

DENEYSEL ÇALIŞMA

**DENEYSEL BÖBREK İSKEMİ-REPERFÜZYON
HASARINDA E VİTAMİNİ VE EGb 761'İN
KORUYUCULUĞU****THE PROTECTIVE ROLE OF VIT E AND EGb 761 IN EXPERIMENTAL
RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY****Murat KAPKAÇ
Sevil Aldemir IŞIK
Sinan ERSİN
Mahir AKYILDIZ****SUMMARY**

In this experimental study the protective roles and the effects of both vitamin E that has protective effects in the renal ischemia-reperfusion injury on the lipid peroxidation step and the EGb 761 the antagonist of PAF which is responsible for the immune glomerular injury were evaluated on biochemical and hystological basis in the Swiss Albino rat kidney. Ischemia was performed in left kidney with vascular clampage approximately for one hour. In he first group. (n:10) 0.5 ml 0.9% NaCl was perfused in ten minutes before the end of the clampage by intravenous route. In the second group (n:15) 100 mg/kg vitamin E was injected in the tenth minute of ischemia intramuscularly and in the first group. For half of the rats in each group left nephrectomy and control right nephrectomy was performed in the 24 th hour and for the other half left nephrectomy and control right nephrectomy were performed in the 72 nd hour. The histopathologic changes and the levels of superoxide dismutase and catalase in tissue, increases the severity of tubuler necrose, but there is no proctective role of both vitamin E a well known antioxidant and EGb 761 an antagonist in renal ischemia-reperfusion injury.

(Key words: Antioxydant, Oxygen Free Radicals)

ÖZET

Bu deneysel çalışmada, böbrek iskemi reperfüzyon hasarında lipid peroksidasyon aşamasında koruyucu yönden etkili E vitamini ile, glomerüler imün hasardan sorumlu tutulan trombosit aktivatörü (Platelet Activating Factor=PAF) antagonisti olan EGb 761 (Ginkgo Biloba ekstresi)'in böbrek iskemi reperfüzyon hasarında koruyuculuğu ve etkileri İsviçre tipi beyaz farelerde biyokimyasal ve histolojik olarak araştırıldı.

Genel Cerrahi Anabilim Dalı (Doç.Dr.M Akyıldız,
Yard.Doç.Dr.M Kapkaç, Op.Dr.S Ersin, Uz.Dr.SA Işık)
Ege Tıp Fakültesi 35100 Bornova İZMİR

Yazışma: Yard.Doç.Dr.M Kapkaç
Süvari Cd. No: 6/11 Bornova 35040 İZMİR

Sol böbreğe damar klempı uygulanarak bir saat süreyle iskemi yaratıldı. Birinci gruba (s:10) iskemi bitiminden on dakika önce 0.05 ml %0.9 NaCl intravenöz, ikinci gruba (s:15) iskeminin onuncu dakikasına 100 mg/kg E vitamini intramüsküler, üçüncü gruba (s:15) iskemi bitiminden on dakika önce 25 mg/kg EGb 761 intravenöz olarak verildi. Her gruptaki denek sayısının yarısına 24 saatte, diğer yarısına da 72. saatte relaparotomi yapılarak sol nefrektomi uygulandı. Tüm gruplara kontrol amacıyla ilave olarak sağ nefrektomi yapıldı. İskemik böbreklerden alınan örneklerde superoksidismütaz katalaz, ksantin oksidaz, malondialdehit düzeyleri ve histopatolojik değişiklikler incelendi. Çalışmamızda süperoksidismütaz ve katalaz düzeylerinin doku düzeyinde düşmesiyle tübüler nekrozun şiddetinin arttığı, ancak bilinen bir antioksidan olan E vitamini ve Trombosit Aktivatörü (PAF) antagonisti EGb 761'in böbrek iskemi reperfüzyon hasarında koruyucu etkisinin olmadığı kanaatine varıldı.

(Anahtar Sözcükler: Antioksidan, Oksijen Serbest Radikalleri)

Son yıllarda organ naklinde meydana gelen sayısal artış, iskemi ve reperfüzyon fizyopatolojisine ilgiyi arttırmış, ve bu konuda çok sayıda çalışma yapılmasına neden olmuştur. İskemik böbrek hasarı, böbrek kan akımının bozulması ve perfüzyonun tekrar sağlanması sonrasında olmak üzere iki farklı evrede gelişmektedir. İskemiyle gelişen ATP kayıpları ve kan akımının tekrar sağlanması sonrasında serbest oksijen radikallerinin oluşumu, organda büyük hücre kayıplarına sebep olabilecek bir dizi reaksiyon başlatmaktadır (1).

Böbrek naklinde erken sıcak iskemi süresince ve de özellikle soğuk iskemiye maruz kalan kadavra böbreklerde fonksiyonların korunması çok önemlidir. Bunun yanı sıra reperfüzyonun önemli bir basamak oluşturduğu nakillerde serbet oksijen radikallerinin ortaya çıkması organa zarar vermektedir (2). Hücreler oksidatif hasarı önleyen, yok eden yada kısmen azaltan mekanizmalara sahip olsalar da bu süreçte gelişen iskemi, böbrek fonksiyonlarını etkilemektedir.

Bu çalışmada doku hasarı oluşmasına neden olan tetiklenmiş bazı biyokimyasal mekanizmaları, dışarıdan verilen E vitamini ve EGb 761 ile engelleyerek, böbrek fonksiyonlarının korunup korunamayacağını histolojik ve biyokimyasal olarak araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ege üniversitesi Tıp Fakültesi

Deneysel Cerrahi ve Araştırma Bilim Dalı'nda, ağırlıkları ortalama 200 g olan İsviçre beyaz fareleri üzerinde yapıldı. Fareler özel bir diyet uygulanmaksızın pelet ve normal su ile beslendiler.

Deneklere 30 mg/kg adeste içi ketamin anestezisi altında steril koşullarda mediyan laparotomi yapıldı. Vargas'ın 1995'te uyguladığı böbrek iskemi ve reperfüzyon modeli kullanılarak sol böbrek hilusuna total atravmatik küçük damar klempı koyularak iskemi uygulandı (3). İskemi sırasında karın ılık serum fizyolojikle korundu.

İskemi grubuna (s:30) iskemi bitimiden on dakika önce İntravenöz yolla 0.5 ml% 0.9 NaCl (Grup 1), İskemi+Vitamin E grubuna (S:15) iskeminin onuncu dakikasında intramüsküler yoldan 100 mg/kg E vitamini (Grup 2), iskemi+Egb 761 (Grinkgo Biloba ekstresi) grubuna (s:15) iskemi bitiminden on dakika önce intravenöz yolla 25 mg/kg Egb 761 (Grup 3) verildi. Altmış dakika iskemi sonrasında damar klempı açıldı. Sağ böbrekler ise kontrolleri oluşturmak üzere korundu. Fareler karın kapatıldıktan sonra (3/0 ipekle) çelik kafeslere alındı. İki saat sonra pelet ve su ile beslenmeye devam edilerek gruplar arasında beslenme zamanı ve içeriği yönünden farklılık oluşturulmadı.

Histopatolojik değişimlerin ışık mikroskopuna yansıması, akut tübüler nekroz için birinci günden, doku rejenerasyonunda ise üçüncü günden itibaren olması nedeniyle

nefrektomi zamanı olarak 24. ve 72. saatler belirlendi (28). Yirmidördüncü saate birinci gruptan beş, ikinci ve üçüncü gruptan yedişer, 72. saatte ise birinci gruptan beş, ikinci ve üçüncü gruptan sekizer farenin yaşamına son verilerek iki taraflı nefrektomi yapıldı.

Nefrektomi sonrası böbreğin alt 1/3 lük kısmı biyokimyasal tetkikler için -85° C de saklama işlemine tabi tutulurken, kalanı histopatolojik değerlendirme için ayrıldı. Alınan bu doku örnekleri hassas terazide tartılıp fosfat tamponu ile (1/10 ağırlık / hacim) homojenizatörde 1000 devirde ve ortalama 10 vuru yapılarak homojenize edildiler. Daha sonra da 600 grx10 dk ile santrifüj işlemi uygulandı. Elde olunan üst faz homojenatlarda süperoksit dismütaz (SOD), katalaz, malondialdehit (MDA) ve ksantin oksidaz tayini yapıldı. SOD tayini kalorimetrik yöntemle "U/g", katalaz ve ksantin oksidaz tayini UV spektrofotometre ile "U mg/pr" ve MDA tayini ise Lawr yöntemi ile "nmol/gr yaş doku" olarak belirlendi.

Histopatolojik inceleme için alınan dokular Patoloji Anabilim Dalı'nda bir saat B5 solusyonunda bekletilip %10 luk formalin ile tespit edildiler. Daha sonra hazırlanan para-

fin bloklardan alınan doku kesitleri hematoxilen eosin ile boyanıp ışık mikroskopuyla incelendi. Değerlendirme, Soles'in akut tubuler nekroz için kullandığı derecelendirme örnek alınarak yapıldı (4). Yirmidört saat sonunda alınan örnekler tubul epitel hücrelerindeki nekroza göre, 72 saat sonunda alınanlar ise nekroza ilave olarak ortaya çıkan rejeneratif bulgulara göre değerlendirildiler.

Çalışmamızda doku enzim düzeylerinin kontrol gruplarına ve birbirlerine göre farklılıklarının belirlenmesi student t testi ile, bu değerlerin histopatoloji ile korelasyonu ise Mann Whitney U testi ile yapıldı.

SONUÇ VE BULGULAR

Yirmidört saat sonunda iskemi uygulanmış böbreklerin tümünde nekrotik değişiklikler vardı. Kontrol olarak incelenen karşı taraf böbrekte ise histopatolojik değişiklik izlenmedi. Akut tübüler nekroz bulguları grup 2 ve grup 3 de grup 1'e göre daha şiddetliydi. Ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). uygulanan protokola göre elde edilen farklı histolojik görünüm Tablo 1 de özetlendi.

TABLO 1: İskemiden 24 Saat Sonra Grupların Histopatolojik Skorlaması.

Denek	Kontrol	İskemi	Kontrol	İskemi+ EGb 761	Kontrol	İskemi+ E vitamini
1	-	+	-	+++	-	+
2	-	-	-	++	-	+++
3	-	-	-	+++	-	+++
4	-	+	-	-	-	+
5	-	+++	-	++	-	+
6	-	-	-	+	-	+++
7	-	-	-	+++	-	++

(-) : Normal yada normale yakın görünüm,

(+) : Minimal nekroz, az sayıda tubul lümeninde nekrotik hücre kalıntısı,

(++) : Belirgin nekroz, bir çok tubul lümeninde nekrotik hücreler,

(+++): Şiddetli nekroz, tüm tubüllerde koagülasyon nekrozu.

TABLO 2: İskemiden 72 Saat Sonra Grupların Histopatolojik Skorlaması.

Denek	Kontrol	İskemi	Kontrol	İskemi+ EGb 761	Kontrol	İskemi+ E vitamini
1	-	++	-	++	-	++
2	-	++	-	+	-	++
3	-	++	-	+++	-	+
4	-	++	-	++	-	+
5	-	++	-	++	-	+++
6	-	++	-	+++	-	+++
7	-	++	-	++	-	+++
8	-	++	-	+++	-	+++

(-) : Normal yada normale yakın görünüm,
 (+) : Fokal minimal rejenerasyon bulguları,
 (++) : Yamasal tarzda yoğun rejene epitel özellikleri,
 (+++): Belirgin rejenerasyon bulguları.

İskemiden 72 saat sonra tüm böbreklerde değişik derecede yenilenme bulguları mevcuttu. Ancak grup 2 ve 3'ün grup 1 ile ve birbirleriyle olan karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Elde edilen yenilenmenin gruplara göre dağılımı Tablo 2 de özetlendi.

İskemi uygulanmış tüm gruplarda SOD değerlerinde kontrol değerlerine göre düşüş saptandı. Bu düşüş grup 1 ve 2 de birinci gün, grup 3 de ise üçüncü gün anlamlı bulundu ($p<0.05$). Gruplarda katalaz düzeylerindeki düşüş 24. saatte sadece grup 2'de anlamlı ($p<0.05$) bulunurken, 72. saatteki düşüşler tüm gruplarda anlamlı bulundu (Grup 1 ve 2 için $p<0.05$, $p<0.05$, grup 3 için $p<0.01$). Ksantin oksidaz düzeyleri 24. saatte grup 3 de düşerken diğer gruplarda yükseldi. Ancak değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yetmiş-ikinci saate tüm gruplarda ksantin oksidaz düzeylerinde yükselme saptandı. grup 2 deki yükselme anlamlı bulundu ($p<0.05$). MDA düzeyleri birinci gün sonunda tüm gruplarda yükselirken, üçüncü gün hepsinde düşüş saptandı. Bu düşüş sadece grup 2 de anlamlıydı ($p<0.05$). Çalışılan biyokimyasal tetkiklerin gruplara göre ortalama değerleri ve istatistiki değerlendirmesi Tablo 3 de özetlendi.

TARTIŞMA

Böbrek nakli sonrası greft fonksiyon yitiminin belirgin sebebi oksijen serbest radikallerinin aracılık ettiği iskemi - reperfüzyon hasarıdır. İskemiden dolayı gelişen renal hasar, morbiditeyi ve erken dönem böbrek kaybını artırır. Renal transplant sonrası oligüri kadavra böbrek alıcılarında, canlı böbrek alıcılarına göre daha sık görülmektedir (5, 6). Suprarenal anevrizma ve renal arter rekonstrüksiyonu da böbrek için bir iskemi reperfüzyon hasarı oluşturur. İskemi sonrası böbrek fonksiyon bozukluklarında en önemli rolü oksijen serbest radikalleri oynamaktadır (7).

Hücreler oksidatif hasarı önleyen yada kısmen azaltan mekanizmalara sahiptir. doku hasarına yol açan olayın tetikleme ile gelişen biyokimyasal olaylarda antioksidan-sistem yetersiz kalmaktadır. İskemik akut böbrek yetmezliğinin geriye dönebilmesi, böbrek tubuler hücrelerinin nefron boyunca hasarlı epitel hücrelerinin yerini alma ve yenileme yeteneğine bağlıdır. İskemik yapısal değişiklikler sitotoksik imün yanıtı başlatıp, renal tübüler hücrelerin yenilenme yeteneğini kısıtlayabilir (1,8).

Oksijen radikal temizleyicilerinin reperfüzyon sırasında verilmesinin endotel hü-

TABLO 3: Biyokimyasal tetkiklerin gruplara göre ortalama değerleri ve istatistisi değerlendirilmesi

SOD	Gün	Ortalama±OSH	P
İskemi	1	2.75±0.5866	p<0.05
İskemi + EGb 761	1	3.46±0.3519	NS
İskemi + E vit	1	3.5±0.5354	p<0.05
İskemi	3.	4.9±1.5307	NS
İskemi + EGb 761	3	3.83±0.8089	p<0.05
İskemi + E vit	3	3.82±0.6120	NS
Katalaz		Ortalama±OSH	P
İskemi	1	4.52±0.4597	NS
İskemi + EGb 761	1	4.28±0.1157	NS
İskemi + E vit	1	4.51±0.6680	p<0.05
İskemi	3	2.5±0.3851	p<0.05
İskemi + EGb 761	3	3.21±0.2434	p<0.01
İskemi + E vit	3	3.74±0.5424	p<0.05
Ksantin oksidaz		Ortalama±OSH	P
İskemi	1	0.18±0.0228	NS
İskemi + EGb 761	1	0.18±0.0283	NS
İskemi + E vit	1	0.19±0.0359	NS
İskemi	3	0.27±0.0177	NS
İskemi + EGb 761	3	0.4225±0.1044	NS
İskemi + E vit	3	0.82±0.282	p<0.05
MDA		Ortalama±OSH	P
İskemi	1	13.533±2.292	NS
İskemi + EGb 761	1	19.31±3.1384	NS
İskemi + E vit	1	18.828±2.1614	p<0.05
İskemi	3	15.375±4.587	NS
İskemi + EGb 761	3	16.571±1.5176	NS
İskemi + E vit	3	12.966±2.543	NS

OSH: Ortalama Standart Hata, NS: İstatistiksel olarak anlamlı değil

SOD: Süperoksit dismütaz

MDA: Malondialdehit

relerinde üretilen serbest radikallere karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Aktif oksijen türevlerinin direkt olarak ölçümünde zorluklarla karşılaşılmışından dolayı çalış-

malar serbest radikal oluşum inhibitörlerine (E vitamini) veya bu etkiyi ortadan kaldıran spesifik serbest radikal yokedicilerle (SOD, katalaz gibi) dayandırılmaktadır (9).

TABLO 3: Biyokimyasal Tetkiklerin Gruplara Göre Ortalama Değerleri Ve İstatistisi Değerlendirilmesi

SOD	Gün	Ortalama±OSH	P
İskemi	1	2.75±0.5866	p<0.05
İskemi + EGb 761	1	3.46±0.3519	NS
İskemi + E vit	1	3.5±0.5354	p<0.05
İskemi	3	4.9±1.5307	NS
İskemi + EGb 761	3	3.83±0.8089	p<0.05
İskemi + E vit	3	3.82±0.6120	NS
Katalaz		Ortalama±OSH	P
İskemi	1	4.52±0.4597	NS
İskemi + EGb 761	1	4.28±0.1157	NS
İskemi + E vit	1	4.51±0.6680	p<0.05
İskemi	3	2.5±0.3851	p<0.05
İskemi + EGb 761	3	3.21±0.2434	p<0.01
İskemi + E vit	3	3.74±0.5424	p<0.05
Ksantin oksidaz		Ortalama±OSH	P
İskemi	1	0.18±0.0228	NS
İskemi + EGb 761	1	0.18±0.0283	NS
İskemi + E vit	1	0.19±0.0359	NS
İskemi	3	0.27±0.0177	NS
İskemi + EGb 761	3	0.4225±0.1044	NS
İskemi + E vit	3	0.82±0.282	p<0.05
MDA		Ortalama±OSH	P
İskemi	1	13.533±2.292	NS
İskemi + EGb 761	1	19.31±3.1384	NS
İskemi + E vit	1	18.828±2.1614	p<0.05
İskemi	3	15.375±4.587	NS
İskemi + EGb 761	3	16.571±1.5176	NS
İskemi + E vit	3	12.966±2.543	NS

OSH: Ortalama Standart Hata, NS: İstatistiksel olarak anlamlı değil

SOD: Süperoksit dismutaz

MDA: Malondialdehit

Morfolojik ve lipid peroksidasyon temeline dayanan çalışmalar serbest radikallerden korumada en önemli alanı böbrek korteksi olarak göstermektedir (7). İskemik hasarı takiben ilk birkaç saatte hormonal ve nöral uyarılarla oluşan böbrekteki vazokontrüksiyon böbrek damar direncinin artışından sorumlu olabilir (1). Doppler ile renal akım ölçülerek reperfüzyonun 24. saatinde kan akımında %12-25 oranında düşme saptanmıştır. Damar direncinin azalması ise hücreyi koruyucu etki yapmaktadır (3). Serbest radikaller nötrofillerden çok endotel-

den salınırlar (10). İskemi-reperfüzyon sırasında oksidan veya oksidan uyarımlı trombosit aktivatörü (Platelet Activating Factor = PAF) gibi proenflamuar faktörler lenfositleri uyarıp, sonuçta nötrofil infiltrasyonunu başlatırlar (17). Nötrofillerin iskemiyi izleyen dönemde kalpte ve iskemik barsak mukozasında toplandıkları gösterilmiştir. Dahası nötropeni veya nötrofil yapışmasının engellenmesi barsak mukozasını iskemik sonrası reperfüzyon hasarından korumaktır (11). Trombosit Aktivatörü (PAF) hücre içi kalsiyum ve protein kinaz seviyesini artırır. Bun-

ların hücre içi seviyelerinin artması ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümünü artırır. Trombosit Aktivatörünün (PAF) asıl etki yeri nitrik oksit sentezidir (12). Trombosit Aktivatörü (PAF) düşük konsantrasyonlarda nitrik oksit salınımını artırarak arterioler dilatasyona, yüksek konsantrasyonlarda ise siklooksigenaz metabolitleri aracılığıyla vazokonstrüksiyona sebep olur. Yüksek düzey Trombosit Aktivatörünün (PAF) vazokonstrüktör etkisi belirgindir. Trombosit Aktivatörü (PAF) sitokin sentezini arttırarak glomeruloskleroz ve renal fonksiyon kaybına yol açabilir. İskemi reperfüzyon hasarında Trombosit Aktivatörü (PAF)'nın de etkili olduğu bu basamaklarda Trombosit Aktivatörü (PAF) antagonistlerinin böbrekte koruma sağlayabileceğini düşündük. Trombosit Aktivatörü (PAF) antagonisti EGb 761 in vivo ve invitro olarak damar geçirgenliğini azaltmakta ve hücre koruyucu etki göstermektedir (13). Ayrıca bazal proteaz seviyesini azaltıp, endotel Kökenli Gevşeme Faktörü'nün (Endotelial Derived Relaxing Factor) yarı ömrünü uzatır. Subkutan dokuda ağır iş yükü altındaki dokularda mikrosirkülasyonu ve oksijenizasyonu belirgin olarak düzelttiği Doppler USG ile gösterilmiştir. Kan ve plazma viskozitesi artan hastalıklarda, eritrosit ve trombosit çökmesine engel olur. Myokard iskemi ve reperfüzyonunda perfüzyon sıvısına eklenmesiyle aritmileri azaltır. Beyin mikrosirkülasyonunda hem arteriel hemde venöz sistemde hiperagregasyonu önler (14). Böbrek arteryelleri üzerine Trombosit Aktivatörü (PAF) ile yapılan çalışmalar nitrik oksit sentezi üzerindeki etkilerinin doza bağımlı olduğunu göstermektedir. Nitrik oksitin dışarıdan verilmesinin iskemik hasardan koruyucu olduğunu, ancak endojen nitrik oksit düzeylerinin iskemi reperfüzyonda rol oynamadığını bildiren çalışmalara karşın (15), sistemik L-arginin verilip endojen nitrik oksit üretimin artırılmasıyla tubuler ve glomeruler fonksiyonun korunmasının daha iyi olduğu da savunulmaktadır (16).

Yaptığımız çalışmada EGb 761 ile SOD, katalaz gibi serbest radikal yokediciler enzim düzeylerinin korunmadığını saptadık. Histopatolojik olarak da tedavi vermediğimiz gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme sağlanmadı. Ancak çalışmamızda gösterememiş olmamıza rağmen antioksidan etkinliği kesin olarak bilinen E vitamini verdiğimiz grupla aynı düzeyde rejenerasyonu arttırdığını saptadık PAF ve EGb 761 in nitrik oksit üzerinden olan etkilerini ve iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında ortaya çıkan Trombosit Aktivatörü (PAF) ve nitrik oksit düzeylerini saptayarak daha etkin düzeyde antagonizmla sağlanabilir.

E vitamini lipid perosidasyonunu belirgin olarak azaltmaktadır. İskemi-reperfüzyon hasarında koruyucu ajan çalışmaları dokuda E vitamin düzeyini veya lipid peroksidasyon ürünü MDA düzeyini ölçerek koruyuculuğu değerlendirmektedir. Desferosamin uygulaması dokuda iskemi-reperfüzyon sonrası E vitamini azalmasını engellemektedir (17). Lipid peroksidasyon şiddeti azaldığında mikrosirkulatuar akım korunmaktadır (18). E vitamini verdiğimiz grupta tedavinin birinci gününde SOD değerinin değişmediğini ve dolayısıyla iskemi reperfüzyon hasarından koruma yetersiz kaldığını gördük. MDA değeri de birinci gün beklediğimizin aksine, diğer gruplara göre belirgin olarak yükselmişti. Yine katalaz değeri hem birinci gün hem de üçüncü gün belirgin olarak düşüktü. Ksantinoksidaz ise üçüncü gün beklemediğimiz halde yüksekti. MDA değerinin belirgin olarak birinci gün yükselmesi dışarıdan verdiğimiz E vitamin doku düzeyindeki yükselmeyi sağlayacak kadar erken dönemde tedavi uygulamadığımızı düşündürdü. Üçüncü gün ise kendi kontrolüne göre MDA daki üçüncü gün gözlediğimiz düşmenin, verdiğimiz tedavinin geç dönemde etkin olduğunu gösterir. Erken dönemde de etkili olunabileceği perfüzyon sıvısına E vitamini eklenmesiyle MDA düzeylerinde düşme sağlanarak gösterilmiştir (20).

SOD, katalaz, ksantin oksidaz, MDA ve histopatoloji arasındaki ilişki sadece SOD ve katalaz düzeyleri açısından istatistiki olarak anlamlı bulundu. Serbest radikal temizleyicileri olan SOD ve katalaz değeri düşmesi ile histopatolojik greyt arasında ters bir ilişki mevcuttu. SOD ve katalazın eksojen verilmesiyle iskemi-reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi bilinmektedir. SOD ve katalaz düzeyleriyle negatif ilişki birinci gün nekrozun, üçüncü gün ise rejenerasyonun artışı anlamına gelmektedir. Ancak ne E vitamini ne de EGb 761, tedavi verilmeyen iskemik kontrol grubuna göre histopatolojik düzeyde koruyucu etki göstermedi. Üçüncü gün histopatolojik bulgularda yenilenmenin, hem E vitamini hem de EGg 761 verdiğimiz grupta arttığını gözlemekle beraber fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda normalde hücrede varolan SOD ve katalaz gibi serbest oksijen radikal

temizleyicilerinin azaldığını saptadık. MDA ve ksantin oksidazın ise daha erken dönemde en yüksek düzeye ulaşmaları nedeniyle birinci ve üçüncü gün sonunda anlamlı fark saptayamadık.

Araştırmalar antioksidanların reperfüzyon sırasında endotel hasarını azalttığını göstermektedir. Endotel bütünlüğü üzerine koruyucu etkileri deneysel çalışmalarda bildirilen Trombosit Aktivatörü (PAF) antagonistlerinin nitrik oksit üzerine olan etkilerinin ortaya konması ve doza bağlı değişimlerinin bilinmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak denek sayısının artırılmasıyla, tedavinin etkinliğinin daha iyi ortaya konulabileceği ve iskemi-reperfüzyon aşamasında salınan Trombosit Aktivatörü (PAF) düzeyinin deneysel çalışmalarla saptanarak, verilecek ideal EGb 761 dozunun belirlenip yararlı bir ajan olarak kullanıma girebileceği kanısına vardık.

KAYNAKLAR

1. Sakr M, Zetti G, Mc Lain G et al. The protective effect of FK 506 pretreatment against renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Transplantation*. 1992 ; 53 : 987-91.
2. Kaneko H, Schweizer RT. Venous flushing with vasodilators aids recovery of vasoconstricted and warm ischemic injured pig kidneys. *Trans Proc*. 1989 ; 21 (1) : 1233-5.
3. Vargas AV, Krishnamurti V, Masih R, Robinson AV, Schulak J. Prostaglandin E 1 attenuation of ischemic renal reperfusion injury in rat. *J Am Coll Surg* 1995 ; 180 (6) : 713-7.
4. Solez K, Maroger ML, Sraer JD. The morphology of acute tubular necrosis in man. *Medicine*. 1979 ; 58 (5) : 362-76.
5. Kjellstrand MC, Casali E, Simmons L, Shideman R, Buselmeier J, Najarian S. Etiology and prognosis in acute post-transplant renal failure. *Am J Med*. 1976 ; 61 : 190-9.
6. Flanigan J, Ardon F, Brewer E, Caldwell T. Etiology and diagnosis of early post transplantation oliguria. *Am J Surg*. 1976 ; 132 : 808-16.
7. Paller S, Hoidal J, Ferris F. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest*. 1984 ; 74 : 1156-64.
8. Shoskes DA, Halloren PF. Ischemic injury induces altered MHC gene expression in kidney by an interferon-gamma dependent pathway. *Transpl Proc*. 1991 ; 23 (1) : 499-601.
9. Koyama I, Bulkley B, Melville W, Michael I. The role of oxygen free radicals in mediating the reperfusion injury of cold preserved ischemic kidneys. *Transplantation*. 1985 ; 40 (6) : 590-5.
10. Ferrero ME, Corsi M, Parise A, Marni A, Gaja G. Defibrotid use during preservation favors the metabolic function of grafted kidneys in rats. *Trans Proc*. 1993 ; 25 (4) : 2531-3.
11. Hernandez L, Grisham MD, Twohig B, Arfoz KE, Harlen JM, Granger DN. Role of neutrophils in ischemia reperfusion induced microvascular injury. *Am J Physiol*. 1987 ; 253 : 4699.
12. Arima S, Ren Y, Juncos A, Ito S. Platelet activating Factor dilates efferent arterioles through glomerulus-derived nitric oxide. *J Am Soc Nephrol* 1996 ; 7 : 90-6.
13. Schattuer FK. Clinical results on mhemorheological effects of ginkgo biloba extract. *Haemostasiology*. 1993 ; 13 : 35-42.
14. DeFeudis FV. *Ginkgo biloba extract (EGb 761): Pharmacological activities and clinical applications. In vivo studies with EGb 761*. Paris: Elsevier, 1991 ; 61-7.
15. Lopez N, Paez AJ, Toledo AH, Toledo P. Role of nitric oxide in ischemia reperfusion of rat kidney. *Circ Shock*. 1994 ; 44 (2) : 91-5.
16. Dagher F, Pallina RM, Rogers DM. The value and li-

mitations of L-arginin infusion on glomerular and tubular function in the ischemic/reperfused kidney. *J Vasc Surg* 1995 ; 21 (3) : 453-8.

17. Fuller BJ, Lunec J, Healing G, Simpkin S, Green CJ. Reduction of susceptibility to lipid peroxidation by, desferrioxamine in rabbit kidneys subjected to 24-hour cold ischemia and reperfusion. *Transplantation*. 1986 ; 43 (4) : 604-6.

18. De Faigne JO, Pincemal J, Detry D, Franssen C, Meurisse M, Limet R. Preservation of cortical microcirculation after kidney ischemia -reperfusion: value of an iron chelator. *Ann Vasc Surg*. 1994 ; 8 (5) : 457-67.

19. Lee KC, Hamel DW, Kunbel S. Rodent model of renal ischemia and reperfusion injury influence of body temperature, seasonal variation, tumor necrosis factor, endogenous and exogenous antioxidant. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1993 ; 15 (3) : 153-9.

20. Demirbaş A, Bozuklu S, Özdemir A, Bilgin N, Haberal M, Effect of alfa Tocopherol on the prevention of reperfusion injury caused by free oxygen radicals in the canine kidney autotransplantation model. *Transpl Proc*. 1993 ; 25 (3) : 2274.