

HAFİF HİPOTERMİ İLE YAPILAN AŞAMALI PERFÜZYONUN RENAL ALLOGRAFTTA İSKEMİK REPERFÜZYON HASARLARIN ÖNLENMESİNDE ROLÜ

EFFECT OF GRADUAL PERFUSION BY MODERATE HYPOTHERMIA FOR AVOIDING ISCHEMIC- REPERFUSION DAMAGE OF RENAL ALLOGRAFT

Dr. Akif Memmedoğlu, Dr. Caner Arslan *, Dr. Kamran Kazımoğlu*,
Dr. İsmail Seçkin**, Dr. Gönül Sultuybek***, Dr. Muzaffer Sarıyar****

Azerbaycan Tıp Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı*,
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Kalp Damar Cerrahisi* Histoloji ve Embriyoloji**
Tıbbi Biyoloji*** Genel Cerrahi**** Anabilim Dalları

ÖZET

Yıkama perfüzyonu sırasında hipoterminin renal arter ve arteriollerde vazospazma yol açtığı, bunun da erken postopertaüf dönemde allograft disfonksiyonu nedenleri arasında yer aldığı bilinmektedir, çalışmamızın amacı klasik ve aşamalı perfüzyonu takiben prezervasyon sonrası yapılan reperfüzyon sırasında oluşan ultrastrüktürel değişiklikleri incelemek ve bu safhalarda renal doku lipid peroksidasyon ve glutatyon düzeylerinin saptanmasıyla perfüzyon yönteminin oksidatifstrese bağlı hasarların oluşmasında rolünü araştırmaktır.

Tavşan deneyinde eksplante edilen böbrekler 1. grupta 20 dak süresince 4 C Wisconsin Üniversitesi (UW) solüsyonu ile, 2. grupta ilk 10 dak. 22 C, ikinci 10 dak 4 C UW solüsyonu ile perfüze edildi. 48 ve 96 saat prezervasyon sonrası her 2 gruptaki böbrekler otolog kan ile reperfüzyona tabi tutuldu.

Perfüzyon ve reperfüzyon aşamasında 1. grupta karşılaştırıldığında 2. grupta ortalama perfüzyon hızının belirgin şekilde yüksek olduğu görüldü. Elektron-mikroskopik incelemede 1. grupta arteriol ve kapillerlerde eritrosit birikimi, 48 saat prezervasyon sonrası eritrositlerde aglütinasyon, endoteliuma adhezyon görüldü. Reperfüzyon sonrası kapillerlerde eritrosit ekstravazasyonu saptandı. 2. grupta arteriol ve kapillerlerin 1. gruba oranla kan elemanlarından daha iyi arındığı, reperfüzyon aşamasında daha iyi mikrosirkülasyon sağlandığı görüldü. Doku lipid peroksidasyon düzeyleri 1. grupta yüksek bulunurken 23.3 (g/g), glutatyon düzeyi 2. gruba oranla düşük idi (13.4 (mol/g)).

Sonuç olarak, aşamalı perfüzyonun renal allograftta iskemik-reperfüzyon hasarları hafiflettiği görüşüne vardık.

Anahtar kelimeler: renal perfüzyon, hipotermik vazokonstriksiyon, iskemik-reperfüzyon hasarı, aşamalı perfüzyon

SUMMARY

We aimed to define the effects of vasoconstriction related to hypothermia during flushout perfusion on renal tissue micro circulation in reperfusion period.

In rabbit's model in the 1st group explanted kidneys were perfused with (UW) solution at 4 C for 20 minutes, in the 2nd group perfusion was performed with UW solution at 22 C for 10 min., then at 4 C for the next 10 min. All kidneys were perfused with the autologous blood after 48 and 96 hours' preservation.

Median perfusate flow was significantly higher in the 2nd group in contrast to 1st one during perfusion and reperfusion. On electron microscopic examinations in the 1st group erythrocyte's aggregation in arterioles and capillaries, and after 48 hours' preservation erythrocyte agglutination and adhesion to the endothelium were observed. Endothelial defects and erythrocyte extravasation were seen following reperfusion. In the 2nd group arterioles and capillaries were free of blood elements and microcirculation was better in reperfusion period. In the 1st group lipid peroxidation levels in renal tissue was higher and glutathion level was lower in comparison to the 2nd group.

We concluded that gradual perfusion decreases the ischemic-reperfusion damages on renal allograft.

Key words: Renal perfusion, hypothermic vasoconstriction, ischemic reperfusion damage, gradual perfusion

GİRİŞ

Kadaverik böbrek nakillerinde postoperatif allograftın fonksiyon bozukluğunda verici ve alıcı ile ilgili bir çok faktörlerin yanı sıra böbreğin alınması, perfüzyonu, prezervasyonu ve reperfüzyonu sırasında oluşan iskemik hasarlarla da büyük ölçüde bağlantılıdır (1). Reperfüzyon sırasında organda mikrosirkülasyon durumunu etkileyen faktörler arasında endotelin, anjiotensin gibi vazokonstriktörlere ve kapillerlerde oluşan eritrosit agregasyonuna önem verilmektedir (2, 3).

Basit soğuk koruma ile prezervasyona tabi tutulan renal allograftta ilk perfüzyon esnasında hipotermik faktörün oluşturduğu vazokonstriksiyonun da hipoperfüzyona yol açtığı bildirilmektedir. Bu tür vazospazmı önlemek amacıyla klinik pratikte küçük doz dopamin (2 - 4 g/kg/dak) veya katekolamin blokeri olan dibenzilin kullanılması önerilmektedir (4). Fakat Keating ve ark, Mitchell ve ark. çalışmalarında katekolaminlerin 10 C sıcaklığın altında damar duvarını etkilemediğini bildirmişlerdir (5 ,6). Dolayısı ile perfüzyon yapılan 4 C sıcaklıkta dopamin veya katekolamin blokerlerinin etkili olmayacağı anlaşılmaktadır.

Önceki çalışmalarımızda klasik perfüzyon yöntemine alternatif olarak düşündüğümüz ilk dönemi hafif hipotermik olarak aşamalı yapılan perfüzyonun hipotermiye bağlı vazokonstriksiyonu önleyerek glomerüller ve peritubuler kapillerlerde kan elemanlarının birikimini önlediğini göstermiştik (7). çalışmamızın amacı klasik ve aşamalı perfüzyonu takiben prezervasyon sonrası yapılan reperfüzyon sırasında oluşan yapısal değişiklikleri incelemektir. Aynı esnada renal doku lipid peroksidasyon ve glutasyon düzeylerini ölçerek perfüzyon yönteminin serbest oksijen radikallerine bağlı hasarların oluşmasında rolünü araştırmayı planladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Deneyde ağırlığı 2,2 -2,5 kg olan Yeni-Zelanda tavşanlarına İV pentobarbital (20 mg/kg) + ketamin (25 mg/kg bolus ve 1 mg/kg/dak infüzyon) anestezisi altında laparotomi ve bilateral nefrektomi yapıldı. Ameliyat sırasında 50 ml/kg serum fizyolojik infüzyonu yapıldı.

1. grup (n= 12): İV 250 İ/kg Heparin verildikten 3 dakika, sonra nefrektomi yapıldı. Böbrek arterlerine 20 G plastik kanül yerleştirildi, böbrek eriyen buzların içerisine alınarak 4 C Wisconsin Üniversitesi (UW) solüsyonu ile 100 cm H₂O basınçla 20 dak perfüze

edildi (sıcak iskemik dönm:2 dak).

İkinci grupta (n=12) böbrekler ilk önce oda ısısında serum fizyolojik içeren solüsyona kondu ve 10 dak süresince 22 C UW solüsyonu ile 100 cm H₂O basınçla perfüze edildikten sonra böbrekler eriyen buzlar içerisine alınarak 4 C UW solüsyonu ile daha 10 dakika süre ile perfüze edildi.

Her 2 grupta ameliyat sırasında aorta kanüleze edilerek 160 cc arteriyel kan sitratlı torbaya alındı ve 4 C'de muhafaza edildi. 48 (n=6) ve 96 saat (n=6) hipotermik ortamda (yaklaşık 4 C) prezervasyon sonunda kan 37 C'ye kadar ısıtılarak 100 cm H₂O basınçla 30 dak süreyle renal arterden reperfüze edildi. İlk perfüzyon ve kanla reperfüzyon sırasında böbrek ağırlığı, perfüze olunan sıvı miktarı ve perfüzyon süresi dikkate alınarak ortalama perfuzat akım hızı (median perfusate flow - MPF; ml/dak/100 g doku) hesaplandı. Reperfüzyonu takiben renal korteks ve medulladan elektron mikroskopik (EM) inceleme için parçalar alındı. Kesitler 4% glutaraldehid solüsyonuna konuldu. Milloning phosphat buffer ile ön fiksasyon, 1% OsO₄ post fiksasyon ve dehidratasyondan sonra araldit ortamına gömüldü.

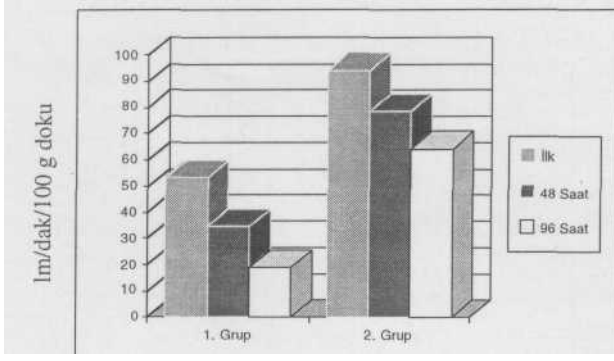
İlk perfüzyon ve reperfüzyon sonrası renal dokuda lipid peroksidasyon düzeyini değerlendirmek için lipid peroksidasyonun son ürünü olan Malondialdehid (MDA) ölçümü Trotta ve ark tarif ettiği yöntemle yapıldı (8). Doku glutasyon düzeyine Ellman yöntemiyle bakıldı (9). Perfüzyon öncesi ve sonrası kan örneklerinde laktat dehidrogenaz (LDH) konsantrasyonu Buhl yöntemiyle kontrol edildi (10).

Kontralateral böbreklere UW solüsyonu ile perfüzyon uygulanarak periüzyonu takiben, 12, 24, 48, 72, 96 saat prezervasyon sonrası EM incelenmeye alındı, perfüzyonu takiben renal dokuda lipid peroksidasyon ve glutasyon düzeylerine bakıldı.

Elde olunan veriler istatistiksel olarak çift yönlü Student t testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

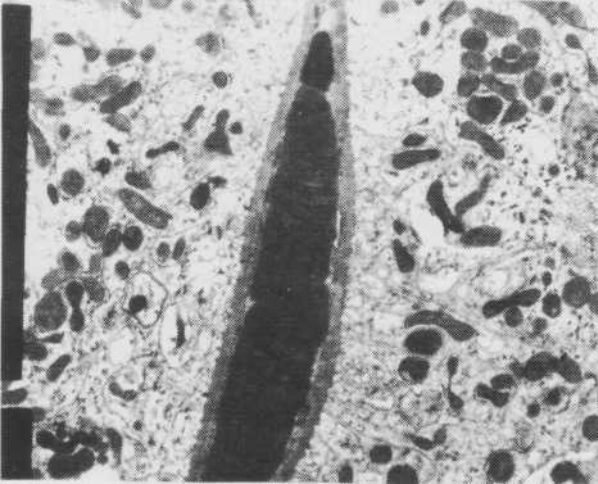
İlk perfüzyon sırasında ve 48 saat prezervasyon sonrası kanla yapılan reperfüzyon sırasında 2. grupta MPF 1. gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu (P<0.01). 96 saat soğuk iskemisi sonrası 1. grupta kanla reperfüzyon sırasında MPF parametresi çok düşük bulunurken, 2. grupta MPF'de düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi (P>0.05; grafik 1).



Grafik 1. Gruplarda ortalama perfuzat akım hızları

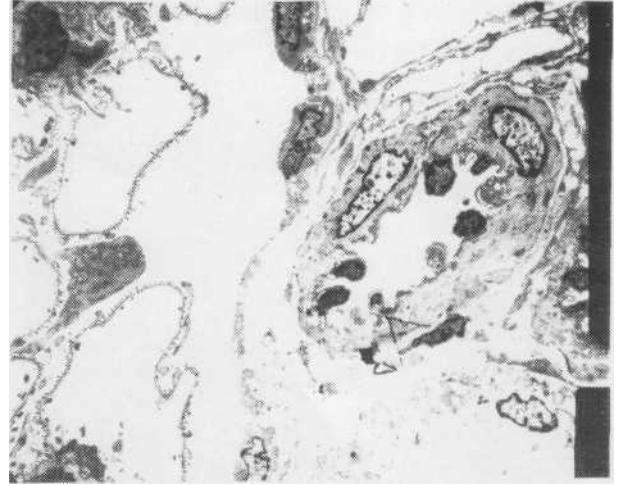
Kanla reperfüzyon sırasında idrar çıkışı 1. grupta 48 saat basit soğuk koruma sonrası 3 böbrekte 40 dakika süresince (otolog kanın reperfüzyon süresi) 9 - 21 cc olarak, 2 böbrekte ise 2.5 - 4.0 cc olarak gözlenirken, 96 saat prezervasyon sonrası 60 dakika süresince görülmedi. 2. grupta 48 saat prezervasyon sonrası tüm böbrekler 25 dakikalık reperfüzyon sırasında 12-18 cc idrar çıkardılar, 96 saat soğuk korumayı takiben 32 dakikalık reperfüzyon sırasında 4 böbrekte 6-11 cc' lik idrar çıkışına rastlandı.

Kontralateral böbreklerin (reperfüzyon yapılmayan) EM incelenmesinde 1. grupta arterioller ömerüler ve peritubuler kapillerde eritrosit bin .nevcuttu. (resim 1). Fakat 2. grupta arterioller ve kapillerler eritrositlerden iyi arınmış durumda idi, eritrositler kapillerlerde ender olarak görüldü. Her 2 grupta perfüzyonu takiben ve 12 saat prezervasyon sonrası belirgin iskemik hasar saptanmazken, 24 ve 48 saat koruma sonrası 1. grupta proksimal tubülüs epitel hücrelerinde orta derecede \akuoli/avonı leshii edildi



Kesini 1. Klasik perfüzyon yapılan grupta peritubuler kapillerde eritrosit agregasyonu ve aglütinasyonu (x 6 600)

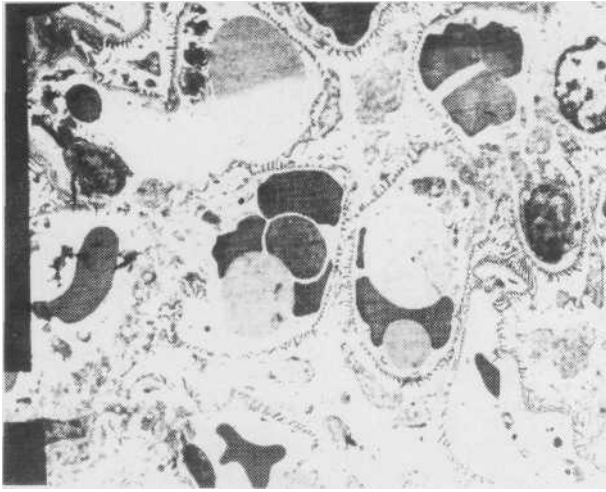
Birinci grup böbreklerde (48 saat prezervasyon sonrası eritrositler arasında aglütinasyon, eritrositlerle endotelium arasında adhezyon vardı, (resim 2). Yetmişiki saat hipotermik koruma sonrası her 2 grupta proksimal tubülüs epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler artarken 2. grupta mitokondrium kristalları ve epitelin fırçamsı kenarları daha iyi korunmuştu. 96 saat prezervasyon sonrası mitokondriumlarda şişme ve krista kaybının yanı sıra, tubülüs lümeninin şişmiş mikrovillüsler ve sitoplazmik debrislerle tıkanmış olduğu görüldü. 72 ve 96 saat prezervasyon sonrası 1. grupta eritrosit adhezyonu görülen bölgelerde kapiler endotelium devamlılığında bozulma lesbit edildi.



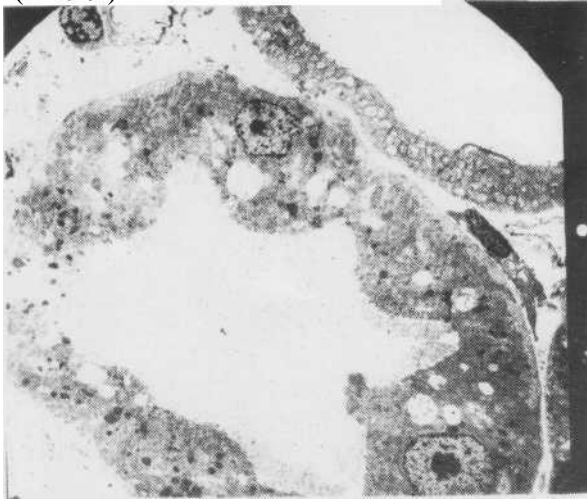
Kesini 2. Aşamalı perfüzyon yapılan grupta eritrositlerden arınmış arterioller ve glomerüller kapiler yapı (x 2 049)

Kırksekiz saat prezervasyonu takiben kanla reperfüzyon yapılan böbreklerde; 1.grupta proksimal túbülüs epitel hücrelerinde orta derecede vakuolizasyon, mitokondriumlarda krista azalması, mikrovillüslerde şişme görüldü. 96 saat sonra reperfüzyon yapılan böbreklerde bu bulgular daha belirgindi ve lokal olarak tubülüs lümeninin sitoplazmik debrisler ve şişmiş mikrovillüslerle tıkanmasına rastlanıldı. Seyrek şekilde endotel defektleri ve eritrosit ekstrasvasyonu görüldü. Bir çok bölgelerde elastikiyetini kaybederek yuvarlak şekil almış eritrositlerin kapiler obstrüksiyonuna yol açtığı gözlemlendi (resim 3).

İkinci grupta 48 saat sonra tubülüs hücreleri ve onların mitokondriumları 1. gruba oranla daha iyi durumda idi (resim 4). 96 saat sonra reperfüzyon böbreklerde ise iskemik hasarlar orta derecede idi, fakat eritrosit ekstrasvasyonuna veya elastikiyetini kaybetmiş eritrositlerle kapiler tıkanmalarına rastlanılmadı.



Resim 3. Klasik perfüzyon yapılan grupta glomerüller kapillerlerin rijid eritrositlerle tıkanması (x2 049)



Resim 4. Anamalous perfüzyon yapılan grupta iyi korunmuş proksimal tubülüs epitel hücreleri (x 1236)

Gruplar arasında perfüzyonu takiben renal dokularda lipid peroksidasyon düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmazken ($P>0.05$), 48 ve 96 saat prezervasyon sonrası yapılan reperfüzyon sırasında 1. gruba oranla 2. grupta renal dokuda lipid peroksidasyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulundu ($P<0.01$). Doku glutasyon düzeyi tüm incelemelerde 2. grupta 1. grubla karşılaştırıldığında belirgin şekilde yüksek bulundu ($P<0.01$; **tablo 1**).

Birinci grupta perfüzyon sonrası kan LDH düzeylerinde 48 ve 96 saatlik reperfüzyon sırasında anlamlı artış görülürken ($P<0.001$), 2. grupta LDH düzeyleri 48 ve 96 saatlik basit soğuk koruma sonrası reperfüzyon sırasında 1. gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük idi ($P<0.001$) (tablo 2).

Tablo 1. Renal dokuda lipid peroksidasyon ve glutasyon düzeyleri

Gruplar		Lipid peroksidasyonu MDA (s/e)	P değeri	Glutasyon (mol/g)	P değeri
1. grup	perfüzyonu takiben	6.6 0.6		21.9 2.3	
	48 saat	12.3 1.7	$P_1 < 0.01$	17.8 1.9	$P_1 < 0.01$
	96 saat	23.3 2.7	$P_1 < 0.01$	13.4 1.8	$P_1 < 0.01$
2. grup	perfüzyonu takiben	6.2 0.9	$P_2 > 0.05$	23.7 3.1	$P_2 > 0.05$
	48 saat	9.6 1.7	$P_1 < 0.01$	20.4 1.6	$P_1 < 0.01$
			$P_2 < 0.05$		$P_2 < 0.05$
	96 saat	15.1 2.7	$P_1 < 0.01$	17.6 1.6	$P_1 < 0.01$
				$P_2 < 0.01$	

2. grupta renal dokuda lipid peroksidasyonu istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük ($P<0.01$). Doku glutasyon düzeyi 2. grupta belirgin şekilde yüksek bulundu ($P<0.01$).

Tablo 2. Perfüzyon öncesi ve sonrası kanda LDH (U/L) değerleri

Gruplar	Perfüzyon	Perfüzyon öncesi	P değeri	Perfüzyon sonrası	P değeri
1.grup	48 saat	160.3 7.9		336.5 31.2	$P_1 < 0.001$
	96 saat	175.6 7.0	$P_1 > 0.05$	641.3 49.4	$P_1 < 0.001$
2.grup	48 saat	165.2 10.3	$P_2 > 0.05$	196.4 28.3	$P_1 < 0.001$
	96 saat	173.8 6.8	$P_1 < 0.05$	376.6 35.8	$P_1 < 0.001$
			$P_2 > 0.05$		$P_1 < 0.001$

1. grupta perfüzyon sonrası kan LDH düzeylerinde 48 ve 96 saatlik reperfüzyon sırasında anlamlı artış görülürken ($P<0.001$), 2. grupta LDH düzeyleri 48 ve 96 saatlik basit soğuk koruma sonrası reperfüzyon sırasında anlamlı şekilde düşük idi ($P<0.001$).

TARTIŞMA

Basit soğuk koruma sonrası renal allograftta perfüzyon parametrelerinde düşüş bir çok araştırmacılar tarafından tesbit edilmiştir (11, 12). Çalışmamızda da 48 ve 96 saat prezervasyon sonrası özellikle 1. grupta MPF parametresinin azalması literatür bilgileri ile uyumludur.

Soğuk iskemi sonrası doku dolaşımını engelleyen faktörler arasında vazokonstriktörlerin yanı sıra arteriyel ve kapillerlerde oluşan eritrosit birikimi önemlidir. (2). Özellikle iskemik hasar gören böbreklerde yıkama perfüzyonu sırasında kırmızı kan elemanlarının kapillerlerde biriktiği gösterilmektedir (12). Bizde perfüzyon sonrası renal doku arteriyel ve kapillerlerinde belirgin eritrosit agregasyonuna rastladık.

İskemiye bağlı hücrelerde ATP tükenmesi sonucu Ca hücre membran proteinlerine bağlanarak eritrositleri daha az elastik duruma getirmektedir (13). Elastikiyetini kaybeden eritrositler kapillerin tıkanmasına neden olabilir. (12). 96 saat prezervasyon sonrası reperfüzyon yapılan böbrek dokularının EM incelenmesinde elastikiyetini kaybeden eritrositlerin kapillerin tıkanmasına yol açtığı görülmüştür (resim 3)

1. grupta (48 saat prezervasyon sonrası eritrositler arasında görülen aglütinasyon ve eritrositlerin endoteliuma adhezyonu uzun süreli basit soğuk korumada gelişen mikrosirkülasyon bozukluklarının en önemli nedenlerindedir. Öte yandan 96 saat prezervasyon sonrası kanla yapılan reperfüzyon sırasında endotel defektleri ve eritrosit ekstavazasyonu görüldü. Literatürde kapiler endoteliumunda defekt oluşması ve bunun da otolog kanla reperfüzyon sırasında fibrin birikimine neden olması makina perfüzyonu yapılan gruplarda tarif edilmiştir (14). Yıkama perfüzyonu sırasında hipoterminin oluşturduğu vazokonstriksiyonun allograftın perfüzyon kalitesini etkilediği, reperfüzyon döneminde mikrosirkülasyonu bozduğu belirtilmektedir (4). Çalışmamızda ilk dönemi hafif hipotermik olmakla aşamalı yapılan perfüzyonun ilk perfüzyon ve 96 saat hipotermi sonrası reperfüzyon sırasında MPF parametresini klasik perfüzyon yöntemi kullanılan grupla karşılaştırıldığında belirgin şekilde yükselttiğini tesbit ettik. Bu veriyi elektron-mikroskopik inceleme bulguları ile birlikte değerlendirdiğimizde aşamalı perfüzyon yönteminin arteriol ve kapillerleri kan elemanlarından arındırarak reperfüzyon döneminde daha iyi mikrosirkülasyon için olanak sağladığı ılmaktadır. 48 ve 96 saat soğuk iskemiyi takiben Kanla yapılan reperfüzyon sırasında 2. grupta idrar çıkarma oranları ve proksimal tubulüs hücrelerinin ultrastrüktürel durumu I. grupla karşılaştırıldığında aşamalı flushout yönteminin prezervasyon süresince allograftın daha az hasar görmesine neden olduğu görüşüne vardık.

Son yıllar allograftın dönüşümsüz sellüler hasar görmesinde iskemik ve postiskemik dönemlerde oluşan reaktif oksijen metabolitlerinin rolü kanıtlanmıştır (15). Oksijen metabolizma ürünleri: superoksit radikalleri, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve lipid peroksidler hipoksik durumda adozin monofosfatın ürik aside ve diğer katabolik ürünlere dönüşmesi reperfüzyon sırasındaki otooksidasyon sonucu oluşur. Radikaller lipid peroksidasyonunu artırarak hücre membranının ve diğer organellerin hasar görmesine yol açarlar (16). Dokuda olan glutatyonun serbest oksijen radikallerinin inhibe olunmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Bu faktörün sıcak ve soğuk iskemiyi süresince tükenmekte olduğu saptanmıştır (17).

Çalışmamızda renal allograftta iskemik hasarın boyutunun belirlenmesi amacıyla doku lipid peroksidasyon ve glutatyon düzeyleri ölçüldü. Aşamalı perfüzyon yapılan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem ilk perfüzyonu takiben, hem de 48 ve 96

saat prezervasyon sonrası kanla yapılan reperfüzyon sırasında doku lipid peroksidasyon düzeyi daha düşük, glutatyon düzeyi ise yüksek bulundu. Bu durum aşamalı perfüzyonun renal dokuda daha iyi perfüzyon sağlayarak glutatyon ve diğer serbest oksijen radikalleri inhibitörleri içeren UW solüsyonunun kapilerlere yeterince ulaşması ile izah edilebilir.

İskemi sırasında sellüler hasarları değerlendirmek amacıyla perfuzatta LDH aktivitesinin ölçülmesi yarar sağlamaktadır (12). Çalışmamızda reperfüzyon amacıyla otolog kan kullanıldığından perfüzyon öncesi ve sonrası kanda LDH aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen bulgular 2. grupta reperfüzyon sonrası kan LDH aktivitesinin belirgin şekilde düşük olduğunu ve dolayısı ile renal dokunun daha az hasar gördüğünü göstermektedir.

Sonuç olarak, klasik perfüzyon sonrası arteriol ve kapillerlerde sık olarak görülen eritrosit agregasyonu, 48 ve 96 saatlik prezervasyon sonrası eritrosit aglütinasyonu ve adhezyonu, doku lipid peroksidasyon düzeyinde artış, allograftta gelişen en önemli iskemik hasar bulguları olarak değerlendirildi. Allograftın yıkama perfüzyonu sırasında aşamalı perfüzyon yönteminin kullanılmasının hipotermiyeye bağlı vazokonstriksiyonu önleyerek renal dokunun kan elemanlarından arınmasına ve reperfüzyon aşamasında daha iyi mikrosirkülasyon için gereken şartların oluşmasına neden olduğunu düşünmekteyiz. Reperfüzyon sırasında graftın fonksiyonel ve perfüzyon parametrelerinin kontrol grubundan belirgin şekilde yüksek olması, doku lipid peroksidasyon ve kan LDH düzeyinin istatistiksel anlamlı düşük bulunması yöntemin iskemik-reperfüzyon hasarları üzerine hafifletici etkisini kanıtlamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Bonventre JV, Weinberg JM. Kidney preservation ex vivo for transplantation. *Annu Rev Med* 1992; 43: 523-53.
2. Anaise D, Ramsammy L, Lane B, Waltzer WC and Rapoport FT. The pathophysiology of the No-Reflow phenomenon in cold-stored kidneys. *Transplant Proc* 1987; 1: 1348-1352.
3. Mason J, Welsch J, Torhorst J. The contribution of vascular obstruction to the functional defect that follows renal ischaemia. *Kidney Int* 1987; 31: 65-71.
4. Southard JH, Belzer FO. Organ preservation. In *The Principles of Organ Transplantation*. Ed: Wayne Flye M. London 1989: 194-215.
5. Keating WR. The effect of low temperatures on the

- responses of arteries to constrictor drugs. *J Physiol* 1958; 142:395-405.
6. Mitchell WS, Winkelmann RK. Temperature effects on isolated resistance vessels of skin and mesentery. *J Physiol* **1969; 216(1): 112-116.**
 7. Memmedoğlu A, Yiğitbaşı R, Kalafat H, Özbay G, Şenyüz OF, Sarıyar M. Renal transplantasyonda hipotermik perfüzyonun allograft üzerine etkisi (Deneysel çalışma). *Klin Deney Cerrah Derg* 1996; 4: 65-69.
 8. Trotta RJ, Suüyvan SG and Stern A . Lypyd Peroxydatyon and hemoglobin degradaton in red blood cells exposed to t-butyl hydroperoxyde. *Biochem J* 1982;204:359-364.
 9. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archs Biochem Biophys* 1959;82:70-77.
 10. Buhl SN and Jackson KY. *Clyn.chem* 1978; 24: 828.
 11. Me Cabe R, Kimmelstiel F, Cooper J, Ramey W. Rescue perfusion of the cold-stored kidney. *Transplant Proc* 1990; 22 (5): 2219-2220.
 12. Booster MN, Wijnen RMH, Yin M, et al. Enhanced resistance to the effect of normothermic ischaemia in kidneys using pulsatile machine perfusion. *Transplant Proc* 1993; 25(6): 3006-3011.