

DENEYSEL BÖBREK SICAK İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE ALLOPURİNOL'ÜN ETKİLERİ

PROTECTIVE EFFECTS OF ALLOPURINOL IN EXPERIMENTAL RENAL WARM ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

OTÇU, S., ÖZTÜRK, H., DOKUCU, A.İ.

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı, DİYARBAKIR

ÖZET

Çalışmamızda böbrek iskemî-reperfüzyon hasarı sonrası ortaya çıkan olumsuz etkileri ortadan kaldırmak için, allopürinol kullanılmış ve bu amaçla ortalama ağırlığı 260 gram olan Sprague-Dawley cinsi 30 adet sıçan kullanılmıştır. Her biri 10 denekten oluşan 3 grup oluşturuldu. Grup 1 (Sham), sadece sağ nefrektomi. Grup 2 (Kontrol), sağ nefrektomi, sol böbrek iskemîsi. Grup 3 (allopürinol), sağ nefrektomi sol böbrek iskemîsi. Deney gruplarında iskemî sonrası klip çıkarılarak 60 dakika reperfüzyon sağlandı. Tüm sıçanlara işlemden sonraki 8. günde Tc-99m DMSA böbrek sintigrafisi çekildikten ve serum üre, kreatinin ölçümleri yapıldıktan sonra sol nefrektomi uygulandı ve böbrekler histopatolojik değerlendirmeye alındı.

Sol böbrekte, ortalama Tc-99m DMSA değerleri sham, kontrol ve allopürinol grubunda sırasıyla 14,540, 11,158 ve 13,080 bulundu. Üre değeri sırasıyla 41,7, 58,2 ve 49,5 mg/dl olarak bulunurken, kreatinin değerleri sırasıyla 0,65, 0,98 ve 0,67mg/dl olarak saptandı. Tc-99m DMSA, üre ve kreatinin açısından kontrol grubu ile allopürinol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlılık bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$). Histopatolojik olarak kontrol grubunda yaygın nekroz saptanırken, Allopürinol grubunda nekrozun daha az geliştiği, glomerül ve distal tubullerin korunduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak Allopürinol, sıcak iskemiden böbreğin korunmasında etkili bir ajan olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek sıcak iskemî-reperfüzyon, hasarlanma, sıçan, allopürinol

ABSTRACT

We aimed to show the protective effects of allopurinol on ischemia-reperfusion injury of kidneys in this experimental study using 30 Sprague-Dawley rats weighting meanly 260 gr. We performed 3 groups each containing 10 rats. Group 1(Sham): only right nephrectomy. In other 2 groups, right nephrectomy and left renal ischemia by using clips were performed. Groups 2 (control): no agent was given, Group 3: allopurinol. The clips were taken from rats artery at the end of 60 minute ischemia and reperfusion was performed in all ischemia performed groups. At 8th postoperative day, Tc-99m DMSA renal uptake scintigraphy and blood samplings for urea and creatinine were performed in all rats and then left nephrectomy was done for histopathological examinations.

Mean values of Tc-99mDMSA % renal uptake scintigraphy for left kidney in Sham, Control and Allopurinol groups were 14,540, 11,158 and 13.080 respectively. Serum urea values were as 41,7, 58,2 and 49,5 mg/dl and creatinin values as 0.65, 0,98 and 0.67 mg/dl respectively. Comparison of mean value Tc-99m DMSA % renal uptake scintigraphy, serum urea and creatinine between control and allopurinol groups was found significantly different ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$). Histopathologically we observed a diffuse necrosis in control group but lesser tubular necrosis in allopurinol group.

As conclusion, allopurinol treatment were positively effected in kidney ischemia reperfusion.

Key Words: renal warm ischemia-reperfusion, injury, rat, allopurinol

GİRİŞ

Böbrek iskemî-reperfüzyon hasarı çoğunlukla travma, multipl organ yetmezliği, şok ve sepsis de ortaya çıkar^{1,2}.

İskemî-reperfüzyona bağlı böbrekte oluşan hasarda serbest oksijen radikalleri özellikle sorumlu tutulurken, ksantin oksidaz ise serbest ok-

sijen radikallerinin primer kaynağı olarak gösterilmiştir^{3,4,5,6}.

Çalışmamızda sıcak iskemî uygulanan sıçan böbreğinde iskemî sonrası dönemde oluşan doku hasarı üzerine allopürinolün koruyucu etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney modeli

Çalışmamızda ortalama ağırlığı 260 gram (225-290 gram arasında) olan Sprague –Dawley cinsi 30 adet erkek sıçan kullanıldı. Her biri 10 denekten oluşan 3 grup oluşturuldu.

Deneklere işlem öncesi su ve yiyecek kısıtlaması uygulanmadı. 25mg/kg dozunda im. Keta-min hidroklorür ile genel anestezi sağlandı.

Genel anesteziyenin yaklaşık 10-15 dk sonra yeterli anestezi derinliği oluştu ve karın derisi %10 polividin-iyod solüsyonuyla silinerek örtüldü. Karın 4-5 cm uzunluğunda orta hat kesi ile açıldı. Sağ nefrektomi uygulandı ve sol böbrek arteri atravmatik Yaşargil anevrizma klipi ile klempe edildi. 60 dakikalık iske-mi sonrası klib çıkarılarak reperfüzyon sağlandı. Sonra karın uygun şekilde kapatıldı.

İşlem sonrası 8. günde serum üre, kreatinin ölçümleri ve Tc-99m DMSA sintigrafisi çekildikten sonra sıçanlar tekrar opere edilerek sol nefrektomi uygulandı ve histopatolojik değerlendirilmeye alındı.

Deney protokolü

Grup 1 (n=10) (Sham operasyon): Sadece sağ nefrektomi.

Grup 2 (n=10) (Kontrol): Sağ nefrektomi ve 60 dakika sol böbrek iskemisi.

Grup 3 (n=10) (Allopürinol): Sıçanlara iske-mi-reperfüzyon öncesi ve sonrasında olmak üzere 2 gün süre ile 50mg/kg /gün Allopürinol (Al-logut tb) 6F sonda aracılığı ile oral verildi. Sağ nefrektomi ve 60 dakika sol böbrek iskemisi uygulandı.

Tc-99m DMSA sintigrafisi için sıçanların dorsal penil veni 24F branül ile kateterize edildi ve 1 mikrocuri Tc-99m verilerek DMSA bulguları elde edildi.

Histopatolojik inceleme

Bir hafta süre ile %10'luk nötral formalin solüsyonunda bekletilen örnekler daha sonra parafin takibine alındı. Elde edilen parafin bloklar-dan kızaklı mikrotom yardımı ile 5µ kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hemotoksilen-Eozin (H-E) boyası ile boyanarak ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirme

İşlemden sonraki 8. günde Tc-99m DMSA böbrek sintigrafisi, üre, kreatinin değerleri topla-narak ortalama değerler elde edildi. Ortalama de-ğerler Mann-Whitney U testi kullanılarak analiz edildi. P değerinin 0,05'den küçük olması istatis-tiksel olarak anlamlı kabul edildi.

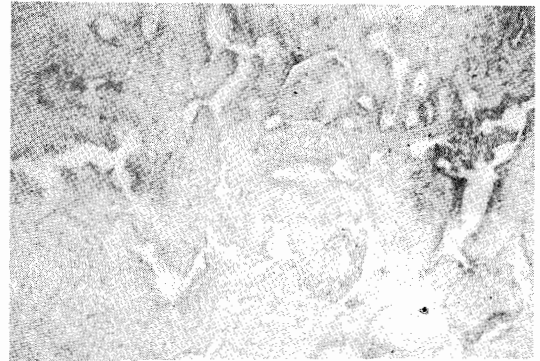
BULGULAR

Sham grubunda ortalama Tc-99m DMSA değerleri sol böbrekte %14.540, üre 41.7mg/dl, kreatinin ise 0.65 mg/dl olarak bulundu.

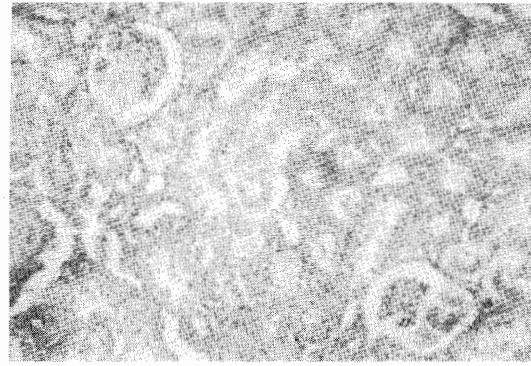
Kontrol grubunda ortalama Tc-99m DMSA değerleri sol böbrekte %11.158, üre 58.2 mg/dl, kreatinin ise 0.98 mg/dl olarak bulundu. Kontrol grubu ile sham grubu arasında Tc-99m DMSA, üre, kreatinin açısından istatistiksel anlamlılık bulundu ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$).

Allopürinol grubunda ortalama Tc-99m DMSA sol böbrekte %13.080, üre 49.5 mg/dl, kreatinin ise 0.67 mg/dl olarak bulundu. Kontrol grubu ile allopürinol grubu arasında Tc-99m DMSA, üre, kreatinin açısından belirgin olumlu iyileşme olduğu saptandı ($p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.01$).

Histopatolojik olarak Sham grubunda glo-merüllerde hipertrofi izlendi. Kontrol grubunda ise ağır iske-mi ve belirgin yaygın nekroz mev-cuttu (Resim 1). Allopürinol grubunda ise glo-merül ve distal tubüller korunmuş ancak yer yer nekroz görüldü (Resim 2).



Resim 1: Kontrol grubunda ağır iske-mi ve yaygın nekroz görülmektedir (H-E 40x büyütme).



Resim 2: Allopürinol grubunda glomerul, proksimal ve distal tubüller korunmuş ve yer yer nekroz görülmektedir (H-E 40x büyütme).

TARTIŞMA

Böbrek iskemisi-reperfüzyon hasarı, travma ve multipl organ yetmezliği, kadavra donör ve canlı böbrek kullanılarak uygulanan böbrek transplantasyonu sonrası %30-60 oranında gelişebilen akut böbrek yetmezliğine neden olur^{1,2,7,8}.

Gupta ve arkadaşları⁹ sıçanlar da 60 dakika böbrek iskemisi-reperfüzyon uygulayıp allopürinol vererek yaptıkları çalışmalarında, kontrol grubunda belirgin histolojik bozukluk saptarlarken, kan üre değerinde değişiklik olmadığını, serum kreatinin ölçümlerinde ise belirgin iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. Hansson ve arkadaşları⁴ ise sol nefrektomi uyguladıkları tavşanlarda sağ böbrek arterine 60 dk sıcak iskemisi uygulamasından önce 50mg/kg dozunda sodyum allopürinölü iv olarak vermişler ve böbreğin iskemiden korunmasındaki etkilerini araştırmışlardır. Sadece iskemisi uygulanan kontrol grubuna göre, iskemiden 10 dk önce allopürinol uygulanan grupta böbrek kan akımının arttığını, renal vasküler rezistansın azaldığını ve serum kreatinin düzeyinin daha az yükseldiğini saptamışlardır. Her iki grupta da işlemden sonraki 2. günde idrar osmolalitesinin azaldığını fakat allopürinol kullanılan grupta daha kısa sürede normale döndüğünü saptamışlardır. Baker ve arkadaşları² 45 dakika sıcak böbrek iskemisi uygulanan sıçanlarda herhangi bir tedavi uygulanmayan gruba göre allopürinol uygulanan grupta postoperatif 4. günde kreatinin seviyelerinin normale döndüğünü ve renal tubüller bozukluğun daha az ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Paller ve arkadaşlarının¹⁰ sıçanlarda sağ nefrektomi ve 60 dk sol böbreğe iskemisi uygulayarak

yaptıkları çalışmalarında allopürinol verilerek tedavi edilen grupta reperfüzyondan 72 saat sonra plazma kreatinin değerinin 2,7 mg/dl'den 1,4mg/dl'ye düştüğünü ve böbrek iskemisi sonrası kortikal mitokondrilerde lipid peroksidasyonunun azaldığını bildirmişlerdir. Hestin ve arkadaşlarının¹¹ sıçanlarda 30dk'lık böbrek iskemisi-reperfüzyon çalışmalarında ise, allopürinölün reperfüzyonun ilk bir kaç saatinde böbreğin hemodinamik, konsantrasyon ve eliminasyon fonksiyonlarında ortaya çıkan azalmayı büyük oranda düzelttiği bildirilmiştir. Çalışmamızda Allopürinol kullandığımız grupta daha önceki çalışmaları destekler şekilde üre ve kreatinin değerlerinin işlemden sonraki sekizinci günde normale yaklaştığı bulundu. Ayrıca diğer çalışmalardan farklı olarak kullandığımız bir parametre olan Tc-99m DMSA böbrek sintigrafi çalışmasında allopürinol grubunda kontrast maddenin daha iyi tutulduğu, dolayısıyla allopürinölün böbreğin fonksiyonel yönden daha iyi durumda kalmasını sağladığı söylenebilir. Histopatolojik değerlendirmede proksimal ve distal tubüllerde daha az nekrozun görüldüğünü ve yaygın nekrozun azalmasını ise yukarıdaki sonuçlarımızı desteklediğine inanıyoruz.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde, allopürinol'ün 60 dakikalık sıcak böbrek iskemisi-reperfüzyon hasarından böbreğin hem fonksiyonel ve hem de histopatolojik yönden korunmasında faydalı bir ajan olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR:

- 1- **Baron P, Gomez MO, Casas C et al.:** Renal preservation after warm ischemia using oxygen free radical scavengers to prevent reperfusion injury. *J Surgical Research*, 51:60-65, 1991.
- 2- **Baker GL, Corry RJ, Autor AP.:** Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. Protective effect of superoxide dismutase. *Ann Surg.*, 12:628-641, 1985.
- 3- **Greenstein A, Arovot D, Braf Z.:** The role of oxygen free radicals and prostaglandins in reperfusion injury to warm ischemic kidneys. *Urol Res.*, 19:393-395, 1991.
- 4- **Hansson R, Johansson S, Johansson O et al.:** Kidney protection by pretreatment with free radical scavengers and allopürinol: renal function at recirculation after warm ischemia in rabbits. *Clin Sci.*, 71:245-251, 1986.

- 5- **Hernandez LA, Grisham MB, Twohig B.:** Role of neutrophils in ischemia-reperfusion induced microvascular injury. *Am J Phys.*, 253:699-703, 1987.
- 5- **Zimmerman B.J, Parks DA, Grisham MB, Granger DN.:** Allopurinol does not enhance antioxidant properties of extracellular fluid. *Am J Phys.*, 24:202-206, 1988.
- 7- **Oppenheimer F, Alcaraz A, Manalich M et al:** Influence of the calcium blocker diltiazem on prevention of acute renal failure after renal transplantation. *Trans Proceedings.*, 24:50-51, 1992.
- 3- **Eschwege P, Paradis V, Conti M, et al.:** In situ detection of lipid peroxidation by-products as markers of renal ischemia injuries in rat kidneys. *J Urol.*, 162:553-7, 1999.
- 9- **Gupta PC, Matsushita M, Oda K, et al.:** Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in rats by allopurinol and prostaglandin E1. *Eur Surg Res.*, 30:102-7, 1998.
- 10- **Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF.:** Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J Clin Invest.*, 74:1156-6, 1984.
- 11- **Weight SC, Furness PN, Nicholson ML.:** New model of renal warm ischaemia-reperfusion injury for comparative functional, morphological and pathophysiological studies. *Br J Surg.*, 85:1669-73, 1998.