

RENAL PREZERVASYONDA WISCONSIN ÜNİVERSİTESİ SOLÜSYONUNUN İSKEMİK REPERFÜZYON HASARLAR ÜZERİNE ETKİSİ

EFFECT OF UNIVERSITY OF WISCONSIN SOLUTION ON ISCHEMIA-REPERFUSION DAMAGE IN RENAL PRESERVATION

A. B. Memmedoğlu, M. Bağışgil*, E. İnce**, G. Sultuybek**, İ. Seçkin***, M. Sarıyar****

Azerbaycan Tıp Üniversitesi Üroloji, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji*, Tıbbi Biyoloji**, Histoloji*
Genel Cerrahi **** Anabilim Dalları- İSTANBUL

ÖZET

Kadaverik renal transplantasyonda postoperatif allograft disfonksiyonu insidansını etkileyen önemli faktörlerden biri olarak prezervasyon amacıyla kullanılan solüsyon gösterilmektedir. Çalışmamızın amacı 96 saatlik basit soğuk koruma ile renal prezervasyonda soğuk iskeminin allograft üzerine olumsuz etkilerini ultrastrüktürel ve biokimyasal olarak öğrenmek ve bu hasarların önlenmesinde Wisconsin Üniversitesi (UW) solüsyonunun etkinliğini araştırmaktır.

Birinci grupta tavşanlara nefrektomi, Euro-Collins (EC) solüsyonu ile perfüzyon, 48 ve 96 saat sonra aynı hayvandan alınmış kanla perfüzyon uygulandı, ikinci grupta perfüzyon ve prezervasyon UW solüsyonu ile yapıldı. Böbreklerden alınan parçalarda elektron-mikroskopik inceleme yapılarak lipid peroksidasyon ve glutatyon düzeylerine bakıldı. Birinci grubun EM incelemesinde eritrosi birikimi, 24 saat prezervasyon sonrası eritrositlerin aglütinasyonu ve endoteliuma yapışması esas bulgu idi. Reperfüzyon yapılan böbreklerde ise endotel zedelenmesi ve eritrosit ekstravazasyonuna rastlandı. İkinci grupta eritrosit birikimine rastlanmasına rağmen, 24 saat prezervasyon boyunca aglütinasyon ve adhezyon görülmedi, tubulus mitokondriumu ve mikrovillusları daha iyi korunmuştu, reperfüzyon sırasında eritrosit ekstravazasyonu seyrekti.

UW solüsyonunun renal dokuda glutatyon düzeyini yüksek tutarak, mitokondriumu ve mikrovillusları daha az hasar görmesine neden olduğu, 24 saat prezervasyon boyunca eritrositlerin endotel membranına adhezyonunu önlediği ve dolayısıyla iskemik reperfüzyon hasarlarını hafiflettiği görüşüne vardık.

SUMMARY

The preservation solution in cadaveric renal transplantation has been shown to be one of the major factors influencing the incidence of postoperative allograft dysfunction. The purpose of our study was to examine the ultrastructural and biochemical adverse effects of cold ischemia in the renal preservation with simple cold storage, and to investigate the efficacy of University of Wisconsin (UW) solution in the prevention of these adverse effects.

Rabbits in the first group underwent nephrectomy and perfused with the Euro-Collins (EC) solution, after 48 and 96 hours reperfusion was done with the blood of the same animal. Perfusion and preservation in the second group was done with the UW solution. The samples from the kidney were examined under electron-microscopy (EM) and lipid peroxidation and glutathione levels were analysed. In the EM examination of the first group; red blood cell (RBC) trapping, erythrocyte agglutination and endothelium adhesion were the major findings after 24 h duration of preservation. Endothelial defects and erythrocyte extravasation were observed in the kidneys underwent reperfusion. Although RBC trapping was seen in the second group, agglutination and adhesion was not seen in the 24 h preservation time. Mitochondria of the tubulus and microvilli were better protected and the erythrocyte extravasation was less prominent.

We concluded that UW solution causes less damage to the mitochondria and microvilli by maintaining high glutathione levels; prevents the adhesion of erythrocytes to the endothelium membrane during 24 h preservation; thereby lessening the damage caused by ischemic reperfusion.

Anahtar Kelimeler: Renal transplantasyon, Wisconsin solüsyonu, İskemik reperfüzyon

Key Words: Renal transplantation, Wisconsin solution, Ischemia-reperfusion

GİRİŞ

Kadavre renal transplantasyonda akut tubuler nekroz (ATN) insidansı %32-69 arasında değişmektedir (1,2). ATN erken postoperatif dönemde hemodializ gereksinimi oluşturmak ve immunosupressif tedavi imkanlarını kısıtlamanın yanı sıra allograftın 1 ve 5 yıllık yaşam süresini de etkilemektedir (3). Bu komplikasyonun önlenmesinde verici ve alıcıya bağlı faktörlere ve iskemik reperfüzyon hasarlarını minimize indirmeye yardım eden prezervasyon solüsyonlarına önem verilmektedir (4).

Başlangıçta karaciğer ve pankreas prezervasyonu için düşünülen ve bu organların soğuk koruma süresini arttırmakla birlikte fonksiyon göstergelerini iyi yönde etkileyen Wisconsin Üniversitesi solüsyonu kısa sürede böbrek naklinde de gereken yerini almıştır (5). Yapılan birçok deneysel çalışmada UW solüsyonunun diğer solüsyonlarla karşılaştırıldığında vasküler endoteliumu daha iyi koruduğu ve yeniden kanlanma sırasında renal mikrosirkülasyonu iyileştirdiği tespit edilmiştir (6). Fakat Büsing ve ark. çalışmalarında UW ve Euro-Collins (EC) solüsyonu ile insituyikanmış ve aynı solüsyonlarda reperfüzyondan 30 dak -ot'-a alınmış biopsilerin elektron-mikroskopik incel' de hücre ve mitokondriumlarda ödem, tubulus fırçamsı kenar defektleri ve tubuler nekrozaısından fark bulamamışlardır (7).

Eurotransplantın çokmerkezli sürdüğü bir çalışmada ise UW solüsyonun EC solüsyonu ile karşılaştırıldığında ATN insidansını %10 azalttığı gösterilmektedir (1). Öte yandan UW solüsyonun total adenin nukleotid azalmasının önemli bir bulgu olduğu iskemik hasarlı böbreklerin prezervasyonunda yararlı olduğu görüşü hakimdir (8).

Çalışmanın amacım basit soğuk koruma ile renal prezervasyonda 96 saatlik soğuk iskemi süresince ve reperfüzyon sırasında dokularda oluşan hasarları ultrastrüktürel ve biokimyasal olarak incelemek, bu hasarların önlenmesinde UW solüsyonunun etkinliğini araştırmak oluşturmaktadır.

MATERYAL METOD

Deney olarak ağırlığı 2.25-2.5 kg olan Yeni-Zelanda tavşanları kullanıldı. İV pentobarbital 20mg/kg + ketamin 25 mg/kg bolüs + 1 mg/kg/dak infüzyon anestezi altında laparotomi ve bilateral nefrektomi yapıldı. Ameliyat sırasında 50 mg/kg serum fizyolojik infüzyonu yapıldı.

1. Grup (n=12): İV 250 U/kg Heparin verildikten 3

dk. sora nefrektomi yapıldı. Böbrek arterlerine 20 G plastik kanül yerleştirildi, böbrek eriyen buzların içerisine alınarak 4 °C EC solüsyonu ile 100 cm H₂O basınçta 20 dak perfüze edildi (sıcak iskemik dönem: 2 dak).

İkinci grupta (n=12) perfüzyon ve prezervasyon UW solüsyonu ile yapıldı.

Her iki grupta ameliyat sırasında aorta kanülize edilerek 160 cc arteriyel kan sıratlı arteriyel kan sıratlı torbaya alındı ve 4 °C'de korundu. 48 (n=6) ve 96 saat (n=6) prezervasyon sonunda kan 37 °C'ye kadar ısıtılarak 100 cm H₂O basınçta 30 dak renal arterden reperfüzyon uygulandı. İlk perfüzyon ve kanla reperfüzyon sırasında böbrek ağırlığı, perfüze olunan sıvı miktarı ve perfüzyon süresi dikkate alınarak ortalama perfusat 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 soluyonuna konuldu. Milloning phosphat buffer ile ön fiksasyon, 1% OsO⁴ post fiksasyondan 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 (9); doku glutatyon düzeyine Ellman yöntemiyle bakıldı (10). Perfüzyon öncesi ve sonrası kan örneklerinde laktat dehidrogenaz (LDH) konsantrasyonu Buhl yöntemiyle kontrol edildi (11).

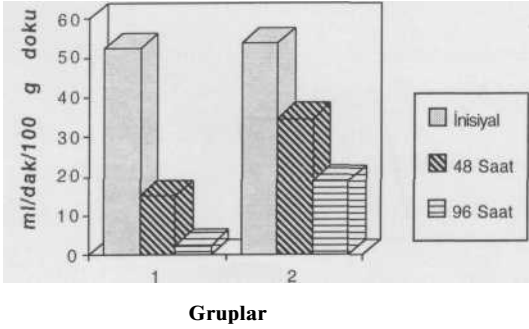
Kontralateral böbrekler EC bolüsyonu ile perfüzyon uygulanarak perfüzyonu takiben, 12, 24, 48, 72, 96 saat prezervasyon sonrası EM incelenmeye alındı, perfüzyonu takiben renal dokuda lipidperoksidasyon ve glutatyon düzeylerine bakıldı.

Elde edilen veriler istatistiksel olarak student t testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Öncelikle yıkama ve reperfüzyon sırasında perfüzyon parametreleri hesaplandı. Gruplarda ilk perfüzyon sırasında MPF parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (>0.05). 48 saat prezervasyon sonrası kanla yapılan reperfüzyon sırasında ise 2. grupta MPF 1. gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulundu (p<0.01). 96 saat SCS sonrası 1. grupta kanla reperfüzyon yeterli olmadı (no-

reflow phenomenon), 2. grupta MPF'de düşüş olmasına rağmen ($p < 0.01$) renal doku homogen şekilde kanla reperfüze oldu (grafik 1).

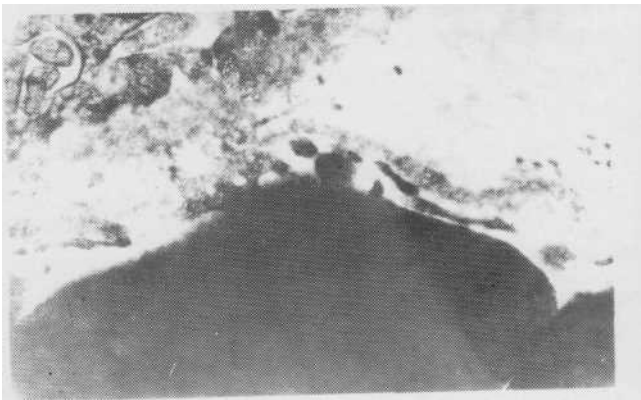


Grafik 1. Gruplarda ortalama akım hızı değerleri

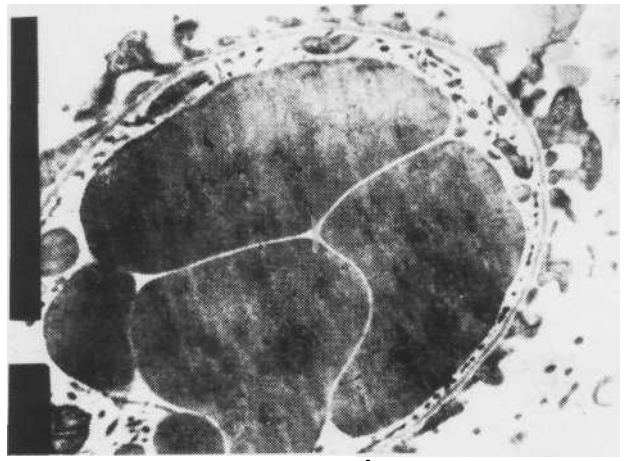
Kanla reperfüzyon sırasında idrar çıkışı 1. grupta görülmezken, 2. grupta 48 saat SCS sonrası 3 böbrekte 9-21 cc olarak, 2 böbrekte ise 2.5-4.0 cc olarak gözlemlendi.

Kontrilateral böbreklerin (reperfüzyon yapılmayan) EM incelemesinde her 2 grupta arteriollerde, glomerüller ve peritubuler kapillerlerde eritrosit birikimine rastlandı. Her 2 grupta perfüzyonu takiben ve 12 saat prezervasyon sonrası belirgin iskemik hasara rastlanmazken, 24 ve 48 saat koruma sonrası 1. grupta proksimal tubulus epitel hücrelerinde vakuolizasyon, mitokondriumlarda krista harabiyetine rastlanıldı.

Birinci grup böbreklerde 24 saat prezervasyon sonrası eritrositler arasında aglütinasyon, eritrositlerde endotelium arasında adhezyon görülürken (Resim 1), 2. grupta 24 saat soğuk iskemi sonrası kapillerlerde birikmiş eritrositlerde aglütinasyon, endoteliuma adhezyon rastlanılmadı (Resim 2). Fakat 48 saat prezervasyonu takiben bu tip belirliler görüldü.



Resim 1. Peritubuler kapillerde eritrositler arasında aglütinasyon, eritrositlerde endotelium arasında adhezyon (x 32 440)

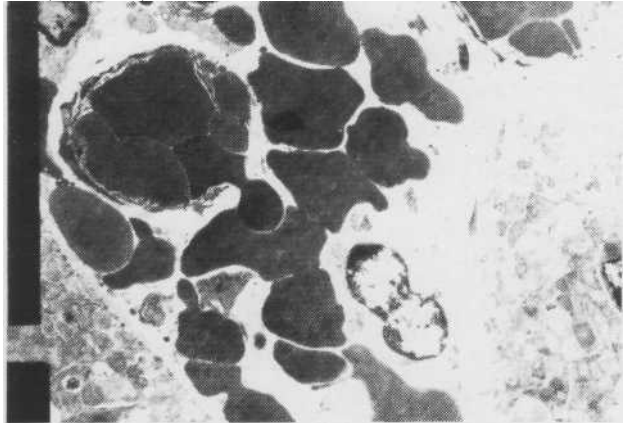


Jr «s.

Resim 2. Peritubuler kapillerde eritrosit agregasyonu: Aglütinasyon ve endoteliuma adhezyon yoktur. UW solüsyonu gurbu (x 10 600)

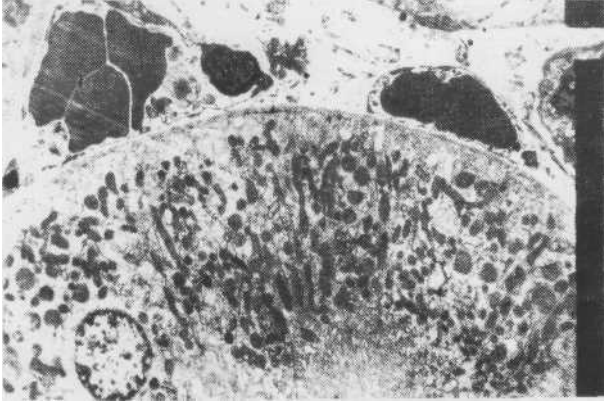
72 saat hipotermik koruma sonrası her 2 grupta proksimal tubulus epitel hücrelerinde dejeneratif değişiklikler artarken 2. grupta mitokondrium kristaları ve epitelin fırçamsı kenarları daha iyi korunmuştu. 96 saat prezervasyon sonrası mitokondriumlarda şişme ve krista kaybının yanı sıra, tubulus lümenin şişmiş mikrovillüsler ve sitoplazmik debrislerle tıkanmış olduğu görüldü. 72 ve 96 saat prezervasyon sonrası her 2 grupta eritrosit adhezyonu görülen bölgelerde kapiler endotelium devamlılığında bozulma tespit edildi.

48 saat prezervasyonu takiben kanla reperfüzyon yapılan böbreklerde; 1. grupta proksimal tübülüs epitel hücrelerinde orta ve yer yer ileri derecede vakuolizasyon, mitokondriumlarda krista kaybı, mikrovillüslerde şişme görüldü. 96 saat sonra reperfüzyon yapılan böbreklerde bu bulgular daha derindi ve lokal olarak epitel hücresi nüvesi invaginasyonu, tubulus lümeninin sitoplazmik debrisler ve şişmiş mikrovillüslerle tıkanmasına rastlanıldı. Sık görülen belirtilerden biri de endotelial defektler ve çok sayıda eritrosit ekstravazasyonu idi (Resim 3)



Resim 3. Kanla reperfüzyon yapılan 1. grupta kapillerde endotelial defekt ve çok sayıda eritrosit ekstravazasyonu (x 3 600).

2. Grupta 48 saat sonra tubulüs hücreleri ve onların mitokondriumları 1. gruba ve reperfüzyon yapılmayan 2. gruba (48 saat) oranla daha iyi durumda idi (**Resim 4**). 96 saat sonra reperfüzyon yapılan böbreklerde ise iskemik hasarlar orta ve yer yer ileri derecede idi, fakat eritrosit ekstrava/asvonuna daha sevrak **rastlanıldı**.



Resini 4. kanla reperfüzyon yapılan 2. grupta proksimal tubulus epitel hücresi mitokondrium ve kristalleri iyi korunmuş (x 3 600)

Gruplar arasında reperfüzyonu takiben renal dokularda lipid peroksidasyon düzeyinde istatistiksel anlamlı fark bulunamazken ($P>0.05$), UW solüsyonu grubunda glutasyon miktarı daha yüksekti ($P>> 48$ ve 96 saat prezervasyon sonrası yapılan reperfüzyon sırasında 1. gruba oranla 2. grupta renal dokuda lipid peroksidasyon düzeyi istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük, glutasyon düzeyi ise yüksek bulundu ($P<0.01$) (**Tablo 1**).

Tablo 1. Renal dokuda lipid peroksidasyon ve glutasyon düzeyleri.

Gruplar	Lipid peroksidasyonu MDA ng/g	Glutasyon $\mu\text{mol/g}$
1. grup perfüzyonu takiben	7.2 0.9	18.8 2.6
48 saat	16.5 2.6	10.9 2.1
96 saat	29.4 3.5	7.0 1.1
2. grup perfüzyonu takiben	6.6 0.6	21.9 2.3
48 saat	12.3 1.7	17.8 1.9
96 saat	23.3 2.7	13.4 1.8

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 SCS sonrası reperfüzyon sırasında 1. gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük idi ($P<0.001$) (**Tablo 2**)

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

Gruplar	Perfüzyon öncesi	Perfüzyon sonrası
1. grup 48 saat	166 8	383 36
96 saat	179 9	1014 94
2. grup 48 saat	160 7	262 31
96 saat	175 7	611 39

TARTIŞMA

Transplantasyon amacı ile organın hazırlanması sırasında kaçınılmaz olan sıcak ve soğuk iskemisi sonucu oluşan hasarlar reperfüzyon döneminde allograftta küçük damarlarda dolaşım bozukluklarına yol açmaktadır (12). "No-reflow" adlandırılan bu durumun patogeneğinde iskemik epizoda bağlı kapiler ve arteriollerde görülen eritrosit birikimine önem verilmektedir (12). Adenosin triphosphatın (ATP) tükenmesi veya hipoterminin Ca ATP-ase fermentini inaktive etmesi ile kalsiyumun membran proteinlerine bağlanması sonucu eritrositlerin rigid duruma gelerek kapilerin tıkanmasına yol açtığı düşünülmektedir (13). Çalışmamızda her 2 grupta arteriol ve kapillerlerde belirgin eritrosit agregasyonu tespit edildi.

Fakat Booster ve ark. iskemik hasarlı renal allograftlarda eritrosit agregasyonunun yalnız sintigrafik olarak nonperfüze alanlarla sınırlı olmadığını tespit etmişlerdir (14). Anaise ve ark. Collins solüsyonu ile perfüzyon sırasında oluşan glomerüler eritrosit birikiminin her zaman mekanik tıkanmalara neden olmadığını belirtmişlerdir (15).

Çalışmamızda 1. grupta 24 saat prezervasyon sonrası eritrositler arasında aglütinasyon, eritrositlerle endotelium arasında adhezyon ve soğuk iskemisinin 72 saat olduğu durumlarda adhezyon bölgelerinde endotel bütünlüğünün bozulduğu görüldü. 2. grupta 24 saat prezervasyonu takiben eritrositler arasında aglütinasyon ve adhezyon belirtileri olmadığı, bu tür değişikliklerin 48 saat hipotermi sonrası rastlanıldığı saptandı. Kanımızca eritrositlerin aglütinasyonu ve endoteliyuma adhezyonu reperfüzyon sırasında görülen no-reflow fenomeni nedenleri arasında önemli yer almaktadır.

Kadaverik renal transplantasyonda allograftın dönüşümsüz değişiklikler oluşmadan uygun alıcı bulunana ve alıcının ameliyata hazırlanmasına, gerektiği takdirde organın diğer transplant merkezlerine nakil edilmesine olanak sağlayan zaman diliminde korunması önemli bir sorun oluşturmaktadır. Öte yandan soğuk iskemisi süresinin >24 saat olan allograftlarda akut tübüler nekroz insidansının yükselmesi ve allograft yaşam

süresinin azalması görülmüştür (16, 17). Böbreklerin hipotermik ortamda uzun süreli korunması sırasında en sık görülen morfolojik değişiklikler ATP tükenmesi sonucu proksimal tubulusepitel hücrelerinde mitokondrium **harabiyeti**, mikrovillus hasarı ve vasküler endoteliumda oluşan dejenerasyondur (18). UW solüsyonu içeriğinde olan glutatyon ve adenozin sayesinde iskemi süresinde oksijen radikallerinin sitotoksik etkisini azaltır, reperfüzyon döneminde ATP sentezini stimule eder ve dolayısıyla iskemiye hassas proksimal tubulus epitel hücrelerinin daha iyi korunmasına olanak sağlar (4). Bir çok deneysel çalışmada UW solüsyonunun EC solüsyonu ile karşılaştırıldığında hipotermi süresine bağlı vasküler endoteliumda oluşan hasarları azaltarak, reperfüzyon döneminde renal hemodinami ve mikrosirkülasyon parametrelerini olumlu etkilediği yönünde bulgular sunulmuştur (6, 19).

Bizim çalışmamızda <72 saat prezervasyon süresince UW solüsyonunun EC grubu ile karşılaştırıldığında tubulus epitelinde mitokondriumlarda krista kaybını azalttığı, hücre ve mikrovillusvakuolizasyonunu belirgin şekilde önlediği gözlenmiştir. UW solüsyonu ile prezervasyon yapılan grupta 48 ve 96 saat SCS sonrası aynı hayvanın kanı ile yapılan reperfüzyon sırasında MPF'in EC grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması mikrosirkülasyonundaha iyi korunmasının göstergesidir.

Dokuda olan glutatyonun iskemi süresince tükenmekte olduğu, bu faktörün H₂O₂, lipid peroksidler, disülfidler, askorbat ve serbest oksijen radikallerinin inhibe olunmasında önemli rol oynadığı bildirilmektedir (20). Glutatyonun UW solüsyonun esas komponentlerinden biri olmasına rağmen iskemik-reperfüzyon hasarları sırasında renal dokuda lipid peroksidasyon ve glutatyon düzeylerini araştıran çalışmalara literatürde rastlayamadık. Bizim çalışmamızda 48 ve 96 saatlik soğuk korumayı takiben yapılan reperfüzyon sonrası UW grubunda EC grubuna oranla lipid peroksidasyonun istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük, glutatyon düzeyinin yüksek olduğu tespit edildi. Perfüzyon sonrası LDH düzeyinin UW grubunda daha düşük bulunması da bu solüsyonla prezervasyonda organın daha az iskemik hasara uğradığını kanıtlayıcı niteliktedir.

Sonuç olarak deneysel çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular EC solüsyonu ile karşılaştırıldığında UW solüsyonu ile prezervasyonun renal allograftın iskemik-reperfüzyon hasarlarını **hafiflettiğini** düşündürmektedir. UW solüsyonunun reperfüzyon sırasında mikrosirkülasyonu iyileştirmesi kanımızca onların > 48 saat

prezervasyon süresince eritrosit aglütinasyon ve adhezyonunu önlemesi, 72 saatlik hipotermik koruma süresince tubulus epitelinde ve vasküler endoteliumda oluşan hasarları hafifletmesi ile izah edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Ploeg RJ, Van Bockel, Langendijk PTN, et al. Effect of preservation solution on results of cadaveric kidney transplantation. *Lancet* 1992; 340 (18): 129-136.
2. Peters GT, Shaver TR, Ames JE, et al. Cold ischaemia and outcome in 17,937 cadaveric kidney transplants. *Transplantation* 1995; 59(2): 191-196.
3. Furukawa T, Hattori R, Kinukawa T. Analysis of acute rejection episodes during acute tubular necrosis. *Transplant Proc* 1994; 26(4): 1999-2000.
4. Belzer FO, Southard JH, Principles of solid organ preservation by cold storage. *Transplantation* 1988;45(4): 673-676.
5. Sollinger WH, Walter BW, Alexandra AM et al. Combined liver and pancreas procurement with Belzer-UW solution. *Surgery* 1989; 106: 685-691.
6. Elberl T, Schmid T, Wodlinger R. et al. Which organ preservation solution best protects vascularendothelium. *Transplant Proc* 1993; 25(6): 3019.
7. Busing M, Hopt UT, Scharck W. et al. Ultrastructural changes of different preserved human kidney allografts before and after reperfusion. *Transplant Proc* 1990; 22(2): 448-449.
8. Booster MH, van der Vusse GJ, Wijnen RMH. et al. University of Wisconsin solution is superior to histidine tryptophan ketoglutarate for preservation of ischemically damaged kidneys. *Transplantation* 1994; 58(9): 979-984.
9. Trotta RJ, Sullivan SG and Stern A. Lipid Proxidation and hemoglobin degradation in red blood cells exposed to t-butyl hydroperoxide. *Biochem J.* 1982; 204:359-364.
10. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Archs Biochem Biophys* 1959;82:70-77.
11. Buhl SN and Jackson KY *Clin ehem* 1978; 24:828.
12. 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.
13. Weed RI, La Celle PL and Merrill EW. Metabolic dependence of red cell deformability. *J. Clin. Invest.* 1969; 48: 795-809.
14. Booster MN, Yin M, Stubenitsky BM, et al. Benefical effect of machine perfusion on the preservation of renal microcirculatory integrity in **ischemically** damaged kidneys. *Transplant Proc* 1993; 25: 3012-3016.
15. Anaise D, Ramsammy L, Lane B, Waltzer WC and Rapoport FT. The pathophysiology of the No-Reflow phenomenon **in** cold-stored kidneys. *Transplantation Proc*

- 1987; 1: 1348-1352.
16. Troppmann C, Gillingham JK, Benedetti E et al. Delayed graft function, acute rejection, and outcome after cadaver renal transplantation. *Transplantation* 1995; 59(7): 962-968.
 17. Albrecht K, Niebel W, Erhard J and Eigler FW. Does initial graft function in cadaveric renal transplantation have a benefit for the 1-year graft survival rate. *Transplant Proc* 1988; 20(5): 931.
 18. Yalın A, Gürsoy E. Böbreklerin hipotermik ortamda uzun süreli korunmasına bağlı morfolojik değişiklikler, *Türk nefroloji Dializ ve Transplantasyon Dergisi* 1992; 1:8-14.
 19. Ueda Y, Todo S, Inventarza O. et al. Specific effect of University of Wisconsin solution on renal hemodynamics and microvasculature in canine kidney **preservation**. *Transplant Proc.* 1990; 22(5): 2216-2218.
 20. Freeman BA, Grapo JD. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412.