

Renal İskemi-Reperfüzyon Hasarının Azaltılmasında Trimetazidinin Rolü: Deneysel Çalışma

Ali Rahman*, Bilal Üstündağ**, Ahmet Çekirdekçi*, İbrahim H.Özercan***, İhsan S. Uyar*, Oktay Burma*

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi ABD

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD

*** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD

ÖZET

Renal iskemi-reperfüzyon (İ-R) hasarını değerlendirmek üzere 60 dakika iskemiye takiben 24 saatlik reperfüzyon uygulanan ratlarda böbrek dokusu Malondialdehid (MDA) konsantrasyonu, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri belirlendi. Yirmi rat kontrol (Grup I) ve trimetazidin -TMZ- (Grup II) olarak 2 eşit gruba ayrıldı. Kontrol değerler için iskemi öncesinde sağ nefrektomi yapıldı. 24. saatte histopatolojik-biyokimyasal inceleme için sol böbrek çıkarıldı.

MDA düzeyleri 24. saatte arttı (Grup I: $p<0.01$, Grup II: $p<0.05$), fakat Grup I'deki artış Grup II'ye göre anlamlıydı ($p<0.01$). Aynı dönemde Grup I GSH-Px ve SOD aktiviteleri azalırken ($p<0.05$), Grup II'deki değişimler anlamlı bulunmadı. TMZ grubunda reperfüzyon sonrası histopatolojik akut tubuler nekroz evresi 1.5 bulundu ve bu değer kontrol gruba göre anlamlıydı ($p<0.01$). TMZ'nin serbest oksijen radikallerinin aracılık ettiği renal hasara karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Böbrek, iskemi-reperfüzyon, lipid peroksidasyonu, akut tubuler nekroz, trimetazidin

SUMMARY

THE EFFECT OF TRIMETAZIDINE IN EXPERIMENTAL RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION

The effect of ischemia reperfusion on kidneys, tissue malondialdehyde (MDA) concentration, Glutathion Peroxidase (GSH-Px) and Superoxide Dismutase (SOD) activities were measured in 20 rats subject to occlusion of the left renal artery for 60 min followed by 24 hours reperfusion. The animals were separated in two equal groups: Group I (control) and Group II (TMZ). A right nephrectomy was performed at the beginning of the ischemic period for control on each groups. After 24 h, tissue samples were taken for histopathological and biochemical examination.

After 24 h of reperfusion, the MDA levels significantly increased (Group I: $p<0.001$ and Group II: $p<0.01$, respectively), but the MDA levels in the Group I were found to be significantly elevated when compared with the Group II ($P<0.01$). GSH-Px and SOD activity significantly decreased in the Group I ($p<0.05$). SOD and GSH-Px activity changes of the Group II were not meaningful. The TMZ group had a acute tubuler necrosis grade of 1.5 which was significantly lower than in group I ($p<0.01$).

It is suggested that TMZ is a useful protective agent of renal damage from oxygen free radicals.

Key Words: Renal, ischemia-reperfusion, lipid peroxidation, acute tubuler necrosis, trimetazidin

Renal iskemi, şok, torakoabdominal aort cerrahisi, renal arter cerrahisi ve renal transplantasyon sonrasında sık olarak karşılaşılan bir patolojidir. Reperfüzyonla takip edilen iskemi, hücre hasarı ve organ disfonksiyonuna yol açan proinflatuar bir cevabı indükler (1,2). İskemi ve sonrasında reperfüzyonun sebep olduğu renal yetmezlikte temel olay pek çok sayıda hücrenin kaybı veya ölümü ile karakterize tübüler fonksiyon kaybıdır (3). Renal iskemi - reperfüzyon (İ-R) injürisi renal kan akı-

mında azalma, azalmış glomerüler filtrasyon, artmış natriürezis ve bozulmuş konsantrasyon yeteneği ile karakterizedir.

Günümüzde transplantasyon sayısındaki artışa rağmen, transplant sonrası greft fonksiyon kaybı ciddi bir komplikasyon olarak önemini korumaktadır. Bu olayı azaltmaya yönelik hipotermik saklama solüsyonları yaygın olarak kullanılmasına rağmen renal transplantasyonu takiben akut tubuler nekroz gelişimi kadavradan alınan böbreklerde % 35-50, canlıdan alınanlarda

% 10 gibi yüksek oranlarda izlenmektedir (5). Renal reperfüzyon injürisinde pek çok olay suçlanmış olmasına rağmen ortaya çıkan güçlü inflamatuvar yanıt temel olaydır (4). İskemi ve sonrasında reperfüzyon ile serbest oksijen radikal (SOR) üretimindeki artış defans sistemindeki radikal temizleyicilerle giderilmeye çalışılır (6,7). Eğer SOR üretimindeki artış bu antioksidan kapasiteyi aşarsa yaygın doku hasarı gelişir (8). Reperfüzyon sonrası açığa çıkan oksidanlar tümör nekrotizan faktör (TNF) gibi inflamatuvar indüksiyona yol açan maddelerin sentezini artırır. TNF üretimindeki artış ise renal hücre apoptozisini indükler (4,9). SOR'lar inflamatuvar hücrelerin birikimini de artırarak mikrovasküler disfonksiyona yol açarlar (10).

Reperfüzyon hasarını azaltmak amacıyla eksojen olarak koruyucu ajanların verilmesi düzeltici etki gösterir. Myokardiyal iskemiyi azaltıcı özelliğe sahip olan Trimetazidin (TMZ) de pek çok deneysel iskemik modellerinde kullanılmıştır (5,10,11,12,13).

Biz de ratlarda oluşturduğumuz renal iskemik-reperfüzyon modelinde TMZ'nin koruyucu etkisi olup olmadığını biyokimyasal ve histopatolojik olarak araştırdık.

MATERYAL METOD

Ağırlıkları 220-270 gr arasında değişen toplam 20 adet rat rastgele olarak iki gruba ayrıldı: Grup I (kontrol grubu, n : 10) ve Grup II (tedavi grubu, n : 10). Tüm ratlara iskemik öncesinde yedi gün süreyle gastrik gavaj yoluyla günde iki kez medikasyon uygulandı. Birinci grupta yer alan ratlara medikasyon olarak 2 ml SF, ikinci gruptaki ratlara da aynı miktarda SF içerisinde 5 mg/kg TMZ verildi. Bu amaçla Servier firması tarafından Fransa'dan getirtilen 20 mg katkısız Trimetazidin kapsüller kullanıldı. Yedinci günde Ketamine (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) - Xylazine (Rompun ; Bayer, Germany) anestezi ile midline laparotomi yapıldı. İntraperitoneal olarak her iki böbreğe ulaşıldı; bazal değerleri belirlemek amacıyla sağ nefrektomi yapıldı. Daha sonra sol renal arter pediküllü olarak klempe edildi. 60 dakika iskemiyi takiben vasküler klempe kaldırıldı, renal arter akımının yeniden başladığı görüldükten sonra batın iki kat olarak kapatıldı. Reperfüzyonun yirmidördüncü saatinde batın tekrar açılarak sol nefrektomi yapıldı, ratlardan alınan sağ ve sol böbrekler SF ile yıkanarak iki eşit parçaya ayrıldı, parçalardan bir tanesi histopatolojik inceleme için % 10 formaldehid solüsyonuna konurken diğer parça alümin-

yum folyoya sarılarak biyokimyasal inceleme yapılabileceği kadar - 70°C'de saklandı.

Biyokimyasal değerlendirme:

Böbrek dokusu MDA (malondialdehit) düzeylerinde Ohkawa ve arkadaşlarının (14) Thiobarbituric acid reaksiyon metodu kullanıldı. 532 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılarak MDA düzeyleri hesaplandı. Doku protein düzeyleri Lowry metodu ile ölçüldü (15).

GSH-Px (glutatyon peroksidaz) aktivitesi Paglia tarafından geliştirilen ve NADPH'nin glutatyon reduktaz enzimi ile oksidasyonu esasına dayalı çalışan metodla ölçüldü (16). Değerler U/mg protein olarak belirlendi.

SOD (süperoksit dismutaz) aktivite düzeyi ise Oberley tarafından belirtilen yöntemle belirlendi ve değerler U/mg protein olarak verildi (17).

Histopatolojik inceleme:

Dokular 5 µm kalınlığında kesilerek parafin bloklarına gömüldü, doku örnekleri hematoksi-len eozin ile boyanarak ışık mikroskobu ile tüm sahalarda değerlendirildi. İncelemede Klausner kriterleri (18) kullanıldı: Evre 0: Normal böbrek görünümü, Evre 1: tüm sahalarda %5'den daha az nekroz, Evre 2 : tüm sahalarda %5-25 nekroz, Evre 3: tüm sahalarda %25-75 nekroz, Evre 4: tüm sahalarda %75' fazla nekroz. Ayrıca hücre şişmesi, vakuolizasyon, konjesyon ve infiltrasyon durumları da değerlendirildi.

İstatistik:

Elde edilen tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon, gruplar arası karşılaştırmalarda ise Mann-Witney U testleri kullanıldı ve p < 0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

SONUÇLAR

Şekil 1'de gösterildiği gibi iskemik sonrası reperfüzyonun 24. saatinde MDA düzeyleri her iki grupta da arttı: Grup I 4.39'dan 7.10 nmol MDA/mg protein'e (p<0.001), Grup II 4.10'dan 4.67 nmol MDA/mg protein'e (p<0.01). Ancak grup I'deki artış Grup II'ye göre anlamlı idi (p< 0.01).

Reperfüzyonun 24. saatinde elde edilen GSH-Px değerleri incelendiğinde Grup I'deki düşüş (141.19 + 11.77 'den 125.3 + 12.05 U/mg protein'e) anlamlı iken (p< 0.05), Grup II'deki düşüş (134.57 + 12.05 'den 129.80 + 9.21 U/mg protein'e) anlamlı değildi (Şekil 2).

Grup I' de elde edilen SOD değerleri reperfüzyon sonrasında anlamlı olarak azalırken

Hemashield Finesse™

Ultra- Thin, Knitted Cardiovascular Patch

The synthetic patch that feels more like vein.



**Boston Scientific
Tıp Gereçleri Ltd. Şti.**

Merkez:

60. Sokak No: 50
Emek 06510
ANKARA

Tel : 0312-212 58 29 (pbx)
Fax : 0312-215 19 31

Şube:

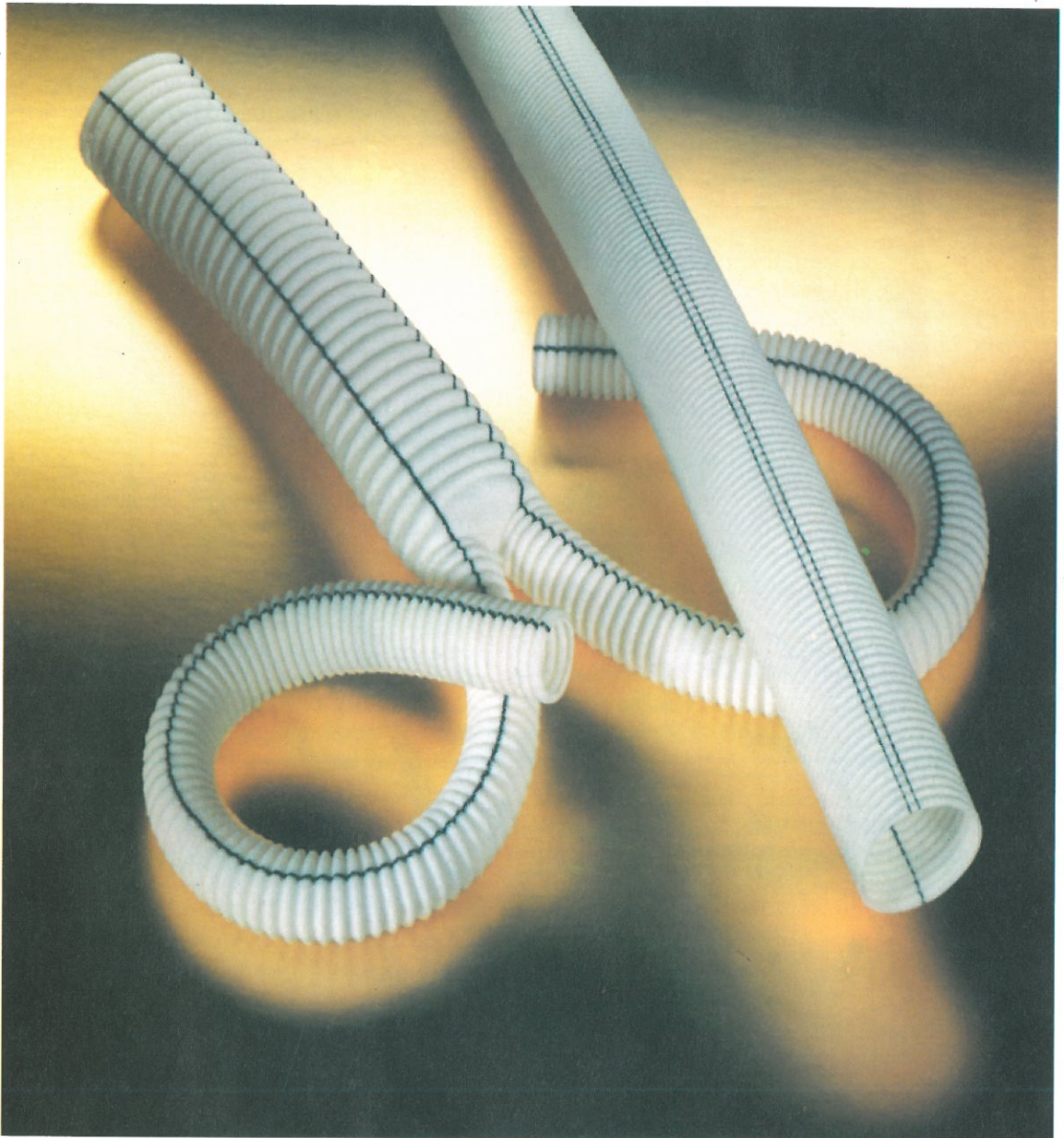
Beybi Giz Plaza
Meydan Sokak No: 28
Kat: 27 Ofis: 2730
Maslak-İSTANBUL

Tel : 0212-335 25 49
0212-335 25 50
Fax : 0212-335 25 00

**Boston
Scientific
MEDI-TECH**

Meadox® Hemashield Gold™

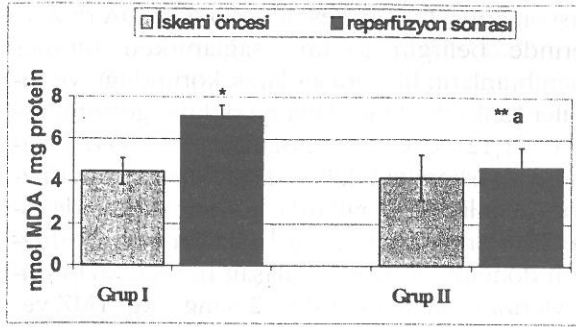
Vascular Grafts



Improving on the gold standard

Meadox

Boston Scientific Corporation

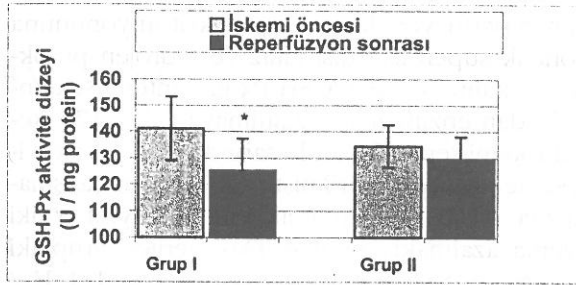


Şekil 1: Grupların iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası böbrek MDA düzeyleri.

* $p < 0.001$ Kontrol grubun (Grup I) iskemi öncesi ile reperfüzyonun 24. saati MDA değerleri).

** $p < 0.01$ TMZ grubunun (Grup II) iskemi öncesi ile reperfüzyonun 24. saati MDA değerleri).

a $p < 0.01$ Kontrol grubu ile TMZ grubunun reperfüzyon sonrası MDA değerleri).

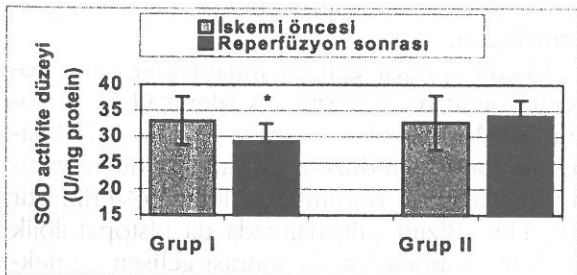


Şekil 2: GSH-Px aktivite düzeyleri.

* $p < 0.05$ Kontrol grupta (Grup I) iskemi öncesi ile reperfüzyon sonrası GSH-Px değerleri.

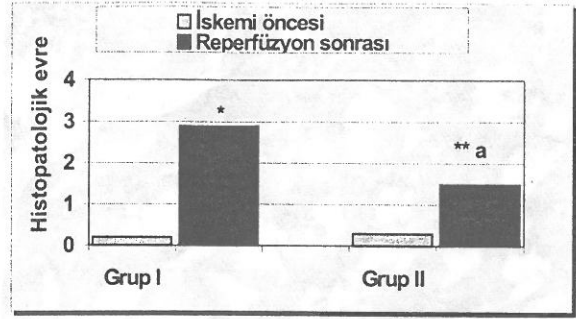
(33.03 + 4.68'den 29.19 + 2.36 U/mg protein'e, $p < 0.01$), Grup II'de anlamlı olmayan bir artış (32.70 + 6.22'den 34.06 + 3.65 U/mg protein'e) gözlemlendi (Şekil 3).

Histopatolojik incelemede; her iki grupta yer alan rat böbreklerinde iskemi sonrası reperfüzyon döneminde nekroz düzeyinde artma olduğu gözlemlendi (Şekil 4). Grup I'de yer alan ratların 0.2 olan başlangıç ortalama evresi reperfüzyon son-



Şekil 3: SOD aktivite düzeyleri.

* $p < 0.01$ Grup I (kontrol grubu) iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası SOD aktivite düzeyleri.



Şekil 4: Histopatolojik incelemede akut tubuler nekroz (ATN) evrelemesi

* $p < 0.001$ Grup I (kontrol)'de iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası ATN evreleri.

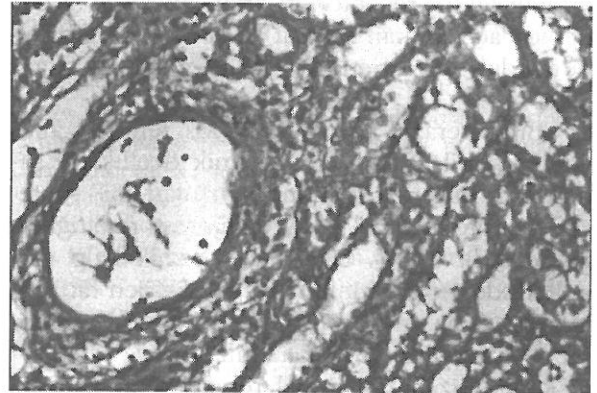
** $p < 0.05$ Grup II (TMZ)'de iskemi öncesi ve reperfüzyon sonrası ATN evreleri.

a $p < 0.01$ Grup I ve Grup II'nin reperfüzyon sonrası ATN evreleri.

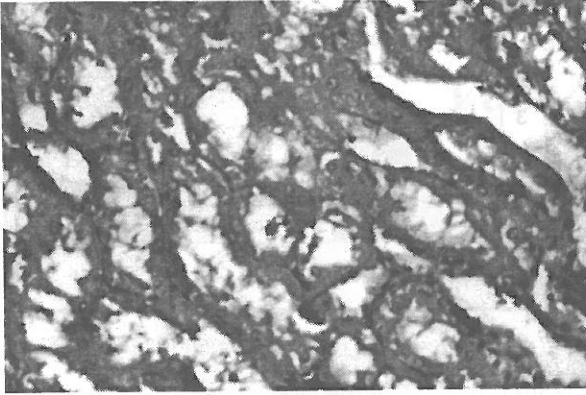
rası 2.9'a ($p < 0.001$), grup II'de ise 0.3'den 1.5'e ulaştı ($p < 0.05$). Ancak, Grup I'deki yüksek evre değeri Grup II'ye göre anlamlı idi ($P < 0.01$). Grup I ratlardan elde edilen kesitlerde renal tubulusları döşeyen epitel hücrelerinin büyük çoğunluğunda nekroza varan değişiklikler ile stromada iltihabi hücre infiltrasyonları izlenirken (Resim 1), Grup II ratlarda hücrelerdeki dejeneratif değişikliklerin daha az olduğu görüldü (Resim 2).

TARTIŞMA

Reperfüzyon, iskemik doku için hayati bir olay olmasına rağmen süperoksit, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açarak hücre hasarı ve organ disfonksiyonuna yol açabilmektedir. SOR'leri hücre yapıları ile reaksiyona girer ve yağ asitlerinin yıkılmasıyla karakterize lipid peroksidasyonunu başlatır.



Resim 1: Grup I (kontrol) ratlardan reperfüzyon sonrası elde edilmiş, yoğun tubuler hücre dejenerasyonu ve lenfosit infiltrasyonu gösteren Evre 3 ATN böbrek kesiti (HE x 200).



Resim 2: Trimetazidin tedavisi uygulanan Grup II ratlardan elde edilen ve evre 1 ATN olarak değerlendirilen böbrek kesiti (HE x 200).

Renal iske mi sonrası ATP, Nitrik Oksit ve Na-K ATPase aktivite düzeylerinde azalma olurken platelet activated factor (PAF), Thromboxan A2 (TX-A2), Endothelin 1, Prostoglandin E2 (PGE2), Anjiotensin II düzeylerinde ve hücre içi kalsiyumda artış gözlenir (8, 19-27). İnflamatuar yanıtı artıran bu değişimler sonucu nötrofil aktivasyonu ve sekestrasyonu gelişir. Aktive olmuş lökositler de radikal oluşumuna katkıda bulunur (28-29). Artmış olan SOR'lardan başka TNF (tumor necrotizing factor), proteaz, interlokin ve sitokinler de artarak renal hücre apoptosisini hızlandırır. Bu olay sadece tubuluslarda hasara yol açmaz, vasküler yapıları da etkiler. Proteaz artışı ve sitokinlerle beraber SOR artışı vasküler injuriye katkıda bulunur: Vasküler tonus artar, glomeruler filtrasyon düşer, otoregülasyon kapasitesi bozulur ve rekurren iskemilere daha duyarlı hale gelir (24).

İske miye uğramış böbrekte reperfüzyon sonrası rejenerasyona yönelik olarak epidermal growth faktör resöptörleri artar; ancak aynı dönemde açığa çıkan radikal artışı daha baskın olduğundan bu rejenerasyon geri planda kalır (19).

Bir piperazin türe vi olan TMZ temel de anti-anjinal bir ilaç olup, antiiskemik özelliklere sahiptir (5). İske mik dönemde bozulan ATP sentezini ve mitokondrial geçirgenliği restore ettiğ i bilinmektedir (9,30). Deneysel iskemik kalp modellerinde; nötrofil infiltrasyonu, oksijen radikallerinde artma, myokartta okside glutatyon birikimi ve glutatyon peroksidaz salınımında azalmayla karakterize myokardial reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (4,31).

İzole soğuk perfüzyon uygulanan renal iske mi modellerinde hipotermik organ koruma so-

lasyonlarına TMZ ilavesi ile böbrek MDA düzeylerinde belirgin azalma sağlanırken tubuler membranların histolojik olarak korunduğ u ve tubuler fonksiyonların daha iyi olduğ u gösterilmiştir (5,11,12). Grekas ve arkadaşları da 60 dakikalık sıcak iske miyi takiben 15 dakikalık reperfüzyon uyguladıkları ratlarda kontrol grubunda iskemik dönemde artmaya başlayan ve reperfüzyon döneminde zirveye ulaş an böbrek MDA düzeylerinin iske mi öncesi IV 2.5 mg / kg TMZ verilen grupta daha az olduğ unu göstermişlerdir (13). Bizim çalışmamızda da reperfüzyonun 24. saatinde tespit ettiğ imiz MDA düzeyleri kontrol grupta 7.10 nmol MDA / mg protein iken TMZ tedavisi uygulanan grupta 4.67 nmol MDA / mg protein idi ve bu fark anlamlı olarak bulundu ($p<0.01$).

Reperfüze edilen iskemik böbrekte ortaya çıkan reperfüzyon hasarı superoksit anyonunun a yönelik superoksit dismutaz ve hidrojen peroksit radikaline yönelik GSH-Px gibi interensek antioksidan enzimler ile azaltılmaya çalışır (7). Renal iske mi-reperfüzyon hasarında GSH-Px aktivitesinde azalma bildirilmiştir (28). Bizim çalışmamızda da bu enzimin aktivite düzeyi her iki grupta azalmakla birlikte TMZ verilen gruptaki azalma anlamlı bulunmadı: Grup I'de 141 U / mg protein'den 125 U / mg protein'e ($p<0.05$), Grup II'de 134 U / mg protein 'den 129 U / mg protein'e. İntrensek enzimlerden SOD aktivitesinin renal iske mi sonrası azaldığı ve eksojen verilmesiyle böbrek fonksiyonlarının düzeldiğ i gösterilmiştir (32). Çalışmamızda kontrol grubunda reperfüzyon sonrası SOD aktivitesinin 33 U / mg protein'den 29 U / mg protein'e ($p<0.01$) azalırken TMZ grubunda gözlenen artış anlamlı bulunmadı.

Grup II'de elde edilen ve Grup I'e göre anlamlı bulunan MDA düzeyindeki hafif artış ile GSH-Px ve SOD aktivite düzeylerindeki anlamlı bulunmayan değişimler TMZ verilmesiyle lipid peroksidasyonunun daha az olduğ unu ve antioksidan enzim aktivitelerinin korunduğ unu göstermektedir.

İske mi sonrası geliş en inflamatuar yanıt sonucu yoğun renal apoptosiz izlenir (1,4). Hipotermik saklama solusyonlarına 10 -6 M TMZ ilavesiyle fonksiyon düzelmesi yanında hücre yapılarının daha iyi durumda olduğ u gösterilmiştir (10, 11). Bizim çalışmamızda da histopatolojik inceleme sonucu iske mi sonrası geliş en ve nekroza kadar varan dejeneratif değişikliklerin TMZ verilen grupta daha az olduğ u gözlemlendi. Reperfüzyon sonrası kontrol grubunda ortalama 2.9

ulaşan ATN derecesi kontrol grubunda 1.5 olarak bulundu. % 100'e varan bu fark istatistiki olarak da anlamlı idi. Ayrıca kontrol grubunda yer alan ratların kesitlerinde yer yer lökosit infiltrasyonları da gözlemlendi.

Euro-Colins solusyonuna TMZ ilavesiyle glomerüler filtrasyon hızında artma ve proksimal tubuler fonksiyonlarda düzelme olduğu bildirilmiştir (5, 10).

TMZ grubunda elde edilen histopatolojik veriler renal hücrelerin dejenerasyondan korunduğunu ve bunun da, biokimyasal sonuçların yansıttığı şekilde reperfüzyon sonrası lipid peroksidasyonun daha az olmasıyla ilgili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu nedenle renal iske miyle sonuçlanabilecek cerrahi girişimler öncesinde TMZ tedavisi başlanması renal fonksiyonları koruyucu etki gösterecektir.

KAYNAKLAR

- Daemen MA, van de Ven MW, Heineman E, Buurman WA. Involvement of endogenous interleukin-10 and tumor necrosis factor- α in renal ischemia-reperfusion injury. *Transplantation* 67(6):792-800, 1999.
- Garcia-Criado FJ, Eleno N, Santos-Benito F, Valdunciel JJ, Reverte M, Lozano-Sanchez FS, Ludena MD, Gomez-Alonso A, Lopez-Novoa JM. Protective effect of exogenous nitric oxide on the renal function and inflammatory response in a model of ischemia-reperfusion. *Transplantation* 66(8):982-90, 1998.
- Gobe G, Willgoss D, Hogg N, Schoch E, Endre Z. Cell survival or death in renal tubular epithelium after ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 56(4):1299-304, 1999.
- Donnaho KK, Shames BD, Harken AH, Meldrum DR. Review article: the role of tumor necrosis factor in renal ischemia-reperfusion injury. *J Urol* 162(1):196-203, 1999.
- Hauet T, Mothes D, Goujon J, Germonville T, Caritez JC, Carretier M, Eugene M, Tillement J. Trimetazidine reverses deleterious effects of ischemia-reperfusion in the isolated perfused pig kidney model. *Nephron* 80(3):296-304, 1998.
- Heeman U, Szabo A, Hamar P, Muller V, Witzke O, Lutz J, Phillip T. Lipopolysaccharide pretreatment protects from renal ischemia/reperfusion injury: possible connection to an interleukin-6-dependent pathway. *Am J Pathol* 156(1):287-93, 2000.
- Gianello P, Saliez A, Bufkens X, Pettinger R, Misseleyn D, Hori S, Malfroy B. EUK-134, a synthetic superoxide dismutase and catalase mimetic, protects rat kidneys from ischemia-reperfusion-induced damage. *Transplantation* 62(11):1664-66, 1996.
- Aricioğlu A, Aydın S, Turkozkan N, Durmus O. The effect of allopurinol on Na⁺K⁺ATPase related lipid peroxidation in ischemic and reperfused rabbit kidney. *Gen Pharmac* 25:341-4, 1994.
- Meldrum DR, Donnaho KK. Role of TNF in mediating renal insufficiency following cardiac surgery: evidence of a postbypass cardiorenal syndrome. *J Surg Res* 85(2):185-99, 1999.
- Hauet T, Mothes D, Goujon J, Caritez JC, Carretier M, le Moyec L, Eugene M, Tillement J. Trimetazidine prevents renal injury in the isolated perfused pig kidney exposed to prolonged cold ischemia. *Transplantation* 64(7):1082-6, 1997.
- Hauet T, Tallineau C, Goujon JM, Carretier M, Eugene M, Tillement J. Efficiency of trimetazidine in renal dysfunction secondary to cold ischemia-reperfusion injury: a proposed addition to University of Wisconsin solution. *Cryobiology* 37(3):231-44, 1998.
- Hauet T, Baumert H, Mothes D, Germonville T, Caritez JC, Carretier M, Journe F, Tillement J. *Transpl Int* 11(suppl 1): S408-9, 1998.
- Grekas D, Dioudis C, Papageorgiou G, Iliadis S, Zilidis C, Alivannis P, Dimitriadou A, Tourkantonis A. Lipid peroxidation after acute renal ischemia and reperfusion in rats: the effect of trimetazidine. *Ren Fail* 18(4):545-52, 1996.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reactions. *Anal Biochem* 95: 351-358, 1979.
- Paglia D, Valentine W. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169, 1967.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 262-275, 1951.
- Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of SOD. *Clinical Chemistry* 34: 497-500, 1988.
- Klausner JM, Paterson IS, Kobzik L, Rodzen C, Veleri CR, Shepro D, Hechtman HB. Vasodilating prostaglandins attenuate ischemic renal injury only if thromboxane is inhibited. *Ann Surg* 209:219-224, 1989.
- Rosenberg ME, Paller MS. Differential gene expression in the recovery from ischemic renal injury. *Kidney International* 39:1156-61, 1991.
- Forbes JM, Leaker B, Hewitson TD, Becker GJ, Jones CL. Macrophage and myofibroblast involvement in ischemic acute renal failure is attenuated by endothelin receptor antagonists. *Kidney Int* 55(1):198-208, 1999.
- Mashiach E, Sela S, Winaver J, Shasha SM, Kristal B. Renal ischemia-reperfusion injury: contribution of nitric oxide and renal blood flow. *Nephron* 80(4):458-67, 1998.
- Kontogiannis J, Burns KD. Role of AT₁ angiotensin II receptors in renal ischemic injury. *Am J Physiol* 274(1Pt2):F79-90, 1998.
- Raafat AM, Murray MT, McGuire T, DeFrain M, Franko AP, Zafar RS, Palmer K, Diebel L, Dulchavsky SA. Calcium blockade reduces renal apop-

- tosis during ischemia reperfusion. *Shock* 8(3):186-92, 1997.
24. Conger J. Hemodynamic factors in acute renal failure. *Adv Ren Replace Ther* 4(2 Suppl 1):25-37, 1997.
 25. Riera M, Torras J, Herrero I, Valles J, Paubert-Braquet M, Cruzado JM, Alsina J, Grinyo JM. Neutrophils accentuate renal cold ischemia-reperfusion injury. Dose-dependent protective effect of a platelet-activating factor receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 280(2):786-94, 1997.
 26. Gunal O, Aktan Ao, Yegen C, Kurtel H, Yalin R. Captopril prevents the oxidative damage to proteins after renal ischemia reperfusion injury: role of endothelin-1. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 56(1):23-7, 1997.
 27. Garvin PJ, Niehoff ML, Robinson SM, Heisler T, Salinas-Madrigal L, Contis J, Solomon H. Evaluation of the thromboxane A2 synthetase inhibitor OKY-046 in a warm ischemia-reperfusion rat model. *Transplantation* 61(10):1429-34, 1996.
 28. Yoshioka T, Bills T, Moore-Jarrett T, Greene HL, Burr IM, Ichikawa I. Role of intrinsic antioxidant enzymes in renal oxidant injury. *Kidney International* 38:282-88, 1990.
 29. Daemen MA, van't Veer C, Denecker G, Heemskerck VH, Wolfs TG, Clauss M, Vandenabeele P, Buurman WA. Inhibition of apoptosis induced by ischemia-reperfusion prevents inflammation. *J Clin Invest* 104(5):541-9, 1999.
 30. Mocan H, Saruhan H, Arslan MK, Erduran E, Sarpkaya AO, Efe H, Yenilmez E. The effect of ATP-MgCl₂ on lipid peroxidation in ischemic and reperfused rabbit kidney. *Eur J Pediatr Surg* 9(1):42-6, 1999.
 31. Cargnoni A, Pasini E, Ceconi C, Curello S, Ferrari R. Insight into cytoprotection with metabolic agents. *Eur Heart J* 1(Suppl O):O40-8, 1999.
 32. Morpurgo E, Cadrobbi R, Morpurgo M, Rigotti P, Schiavon F, Schiavon O, Caliceti P, Ancona E, Veronese FV. Protective effect of superoxide dismutase and polyethylene glycol-linked superoxide dismutase against renal warm ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 62:1221-23, 1996.