and et all.: Comparison of hypertonic citrate and Collins C₂ and C₃ flushing solutions in canine cold storage kidney preservation. *Transplantation*. 25:279- 1978.
39. Guyton, A.C.: *Textbook of Medical Physiology*. 5th edition. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1976.
40. Haberal, M., ve ark. : The effects of Vitamin E on immune regulation after thermal injury. *Burns*. 14: 388-393, 1988.
41. Harper, H.A., Rodwell, V.W., Mayes, P.A.: *Review of physiological chemistry*. Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1977.
42. Harvey, R.B.: Effect of temperature on function of isolated dog kidney. *Am. J. Physiol.* 197:181-186, 1959.
43. Hoffmann, R.M., Southard, J.H., Lutz, M., et all.: Synthetic perfusate for kidney preservation. *Arch. Surg.* 118:919-921, 1983.
44. Hoshino, T., Maley, W.R., Bulkley, G.B., and Williams, G.M.: Ablation of free radical mediated reperfusion injury for the salvage of kidneys taken from non-heartbeating donors. *Transplantation*. 45:284-289, 1988.
45. Humes, H.D.: Role of the calcium in the pathogenesis of acute renal failure (Ed. Rew.) *Am. J. Physiol.* 259: F579-F589, 1986.
46. Jacobsen, I.A., Kemp, E., Buhl, M.R.: An adverse effect of rapid cooling in kidney preservation. *Transplantation*. 27:135-136, 1979.
47. Kalayoğlu, M., Sollinger, H.W., Stratta, R.J., et all.: Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *The Lancet* March 19:617-619, 1988.
48. Karahüseyinoğlu, E.: İskemik akut böbrek yetmezliğinde dimetilsulfoksitin etkisi üzerine deneysel bir araş-

- tırma. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:324, Tıp Fak. Yay.No:37, Eskişehir, 1989.
49. Kaufman, R.P.: Vazodilatör prostaglandinler renal damage ischemia . Ann.Surg. Febr.: 195-198, 1987.
 50. Kavas(Özelçi), G.: Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri, 9:1-6, 1989.
 51. Kedar, J., Jacob, E.T.: Dimethylsulfoxide in acute ischemia of the kidney. Ann.New York Academy of Sciences. 131-134, 1983.
 52. Kirschenbaum, M.A.: Prostanoids and renal failure. Contr. Nephrol. 50:36-45, 1986.
 53. Kjellstrand, C.M., Casali, R.E., Simmons, R.L., Shideman, J.R., et al.: Etiology and prognosis in acute post-transplant renal failure. Am.Jul.Med. 61: 190-199, 1976.
 54. Koyama, I., Bulkley, G.B., et al.: The role of oxygen free radicals in mediating the reperfusion injury of cold preserved ischemic kidneys. Transplantation. 40: 590-595, 1985.
 55. Karow, A.M.: Functional preservation of the mammalian kidney autologous transplantation of dog kidneys after treatment with DMSO. Transplantation. 41:669 1986.
 56. Korthuis, R.J., Granger, D.N., Townley, M.I., and Taylor, A.E.: The role of oxygen-derived free radicals in ischemia-induced increases in canine skeletal muscle vascular permeability. Circ.Res. 57:599-609, 1985.
 57. Lee, K.R., Cronenwett, J.L., Schlafer, M., Corpron, C.: Effect of superoxide dismutase plus catalase on Ca^{+2} transport in ischemic and reperfused skeletal muscle. Jour.of Surg. Research. 42:24-32, 1987.

58. Lehninger, A.L.: Biochemistry. Worth Publishers, Inc. pg:216, 1972.
59. Lelcuk, S.: Prostacyclin and thromboxane A₂ moderate postischemic renal failure. Surgery 98:207-212, 1985.
60. Lewis, R.B., Rice, J.H., et al.: Renal ischemic injury in the dog characterization and effect of various pharmacologic agents. J.Lab.Clin.Med.104:470-479, 1984.
61. Loo, H.M.: Effect of thromboxane inhibition on renal blood flow in dogs with complex unilateral ureteral obstruction. The Journal of Urology 1986.
62. Lucy, L.A.: Functional and structural aspects of biological membranes: a suggested structural role, for vitamin E in the control of membrane permeability and stability (Part I Cellular Biochemistry of Vitamin E). Ann.N.Y.Acad.Sci. 203:4-11, 1972.
63. Lytton, B., et al.: Improved renal function using adenosine triphosphate- magnesium chloride in preservation of canine kidneys subjected to warm ischemia. Transplantation. 31:187- 1981.
64. Manning, A.S., Coltrant, J., and Hearse, D.J.: Ischemia and reperfusion-induced arrhythmias in the rat effect of xanthine oxidase inhibition with allopurinol. Circ.Res. 55:545-548, 1984.
65. Marshale, V., Ross, B., et al.: Evaluation of renal preservation using the isolated perfused rat kidney. Transplantation. 26:315-318, 1978.
66. Marubayashi, S., Takenaka, M., Dohi, K., Ezaki, H., and Kawasaki, T.: Adenine nucleotide metabolism during hepatic ischemia and subsequent blood reflow periods

- and its relation to organ viability. Transplantation. 30: 294 1980.
67. Marubayashi, S., Dohi, K., Yamada, K., and Kawasaki, T.: Changes in the levels of endogenous coenzyme Q homologs tocopherol, and glutathione in rat liver after hepatic ischemia and reperfusion, and the effect of pretreatment with coenzyme Q₁₀. BBA. 797:1-9, 1984.
68. Marubayashi, S., Dohi, K., Ochi, K., et al.: Role of free radicals in ischemic rat liver cell injury: Prevention of damage by α tocopherol administration Surgery. 99:184-191, 1986.
69. Mason, J., Torhorst, J., and Welsch, J.: Role of the medullary perfusion defect in the pathogenesis of ischemic renal failure. Kidney International. 26:283-293, 1984.
70. Mason, J., Torhorst, J., and Welsch, J.: The contribution of vascular obstruction to the functional defect that follow renal ischemia. Kidney International. 31:65-71, 1987.
71. Mc.Cord, J.M.: Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. The New England Journal of Medicine. 312:159-163, 1985.
72. Mc.Cord, J.M.: The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. Surgery. 94:412-414, 1983.
73. Mc.Cord, J.M. Fridovich, I.: Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte superoxide reductase. J. Bio. Chem. 244:6049-6055, 1969.
74. Morris, P.J.: Kidney transplantation. Principles and Practice. London Academic Press. 1979.

75. Moursi, M., Rising, C.L., Zelenock, G.B., D'Alecy, L.: Dextrose administration exacerbates acute renal ischemic damage in anesthetized dogs. *Arc.Surg.* 122: 790-794, 1987.
76. Myers, B.D., Miller, D.C., Mehigan, J.T., et al.: Nature of the renal injury following total renal ischemia in man. *J.Clin.Invest.* 73:329-341, 1984.
77. Nordstrom, G., Seeman, T., and Hasselgren, P.: Beneficial effect of allopurinol in liver ischemia. *Surgery.* 97: 679-684, 1985.
78. Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry.* 95:351-358, 1979.
79. Olsen, M.E., Hall, J.E., Montani, J.P., Cornell, J.E.: Interaction between renal PG and angiotensin II in controlling glomerular filtration in the dog. *Clinical Science.* 72:437-441, 1987.
80. Osborn, J.L., Kopp, U.C., Thames, M.D., Dibona, G.F.: Interactions among renal nerves prostaglandins and renal arterial pressure in the regulation of renin release. *Am.J.Physiol.* 247:F706-F713, 1984.
81. Öjteg, G., Bayati, A., et al.: Renal capillary permeability and intravascular red cell aggregation after ischemia. *Acta Physiol Scand.* 129:295-304, 1987.
82. Öner, P., Bekpınar, S., ve ark.: Sıçan eritrosit ve KC plazma membranı Na, K, ATP az aktiviteleri üzerine farklı dozlarda E vitamini uygulamasının etkileri. *İst. Tıp Fak.Mecmuası.* 48:468-475, 1985.
83. Özdamar, K., Dinçer, S.: Bilgisayarla istatistiksel veri analizi. *Bilim Teknik Yayınevi.* İstanbul, 1987.

84. Paller, M.S., Hoidal, J.R., and Ferris, T.F.: Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J.Clin.Invest.* 74:1156-1164, 1984.
85. Paller, M.S., Sikona, J.J.: Renal work glutathione and susceptibility to free radical mediated post-ischemic injury. *Kidney International.* 33:843-849, 1988.
86. Parks, D.A.: Ischemia-induced vascular changes role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals. *Am.J.Physiol.* 245:G285 1983.
87. Parks, D.A., Bulkley, G.B., et al.: Role of oxygen derived free radicals in digestive tract diseases. *Surgery.* 94:415-422, 1983.
88. Parks, D.A., Granger, D.N.: Ischemia reperfusion injury: a radical view. *Hepatology.* 8:680-682, 1988.
89. Parks, D.A., Shah, A.K., and Granger, D.N.: Oxygen radicals effects on intestinal vascular permeability. *Am.J. Physiol.* 247:G167-G170, 1984.
90. Pascoe, G.A., and Reed, D.J.: Cell calcium, Vitamin E and the thiol redox system in cytotoxicity. *Free Radical Biology and Medicine.* 6:209-224, 1989.
91. Paşaoğlu, E., Paşaoğlu, Ö., Kiper, H., ve ark.: Deney- sel akut böbrek yetmezliğinde kalsiyum antagonist- lerinden verapamilin etkinliği. *Anadolu Tıp Dergisi.* 1989 (Baskıda).
92. Pentlow, B.D., Kostakis, A.J., Wall, W.J., et al.: Preservation of ischemically injured canine kid- neys with hypertonic citrate solution .The impor- tance of mannitol. *Transplantation.* 27:99-101, 1979.

93. Portakal,S.: Besinler ile aldığımız E vitamini.
Doğa Bilim Dergisi. 8:273-281,1984.
94. Proctor,E.,and Lamb,D.: An intermittent urinary
flow method of assessing viability in warm ischemic
kidneys during 48 to 96 hour of perfusion.Transplan-
tation.25:280-281,1978.
95. Raymound,K.H., Lifschitz,M.D.: Effect of prostaglan-
dine on renal salt and water excretion. Am.J.of Med.
80:(Suppl 1A) 22 1986.
96. Rassie,M.E.: Analysis of influence of extra-and intra-
renally formed angiotensin II on renal blood flow.
Journal of Cardiovascular Pharmacology. 106-110,
1986.
97. Robbins,S.L., Cotran,R.S.,Kumar,V.: Pathologic basis
of disease.Third Edition, W.B.Saunders Company.Tokyo,
1984.
98. Rose, B.D.: Meaning and application of urine chemist-
ries. Ed.: Burton David Rose.:Clinical Physiology
of Acide-Base and Electrolyte Disorders. Mc Graw Hill
Book Company,New York,pp:272-274,1984.
99. Ross,H.,Escoot,M.L.: Gaseous oxygen perfusion of
the renal vessels as an adjunct in kidney preservation.
Transplantation.28:362-364,1979.
100. Sarr,M.G.: Temporal efficacy of allopurinol during
the induction of pancreatitis in the ex vivo perfused
canine pancreas. Surgery. 101:342-346,1987.
- 101.Schloerb,P.R., Sieracki,L., Botwin,A.J., et all.:
Intravenous adenosine triphosphate (ATP) in hemorrhagic
shock in rats. Am.J. Physiol. 240:R52-R60,1981.
- 102.Schlondorff,D.: Renal prostaglandine synthesis.Am.J.
of Med. 81(Suppl.2B) 1-11,1986.

103. Small, A., Feduska, N.J. and Learman, S.B.: Function of autotransplanted kidneys after 24-hour preservation by hypothermic pulsatile perfusion or simple cold storage. *Transplantation*. 26:228-232, 1978.
104. Southart, J.H., Senzig, K.A., Hoffmann, R.M., and Belzer, F.O.: Toxicity of oxygen to mitochondrial respiratory activity in hypothermically perfused canine kidneys. *Transplantation*. 29:459-461, 1980.
105. Svingen, B.A., Powis, G., Appel, P.L. and Scott, M.: Protection against Adriamycin-induced skin necrosis in the rat by dimethylsulfoxide and α -tocopherol. *Cancer Research*. 41:3395-3399, 1981.
106. Steawart, J.R., Cryte, S.L., Loughlin, V., Hess, M.L., and Greenfield, L.J.: Prevention of free radical-induced myocardial reperfusion injury with allopurinol. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 90:68-72, 1985.
107. Takenaka, M., Tatsukawa, Y., Dohi, K., Ezaki, H.: Protective effects of α -tocopherol and coenzyme Q₁₀ on warm ischemic damages of the rat kidney. *Transplantation*. 32:137 1981.
108. Tatsukawa, Y., Dohi, Y., Yamada, K., Kawasaki, T.: The role of coenzyme Q₁₀ preservation of the rat kidney: A model experiment for kidney transplantation. *Life Sciences*. 24:1309-1314, 1979.
109. Tietz, N.W.: *Fundamentals of clinical chemistry*. W.B. Saunders Comp. Philadelphia. pg:542, 1976.
110. Tobimatsu, M., Konomi, K., Saito, S., Tsumagari, T.: Protective effect of prostaglandin E₁ on ischemia induced acute renal failure in dogs. *Surgery*. 98:45-52, 1985.

111. Toledo-Pereyra, L.H., Condie, R.M.: Comparison of sacks and a new colloid hyperosmolar solution for hypothermic renal storage. *Transplantation*. 26:166-168, 1978.
112. Türel, Ö.: Organ Transplantasyonları. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 1985.
113. Uyar, T.: Organik Tepkimeler. Okan Yayıncılık, Ankara, 1988.
114. Üstdal, M.: Biyokimya: Vitaminler, Enzimler, Hormonlar. Ana.Üni. Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları No: I, Eskişehir, 1983.
115. Velicangil, S.: Biyoloji, Tıp ve Eczacılık Bilimlerinde istatistik metodları. Sermet Matbaası, İstanbul, 1975.
116. Villalain, J.: Calorimetric and infrared spectroscopic studies of the interaction of α -tocopherol and α -tocopheryl acetate with phospholipid vesicles. *Eur. J. Biochem.* 158:141-147, 1986.
117. Wald, N.J., Thompson, S.G., Donsem, J.W., Boreham, J., and Bailey, A.: Serum vitamine E and subsequent risk of cancer. *Br. J. Cancer.* 56:69-72, 1987.
118. Walkinshaw, M., Downey, D., et al.: Ischemic injury to enteric free flaps: An experimental study in the dog. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 81: 939-943, 1988.
119. Wesson, L.G., Colberg, J.E., et al.: Extracellular fluid of the kidney preserved by the collins technique. *Transplantation*. 27:380-383, 1979.
120. Wilkes, B.M., and Mailloux, L.U.: Acute renal failure pathogenesis and prevention. *Am. J. of Med.* 80:1129-1136, 1986.

121. Willson, R.L.; Free radical protection: Why vitamin E not vitamin C, β -carotene or glutathione. *Biology of Vitamin E. Ciba Foundation Symposium* .101, 1983.
122. Winaver, J., Agmon, D., Harari, R., Better, O.S.: Impaired renal acidification following acute renal ischemia in the dog. *Kidney Int.* 30:906-915, 1986.
123. Wong, N.L.M., Quamme, G.A., and Dirks, J.H.: Tubular handling of bicarbonate in dogs with experimental renal failure. *Kidney Int.* 25: 912-918, 1984.
124. Wong, S.H.Y., Knight, J.A., Hopfer, S.M., et al.: Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thio-barbuturic acid adduct. *Clin. Chem.* 33:214-220, 1987.
125. Yasunaga, T., Kato, H., Ohgaki, K., et al.: Effect of vitamin E as an immunopotentiating agent for mice at optimal dosage and its toxicity at high dosage. *J. Nutr.* 112, 1075- 1982.