

Böbreğin sıcak iske-mi-reperfüzyon hasarından korunmasında verapamil, kaptopril ve GBE'nin etkilerinin karşılaştırılması*

Selçuk OTÇU, Mehmet ÖZER, Hayrettin ÖZTÜRK, Ali İhsan DOKUCU, Ayten GEZİCİ, Selçuk YÜCESAN

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi ve Nükleer Tıp Anabilim Dalları, Çocuk Hastalıkları Hastanesi, Diyarbakır ve Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Şanlı Urfa

Özet

Böbrek nakillerinde sıcak iske-miye bağlı hasarlanma önemli bir sakıncadır. Çalışmamızda değişik etki mekanizmalarına sahip, verapamil, kaptopril ve Ginkgo-Biloba Ekstratı (GBE), böbrekte sıcak iske-mi-reperfüzyon hasarı sonrası ortaya çıkan olumsuz etkileri ortadan kaldırabilmeleri yönünden karşılaştırılmıştır. Bu amaçla Sprague-Dawley cinsi 50 adet sıçandan oluşan 5 grup oluşturuldu. Sham grubunda sadece sağ nefrektomi, diğer gruplarda ise sağ nefrektomiye ek olarak sol böbrekte 30 dk'lık iske-mi sonrasında 60 dk. reperfüzyon uygulandı. Kalan dört gruptan üçünde iske-mi öncesi verapamil, kaptopril veya GBE verilirken dördüncü grup da kontrol grubunu oluşturdu. Tüm sıçanların postoperatif 8. günde Tc-99m DMSA sintigrafisi çekildikten ve serum üre, kreatinin ölçümleri yapıldıktan sonra sol nefrektomi uygulandı ve böbrekler histopatolojik değerlendirilmeye alındı.

Üç tedavi grubunda saptanan ortalama serum üre ve kreatinin değerleri kontrol grubundan belirgin olarak düşük, radyoizotop tutulumları da belirgin olarak yüksek bulunmuştur. Tedavi grupları kendi aralarında karşılaştırıldıklarında ise GBE grubunda serum üre ve kreatinin düzeyleri diğerlerine göre farklı bulunmazken ($p>0.05$), böbreğin radyoizotop tutulumu belirgin olarak daha yüksektir ve gruplar arasında saptanan bu fark istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0.05$). Histopatolojik olarak kontrol grubunda yaygın nekroz saptanırken, kaptopril, verapamil grubunda nekrozun daha az geliştiği, GBE grubunda glomerül ve distal tubullerin korunduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak çalışmamızda kullanılan her üç ajan da böbreğin sıcak iske-miden korunmasında etkili bulunmuştur. Bu koruyucu etkinin GBE ile daha belirgin olduğu gözlenmektedir.

Anahtar kelimeler: İske-mi-reperfüzyon hasarı, böbrek, verapamil, ginkgo-biloba-extract, kaptopril

Summary

Comparison of the therapeutic efficiency of verapamil, captopril and GBE, in prevention of the warm ischemia-reperfusion injury of kidneys

Injury related to warm ischemia is a problem in renal transplantation. In this study the therapeutic efficiency of verapamil, captopril and Ginkgo-Biloba-Extract (GBE) in prevention of the warm ischemia reperfusion injury is investigated. Fifty Sprague-Dawley rats were divided in 5 groups. Right nephrectomy was performed in the sham group while a right nephrectomy and a 30 minute ischemia and 60 minute reperfusion was applied to the left kidney in the remaining groups. Among the remaining 4 groups verapamil, captopril and GBE were administered before the ischemia while the fourth group formed the control group. All rats had a left nephrectomy on the 8th postoperative day after having a Tc 99m DMSA scintigraphy and blood urea, creatinine sampling. Kidneys were histopathologically investigated.

In the three treatment groups, blood urea and creatinine levels were significantly lower than the control group and radioisotope uptake was significantly higher. When treatment groups are compared among each other, although there is no significant change in the blood urea and creatinine levels ($p>0.05$), radioisotope uptake is significantly higher in the GBE group and the results are statistically significant ($p<0.05$). Histopathologically the control group revealed gross necrosis while the captopril and verapamil group had less necrosis and glomeruli and distal tubules were preserved in the GBE group.

As a conclusion, all three agents are effective in preventing warm ischemia of the kidney. GBE has a more potent effect in the prevention mechanism.

Key words: Ischemia-reperfusion injury, renal, verapamil, ginkgo-biloba-extract, captopril

* XVI. Ulusal Çocuk Cerrahisi Kongresinde serbest bildiri olarak sunulmuştur (14-17 Ekim 1998, Antalya)

Adres: Dr. Selçuk Otçu, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, Diyarbakır.

Yayına Kabul Tarihi: 15.9.2000

Giriş

Böbrek iske-mi-reperfüzyon hasarı; şokta, sepsiste, doku reddinde, travmada, multipl organ yetmezliğinin

de ortaya çıkar ve akut tübüler nekroz gelişimiyle birlikte, glomerüler filtrasyon hızında azalma ve sonuçta akut böbrek yetmezliği ile sonuçlanır. (1,2,8). Hipoksi ve kan akımında yavaşlama ile giden böbreğin sıcak iskemî-reperfüzyon hasarında nötrofiller, endotelin-1, trombosit aktive edici faktör (TAF), lökotrien B4 ve oksijen metabolitleri gibi proinflatuvar maddeler yanında (1,2,11), koruyucu olarak bilinen adenozin, nitrik oksit (NO) ve prostaglandin I2 salgınır (6,19).

Çalışmamızın amacı, farklı etki mekanizmaları olduğu bilinen, Verapamil, Kaptopril ve Ginkgo-Biloba Ekstratı (GBE)'nin sıcak iskemî uygulanan sıçan böbreğinde ortaya çıkan doku hasarı üzerine koruyucu etkilerini karşılaştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Deney modeli: Çalışmamızda ortalama ağırlığı 296 (225-390) gr olan Sprague-Dawley cinsi 50 adet erkek sıçan kullandık. Her biri 10 denekten oluşan 5 grup oluşturuldu. Deneklere ameliyat öncesi su ve yiyecek kısıtlaması uygulanmadı. 25mg/kg dozunda im. Ketamin hidroklorür ile genel anestezi sağlandıktan sonra karın derisi %10 polividin-iyod solüsyonuyla silinerek örtüldü, karın ortahat insizyonu ile açıldı. Sağ nefrektomi uygulandı ve sol böbrek arteri atravmatik Yaşargil anevrizma klipi ile tıkandı. 60 dakikalık iskemî sonrası klip çıkarılarak reperfüzyon sağlandı ve karın anatomisine uygun olarak kapatıldı.

Ameliyat sonrası 8. günde Tc-99m DMSA sintigrafisi çekilerek böbreğin radyoizotop tutma yüzdesi ve serum üre, kreatinin düzey ölçümleri yapıldıktan sonra, sıçanlar kurban edilerek sol böbrekleri histopatolojik değerlendirmeye alındı.

Deney protokolü: Sham grubunda yalnızca sağ nefrektomi uygulandı. Kontrol grubunda sağ nefrektomi ve 60 dakika sol böbrek iskemî sonrasında reperfüzyon uygulandı. Verapamil grubunda laparotomiden 5 dk önce 0.3 mg/kg dozunda iv. olarak verapamil (İsopamil, İbrahim Ethem, İstanbul) verildi. Sağ nefrektomi ve 60 dakika sol böbrek iskemî sonrasında reperfüzyon sağlandı. GBE grubunda laparotomiden 1 saat önce 50 mg/kg dozunda iv. GBE (Ginkgolide A, Sigma Chemical, St. Louis, MO) ve-

rildi. Sağ nefrektomi ve 60 dakika sol böbrek iskemî sonrasında yine reperfüzyon sağlandı. Kaptopril grubunda da Laparotomiden 30 dk önce 5 mg/kg iv olarak kaptopril (Captopril, Sigma Chemical, St. Louis, MO) verildikten sonra diğer gruplardaki işlemler tekrarlandı.

Tc-99m DMSA sintigrafisi için sıçanların dorsal penil veninden 1 mikrocuri radyoizotop verilerek böbrek tutulumu yüzde olarak kaydedildi.

Histopatolojik değerlendirme: Bir hafta süre ile %10'luk formalin solüsyonunda bekletilen örnekler daha sonra parafin takibine alındı. Elde edilen parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınarak Hemotoksilen-Eozin (H-E) boyası ile boyandı ve preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

İstatistiksel analiz: Ameliyat sonrası 8. Günde Tc-99m DMSA sintigrafisinde elde edilen radyoizotopun böbrek tutulumu (%), serum üre ve serum kreatinin için hesaplanan ortalama değerler Mann Whitney U testi kullanılarak analiz edildi; 0.05'den küçük p değeri anlamlı kabul edildi.

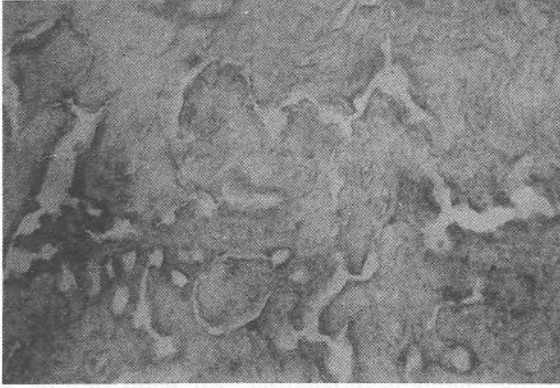
Bulgular

Gruplar için saptanan ortalama radyoizotop tutulumu, serum üre ve kreatinin değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Böbrekte radyoizotop tutulumunun kontrol grubunda sham grubuna göre belirgin derecede azaldığı, üre ve kreatinin değerlerinin ise arttığı saptandı (p<0.001, p<0.001, p<0.05).

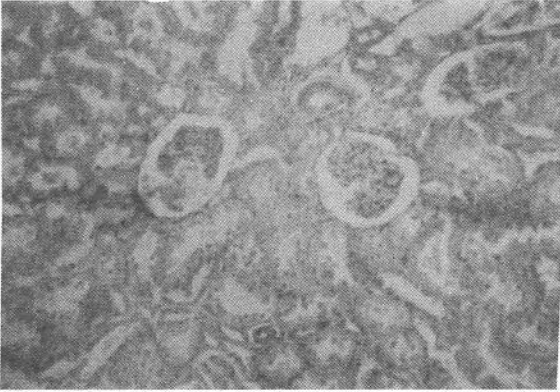
Tüm tedavi gruplarında (verapamil, kaptopril ve GBE) saptanan serum üre ve kreatinin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük bulunurken, böbrekte radyoizotop tutulumu belirgin olarak yüksektir.

Tablo 1. Gruplarda saptanan sintigrafi verileri ve laboratuvar sonuçları (Ortalama±SD).

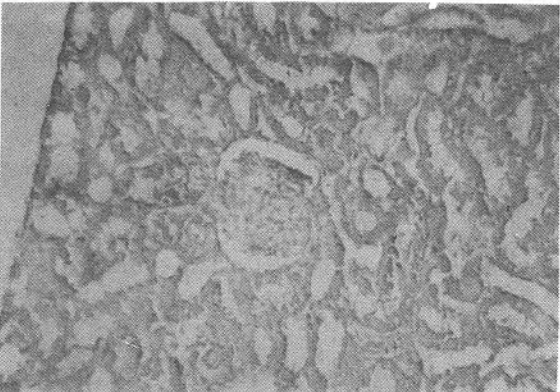
	Üre (mg/dL)	Kreatinin (mg/dL)	Sol renal (uptake %)
Sham	41.7±2.3	0.65 ±0.03	14.54±1.7
Kontrol	58.2±2.1	0.98±0.05	10.15±1.3
Verapamil	50.6±1.7	0.68±0.02	11.78±1.1
Kaptopril	50.3±1.8	0.67±0.01	12.48±1.2
GBE	48.3±1.3	0.66±0.03	14.26±1.2



Resim 1. Kontrol grubunun böbrek kesitlerinde; ağır iskemi, hücre koagülasyon nekrozu ve belirgin yaygın nekroz görülmektedir (HEx100).



Resim 2. Kaptopril ve Verapamil grubunun böbrek kesitlerinde, glomerül, proksimal ve distal tübüller daha az korunmuş ve yer yer nekroz izlenmektedir (HEx100).



Resim 3. GBE grubunda glomerül ve distal tübüller korunmuş proksimal tübüllerin ancak bir kısmı korunabilmiştir. Yaygın nekroz ise diğer gruplara göre belirgin azdır (HEx100).

Tedavi grupları arasında, serum üre ve kreatinin düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık saptanmazken ($p>0.05$), böbrekte radyoizotop tutulumu GBE grubunda, diğer iki gruptan belirgin olarak yüksektir ve

bu fark istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0.05$).

Histopatolojik olarak sham grubunda glomerüllerde hipertrofi izlendi. Kontrol grubunda ise ağır iskemi ve belirgin yaygın nekroz saptandı (Resim 1). Verapamil ve Kaptopril grubunun her ikisinde de glomerüller, proksimal ve distal tübüller daha az korunmuş ve yer yer nekroz gözlenmiştir (Resim 2). GBE grubunda glomerül ve distal tübüllerin daha iyi korunmuş olmasının yanında proksimal tübüllerin ancak bir kısmının korunabildiği izlenmektedir (Resim 3). Bunun yanında bu grupta yaygın nekroz belirgin azalmıştır.

Tartışma

Kadavra donör böbreği kullanılarak uygulanan böbrek transplantasyonu sonrası % 30-60, canlı donör kullanılan böbrek transplantasyonlarında ise % 10'un üzerinde akut böbrek yetmezliği geliştiği ve transplantasyonlarda iskemi-reperfüzyon hasarının organ kayıplarının önde gelen nedeni olduğu bildirilmiştir (1,2,18). İskemi esnasında hücre membranındaki transport mekanizması bozulmakta ve hücre içine girişi artan kalsiyum, proteazla birlikte serbest oksijen metabolitlerinin artmasına, dolayısıyla doku hasarının gelişimine neden olmaktadır (5,12,16). Verapamil güçlü bir damar genişletici olup, etkisini kalsiyum blokajına ilaveten alfa adrenerjik reseptör blokajı ve trombosit agregasyonunu engelleyerek gösterdiği bildirilmiştir (4,14). Elkadi ve arkadaşları (5) köpeklerde böbrekte sıcak iskemi oluşturup iskemiden 30 dk önce verapamil ve nicardipin vererek yaptıkları çalışmalarında, kontrol grubuna göre üre ve kreatinin düzeylerinin ilaç tedavisi alan grupta normale yakın bulunduğunu, total adenin nükleotid düzeyi ve böbrek kan akımının anlamlı derecede yükseldiğini bildirilmişlerdir. Mills ve arkadaşları (12) sıçanlarda böbrekte sıcak iskemi oluşturarak yaptıkları çalışmalarında, sadece "Euro-Collins" çözeltisi verilen gruba göre, birlikte kalsiyum kanal blokajı verilen grupta GFR ve fraksiyonel sodyum geri emiliminde önemli bir artış saptamışlar ancak idrar volümünde farklılık bulmamışlardır. Toronyi ve arkadaşları (17) ise 30 dakikalık böbrek iskemisi sonrası ilk 24 saatte kalsiyum kanal blokajı verapamil, bepridil ve nifedipin verilerek yaptıkları çalışmalarında, kullanılan tüm ajanların apoptozis derecesini ve oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir.

Böbrek iskemî-reperfüzyon hasarı sonucunda renin anjiyotensin sistemi aktive olarak preglomerüler vazokonstriksiyon gelişmesine neden olur ve GFR azalır^(9,13). Kaptopril ise anjiyotensin dönüştürücü enzimin özgün bir inhibitörüdür^(9,13). Oosterlinck ve arkadaşları⁽¹³⁾ sıçanlarda sağ nefrektomiye takiben sol böbreğe 90 dakika sıcak iskemî uyguladıklarında, iskemî öncesi kaptopril uygulanan grupta serum kreatinin düzeyinin kontrol grubuna göre daha iyi değerlerde olduğu ve dolayısıyla kaptopril'in sıcak iskemîye bağlı gelişen böbrek fonksiyon bozukluğunu anlamlı derecede düzelttiğini bildirmişlerdir. Günel ve arkadaşları⁽⁹⁾ ise sıçanlarda yaptıkları 60 dakika sol böbrek iskemî-reperfüzyon çalışmalarında, kaptopril verilen grupta damarsal endoteliumdan endotelinin salınımının artırdığını ve böbrek hasarının bu grupta daha az ortaya çıktığını ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda kullandığımız bir kalsiyum kanal blokeri olan verapamil ve anjiyotensin dönüştürücü enzimin spesifik inhibitörü kaptopril, iskemî-reperfüzyon hasarı sonrası böbrekte radyoizotop tutulumu yüzdesinde, üre ve kreatinin ortalama değerlerinde iyileşme ve tübüler hasarlanmada da azalma sağlamışlardır.

TAF, serotonin, reaktif oksijen radikalleri ve vazoaaktif maddelerin salınımını etkileyerek doku hasarı oluşumuna, glomerüler filtrasyon hızı ve renal plazma akımının azalmasına ve damarsal geçirgenliğin artmasına neden olmaktadır^(3,7,10). GBE ise bir TAF antagonisti olup, TAF'ın neden olduğu endotelial geçirgenlik artışını engellediği ileri sürülmüştür^(3,7). Otamiri ve arkadaşları⁽¹⁵⁾ GBE'nin nötrofil birikimi ve yağ peroksidasyonunu engelleyerek barsak mukozasını iskemik hasardan koruduğunu göstermişlerdir. Butterly ve arkadaşları⁽³⁾ GBE'nin bir ürünü olan BN 52021'i transplantasyondan önce 6 gün boyunca 60mg/kg/gün dozunda verdiklerinde GFR ve renal plazma akımının anlamlı derecede korunduğunu, tromboksan A2 ve tromboksan B2 üretiminin kontrol grubuna göre oldukça düşük düzeyde kaldığını, ancak lökotrienlerde anlamlı değişiklik olmadığını saptamışlardır. Çalışmamızda GBE kullandığımız grupta kontrol grubuna göre ortalama serum üre ve kreatinin değerlerinin yükselmediğini, böbrekte radyoizotop tutulumu açısından kontrol grubu ile aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptadık. Histopatolojik değerlendirmede ise nekrozun belirgin olarak azaldığını ve glomerül-

ler ve distal tübüllerin korunduğunu ve ayrıca bu sonuçların verapamil ve kaptopril gruplarından elde ettiğimiz sonuçlardan daha iyi olduğunu gözledik.

Sonuç olarak, iskemî-reperfüzyon hasarının gelişmesine neden olduğu ileri sürülen ve değişik mekanizmalara etkileri olan verapamil, GBE ve kaptopril, böbreğin sıcak iskemiden korunmasında etkili ajanlar olarak bulunmuştur. Bu anlamda GBE'nin etkileri diğer iki ajandan daha belirgindir.

Kaynaklar

1. Baker GL, Corry RJ, Anne P: Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. *Ann Surg* 12: 628, 1985
2. Baron P, Gomez MO, Casas C, et al: Renal preservation after warm ischemia using oxygen free radical scavengers to prevent reperfusion injury. *J Surg Res* 51:60, 1991
3. Butterly DW, Spurney RF, Ruiz P, et al: Role of platelet-activating factor in kidney transplant rejection in the rat. *Kidney Int* 48:337, 1995
4. Eisenger DR, Suranyi MG, Bracs P, et al: Effects of verapamil in the prevention of warm ischemia induced acute renal failure in dogs. *Aust N Z J Surg* 55:391, 1985
5. Elkadi HK, Mardan AH, Southard JH, et al: The role of calcium antagonists in the management of renal warm ischemia. *J Urol* 14: 974, 1988
6. Engler RL, Gruber HE: Adenosine; An autacoid. In Fozzard HA (ed): *The Heart and Cardiovascular System*. 2nd ed. New York, Raven Press, 1991, pp 1745-1764
7. Farre AL, Torralba M, Lopez-Novoa JM: Glomeruli from ischemic rat kidneys produce amounts of platelet activating factor. *Bio And Biophys Res Com* 152:129, 1988
8. Greenstein A, Arovot D, Braf Z: The role of oxygen free radicals and prostaglandins in reperfusion injury to warm ischemic kidneys. *Urol Res* 19:393, 1991
9. Günel O, Aktan AÖ, Yeğen C, et al: Captopril prevents the oxidative damage to proteins after renal ischemia reperfusion injury: Role of endothelin-1. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 56:23, 1997
10. Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B: Role of neutrophils in ischemia-reperfusion induced microvascular injury. *Am J Physiol* 253:699, 1987
11. Lefer AM, Lefer DJ: Pharmacology of the endothelium in ischemia -reperfusion and circulatory shock. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 33: 71,1993
12. Mills S, Chan L, Schwertschlag U, et al: The protective effect of verapamil on renal function following warm and cold ischemia. *Transplantation* 43:928, 1986
13. Oosterlinck W, Roelandt R, Praet M: Captopril : A protective agent in renal warm ischemia in rats. *Eur Urol* 11:36, 1985
14. Oppenheimer F, Alcaraz A, Manalich M, et al: Influence of the calcium blocker diltiazem on prevention of acute renal failure after renal transplantation. *Transpl Proc* 24:50, 1992
15. Otamiri T, Tagesson C: Gingko Biloba Extract prevents mucosal damage associated with small intestinal ischemia. *J Gastroenterol* 24:666,1989

16. Shapiro JI, Cheung C, Itabashi A, et al: The effect of verapamil on renal function after warm and cold renal ischemia in the isolated perfused rat kidney. Transplantation 40:596, 1985
17. Toronyi E, Hamar J, Perner F, et al: Prevention of apoptosis reperfusion renal injury by calcium channel blockers. Exp Toxicol Pathol 51:209, 1999

18. Weight SC, Furness PN, Nicholson ML: New model of renal warm ischaemia-reperfusion injury for comparative functional, morphological and pathophysiological studies. Br J Surg 85:1669, 1998
19. Zimmerman BJ and Granger DN: Reperfusion injury. Surg Clin North Am 72:65, 1992

PEDİATRİK CERRAHİ DERGİSİNE ABONE OLUNUZ !

Pediatric Cerrahi Dergisi, 1998 yılı 3 sayı bedeli Uzman Doktorlar için 10.000.000.- TL, Asistan Doktorlar için ise 7.500.000.- TL'dir (KDV dahil). Abone olmak isteyenlerin, abone bedelini "**Türkiye Çocuk Cerrahisi Derneği Yapı Kredi Bankası Gazi Üniversitesi Hastanesi Şubesi 1030451-9**" no'lu hesabına yatırmaları ve dekontun kopyasını "**Pediatric Cerrahi Dergisi Editörlüğü Eyüppaşa Sok. No:18/38 Feneryolu 81040 İstanbul**" adresine göndermeleri gereklidir.