

VERAPAMİL VE ALFA-TOKOFEROLÜN RAT BÖBREĞİNDEKİ DENEYSEL REPERFÜZYON HASARI ÜZERİNE KARŞILAŞTIRMALI ETKİLERİ

THE COMPARATIVE EFFECTS OF VERAPAMIL AND ALPHA-TOCOFEROL ON EXPERIMENTAL REPERFUSION INJURY IN THE RAT KIDNEY

BAŞAY S., ADSAN Ö., İNAL G., ÇETİNKAYA M.

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Üroloji Kliniği, ANKARA

ABSTRACT

Objectives: This study investigated the effects of verapamil, a calcium channel blocker and alpha-tocopherol, vitamin E on lipid peroxidation which represents reperfusion injury, in-vivo in experimental ischemia-reperfusion injury of the rat kidneys.

Materials and methods: Wistar rats were subjected to 60 minutes of warm ischemia by cross clamping the whole renal pedicles bilaterally. Each drug was give intravenously at the end of ischemic period and at the beginning of reperfusion. The animals (n=24) were divided in to four groups; Group1, ischemic controls receiving physiological saline 0.5 ml/kg; Group 2, verapamil 1.25 mg/kg; Group3, alpha-tocopherol 100 mg/kg; Group 4, Sham group. Evaluation was done at 48 hours after the onset of reperfusion. Lipid peroxidation was measured in plasma using malondialdehyde (MDA) assay. Additional renal damage was assessed by kidney function tests.

Results: Lipid peroxidation was increased significantly in bilateral warm renal ischemia in Group 1 when compared to sham Group. Same deleterious effect on kidney function tests was observed. Neither physiological saline nor alpha -tocopherol administration had a decreasing effect on MDA values. But administration of verapamil at the onset of reperfusion prevented the increase in lipid peroxidation ($p<0.01$).

Conclusion: The results of this study suggest a better protective role of verapamil than alpha-tocopherol in lipid peroxidation in this animal model.

Key Words: Reperfusion injury, verapamil, alpha-tocopherol, lipid peroxidation

ÖZET

Bu çalışmada, deneysel olarak rat böbreğinde in vivo oluşturulan reperfüzyon iskemisinde, oluşan hasardan sorumlu lipid peroksidasyonuna, kalsiyum kanal blokleri olan verapamil ile vitamin E olarak bilinen alfa-tokoferolün karşılaştırmalı koruyucu etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

Wistar ratları, bilateral renal pedikülleri klemplenmek yoluyla 60 dakika süreyle sıcak iskemiyeye maruz bırakılmıştır. İlaçlar, intravenöz olarak iskemik periyodun sonunda reperfüzyon başlamadan verilmiştir. 24 adet rat 4 gruba ayrıldı. Grup 1 iskemik kontrol fizyolojik salin solüsyonuyla (0,5 ml/kg), grup 2 verapamil 1.25 mg/kg, grup 3 alfa-tokoferol 100 mg/kg, grup 4 sadece laparotomi. Ölçümler reperfüzyonun 48. saatinde yapıldı. Lipid peroksidasyon ölçümleri malondialdehit (MDA) metodu ile yapıldı. Ek olarak böbrek fonksiyon testleri ile renal hasar tayini yapıldı.

Lipid peroksidasyonu grup 1'de laparotomi grubu ile kıyaslandığında belirgin olarak artmış bulundu. Benzer etki böbrek fonksiyon testlerinde de gözlemlendi. Fizyolojik salin grubunda ve alfa tokoferol grubunda MDA düzeylerinde azaltıcı etki gözlenmedi. Verapamil verilen grupta ise lipid peroksidasyonudaki artışın engellendiği görüldü ($p<0.01$). Sonuç olarak bu çalışmada verapamilin alfa-tokoferole göre lipid peroksidasyonunda daha iyi bir koruyucu etkisi olduğu gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Reperfüzyon hasarı, verapamil, alfa-tokoferol, lipid peroksidasyonu

GİRİŞ

İskemik dokuların reperfüzyonuyla oluşan oksijen kökenli serbest radikallerin, reperfüzyon hasarı patogenezinde önemli rol oynadıkları büyük çoğunlukça kabul edilmektedir¹. Reaktif oksijen radikalleri (Süperoksit radikal, hidrojen peroksit, hidroksil radikal); miyokard, ince bağırsaklar, çizgili kas, karaciğer ve böbrekler gibi çe-

şitli dokuların reperfüzyon hasarlarının oluşmasında rol oynamaktadırlar²⁻⁹. Oluşan radikal formları; esas olarak hücre membranında lipid peroksidasyonu yoluyla doku hasarı oluşturmaktadırlar¹⁰. Lipid peroksidasyon boyutunu ölçmek için; kolaylığı ve duyarlılığı nedeniyle malondialdehit (MDA) metodunu kullanmayı uygun bulduk.

Dergiyi Geliş Tarihi: 28.06.2002

Yayına Kabul Tarihi: 07.11.2002 (Düzeltilmiş hali ile)

Beta-karoten, askorbik asit, alfa-tokoferol gibi serbest radikal önleyicileri; doku direncini, oksidatif stres ve serbest radikallere karşı oluşturlar^{1,11}. Dokulardaki antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aşacak miktarlardaki, reaktif oksijen radikallerinin oluşmasının, reperfüzyon hasarına yol açtığı düşünülmektedir. Antioksidanların esas fonksiyonu, serbest radikal oluşumunu engellemektir¹. Antioksidanların en popüler olan ve en çok çalışılanı alfa-tokoferoldür^{10,12-15}. Alfa-tokoferol dokuları peroksidasyondan koruyarak iş görür, hem peroksidasyon zincirini kırar hem de lipid peroksil radikalini (LOO) ortadan kaldırır. Kalsiyum kanal blokörleri, daha önceki reperfüzyon hasarı modellenen çalışmalarda, organ fonksiyonunun korunmasında değerli olarak bulunmuştur¹⁶⁻¹⁹. Verapamil'in reperfüzyon sırasında, serbest radikal oluşumunu engelleyici etkisi, daha önceleri gösterilmiştir^{18,20-22}.

Bu hayvan modeli çalışmasında, verapamil ile alfa-tokoferol'ün karşılaştırmalı olarak MDA metodunu kullanarak, rat böbreğinde in-vivo reperfüzyon hasarına olan etkilerini araştırmak amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvan modeli: Yirmidört adet erkek Wistar cinsi rat (150-200 gr) 4 gruba ayrılarak çalışıldı. Grup1: Fizyolojik salin solüsyonu ile tedavi edilen kontroller (n=6), Grup2: Verapamil 1.25 mg/kg (Knoll-Türkiye) ile tedavi edilenler (n=6), Grup3: Alfa-tokoferol 100 mg/kg (Roche-Türkiye) ile tedavi edilenler (n=6), Grup4: Sham (sadece laparotomi yapılanlar) (n=6).

Tüm ratlar, deney süresinde standart hayvan yemi ve su ile beslendi, metabolik kafeslerde tek olarak tutuldu. Anestezi işlemi Xylazine 10 mg/kg ve Ketamine 90 mg/kg ile yapıldı. Karın cildi tıraş edilerek %10 povidine ile temizlendikten sonra yaklaşık 2 cm'lik üst abdominal orta hat kesi ile laparotomi yapıldı ve uygun şekilde diseksiyon ile renal pediküllere ulaşıldı. İlk üç grupta mikrovasküler klempler kullanılarak bilateral renal pediküller oklüze edildi ve 60 dakikalık renal iskemi uygulandı. İlaçlar reperfüzyonda 5 dakika önce vena cava yoluyla puşe olarak verildi. Laparotominin kapatılmasında önce hayvan ağırlığının %2.5'i kadar fizyolojik salin solüsyonu subkutan olarak uygulandı. Anestezi etkisi

geçtikten sonra hayvanlar tekrar metabolik kafeslere konulup yiyecek ve su verildi. Kırksekiz saat sonra, tekrar anestezi uygulanarak laparotomi yapıldı. Renal fonksiyon değerlendirilmesi ve MDA ölçümleri için vena cavadan kan örnekleri alındı. Çalışma bitiminde ratlar kardiyak ponksiyon ile sakrifiye edildi. Renal fonksiyon değerlendirmesi için serum üre, kreatinin ve kreatinin klirensi çalışmaları otomatik analizör ile yapıldı. Kreatinin klirensi ölçümü; ratların metabolik kafeslerinden elde edilen son 24 saatlik idrar miktarları ve vena cavalardan alınan serum örnekleri kullanılarak standart klirens formülü ile yapıldı. Klirens, $U \cdot V/P$ formülü ile hesaplandı.

U=İdrar kreatinin (mg/dl)

P=Plazma kreatinin (mg/dl)

V=24 saatlik idrar miktarı (ml)

Lipid peroksidasyon tayini: Serbest radikaller, poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu ortaya çıkarlar. Bunun tayin prensibi malondialdehit (MDA) ile Tiyobarbitürik asit (TBA)'nın reaksiyonunu temel alır. Bu deneyde MDA, lipid peroksidasyonunun ve dolayısı ile serbest radikal aktivitesinin bir belirleyicisi olarak modifiye Yagi metodu kullanılarak ölçüldü²³. En az 0.5 ml'lik kan örnekleri 50 µl (10 mg/ml) içeren test tüplerine alındı ve 5 dakika süre ile 3000 devir/dakika ile santifüje edilip plazması alınarak hemen çalışıldı. 100 µl plazma ile 1 ml tampon (4 derece santigratta, 15 mM Na ve 145 mM K içeren, pH 7'ye ayarlı, 50 mM P tamponu ile) yapıldı. Daha sonra 1.5 ml TBA eklendi. TBA, 13.5 gr tiyobarbitürik asit, 0.33 gr triklorasetik asit ve 8.5 ml hidroklorik asit'in 100 ml distile suda çözülmesi ile elde edildi. Tüpler 15 dakika süre ile 100 derece santigratta ısıtıldı. Soğuduktan sonra 1 ml %70'lik TCA tüplere eklendi ve 20 dakika beklendi. On dakika 3.000 devir/dakika santrifüj sonrası 515 nm eksitasyon ve 553 nm emisyonunda floresans ölçümü yapıldı. Sonuçlar plazmada MDA/ml ve nmol olarak ifade edildi.

İstatistiksel metod: Bilgileri değerlendirmek için non parametrik analizler (Mann Whitney U) kullanıldı. Tüm parametrik analizler ortalama± SD olarak rapor edildi. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Renal fonksiyon çalışmalarının sonuçları tablo 1’de özetlenmiştir. Buna göre Grup 1 (fizyolojik salin)’de ve Grup 2 (Verapamil)’de, yalnızca laparotomi yapılan Grup 4 ile karşılaştırıldığında, 60 dakikalık sıcak iske mi periyodunu takip eden 48 saat sonunda serum üre miktarları iki kat kadar artmış olarak bulundu. Grup 3 (alfa-tokoferol)’te ise serum üre değerleri Grup 4 ile yakın değerlerdedi. Serum kreatinin değerleri ise tüm gruplarda birbirine yakın seyrediyor ve anlamlı bir değişiklik göstermiyordu.

Kreatinin klirensi bakımından en fazla bozulmayı fizyolojik salinle tedavi edilen Grup 1 göstermekteydi. Bu parametrenin Verapamil uygulanan Grup 2 ile alfa-tokoferol uygulanan Grup 3’te, sadece laparotomi uygulanan Grup 4’ün sonuçlarına benzerlik gösterdiğini yani Grup 1 kadar bozulmadığını görmekteyiz.

Kırksekiz saat’lik iske mi/reperfüzyon sonrası dönemdeki lipid peroksidasyon sonuçları Tablo 2’de özetlenmiştir. Buna göre, Grup 4 (sham) ile karşılaştırıldığında, en fazla serbest radikal gelişimi fizyolojik salin ile tedavi edilen Grup 1 de gözlenmektedir. Aynı şekilde alfa –tokoferol ile tedavi edilen Grup 3’te de serbest radikal artışı Grup 4 (sham)’e göre daha fazla miktardadır. Reperfüzyon öncesi uygulanan verapamil ise serbest radikal düzeyini, sham grubu ile hemen hemen aynı düzeyde tutarak daha iyi bir sonuca sebep olmuştur ($p<0.01$).

TARTIŞMA

İskemik bir organın reperfüzyonu genellikle şiddetli bir doku hasarı ile sonuçlanmakta olup, bu durum iskemik dönemin kendisinden çok yeniden oksijenasyonunun bir sonucudur. Biyokim-

yasal seviyedeki bir çok çalışma ve hayvan deneyleri, yeniden oksijenasyonun zararlı oksijen radikallerinin fazla miktarda üretilmesine yol açtığını, bunun da doğal antioksidan savunma mekanizmasını tahrip ettiğini, reperfüze organda ve belki de tüm vücutta oksidatif yükü artırdığını göstermiştir^{1,11,19,24}.

Organların iske miye olan dirençleri farklılık gösterir. Kalp ve böbrek gibi organlarda ciddi iskemiler sonrasında serbest radikal engelleyicileri etkili çalışarak reperfüzyon hasarını azaltırlar^{7-9,24,25}. Ancak bağırsaklarda serbest radikal önleyiciler, ciddi iskemiler sonrası çok etkili olamamaktadırlar⁴.

Serbest radikal önleyicileri, reperfüzyon komponenti tarafından oluşturulan toplam hasarın büyük kısmında etkili olmaktadır. Lipid peroksidasyonunu önlemede başarılı bir zamanlama olması için antioksidanların reperfüzyon öncesinde yada başlama anında verilmesi önemlidir^{11,19}.

Biyolojik membranlarda, lipid peroksidasyonunu önleyen esas antioksidan alfa-tokoferoldür^{1,12}. Alfa-tokoferolün yaygın miyokardial ve karaciğer reperfüzyon hasarlarındaki koruyucu etkileri bildirilmiştir^{1,3,6,7,12}. Kirpatovski’nin bir çalışmasında dimethylsulphoxide ile birlikte alfa-tokoferol lipid peroksidasyonundan korumada verapamilden üstün bulunmuştur²⁶. Ancak bu çalışmada esas etkinin karışımındaki dimethylsulphoxide konsantrasyonunun etkili olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca sadece alfa-tokoferol ile tedavi edilen grup olmamasının gerçek bir değerlendirme yapılmasına imkan tanımadığını düşünmekteyiz. Takenada ise, rat böbreğindeki sıcak iske mi-de alfa-tokoferolün koruyucu etkisini, sıcak iske-

	Grup 1 (n=6) (Fizyolojik Salin)	Grup 2 (n=6) (Verapamil)	Grup 3 (n=6) (Alfa Tokoferol)	Grup 4 (n=6) (Sham)
Serum üre (mg/dl)	71.6±10.26*	116.6±105.2.4*	46.4±5.45	48.2±10.99
Serum kreatinin (mg/dl)	80.4±8.79	72.8±44.17	83.0±9.6**	76.8±6.83
Kreatinin klerensi (ml/dk)	0.37±0.16	0.64±0.42	0.55±0.35	0.56±0.21

Tablo 1. Renal fonksiyon sonuçları (* $p<0.01$ sham grubu ile karşılaştırıldı. ** $p<0.05$ sham grubu ile karşılaştırıldı.)

	Grup 1 (n=6) (Fizyolojik salin)	Grup 2 (n=6) (Verapamil)	Grup 3 (n=6) (Alfa Tokoferol)	Grup 4 (n=6) (Sham)
MDA (nmol/ml)	5.36±0.29*	1.99±0.32	4.38±0.65*	1.98±0.52

Tablo 2. Reperfüzyon sonrası 48 inci saatte lipid peroksidasyon sonuçları (* $p<0.01$ sham grubu ile karşılaştırıldı.)

miyi takiben oluşturulan reperfüzyondan sonra ATP sentezinin artmasına bağlamış ve serum kreatinin seviyelerinin de daha düşük olduğunu bildirmiştir¹⁴. Alfa-tokoferolden zengin besinlerle beslenmenin Ig A nefropatisinde deneysel olarak yapısal değişimlerde ve renal fonksiyonları iyileştirmede iyi yöndeki etkisi kanıtlanmıştır¹⁵. Buna rağmen Ramsammy, ratlarda gentamisin nefropatisinde, oksidatif temizlenmede önemli rol oynayan glutathione zincirinde ve enzim aktivitesinin baskılanmasında alfa-tokoferolü yetersiz bulmuştur¹³. Bizim çalışmamızda alfa-tokoferolün reperfüzyondan 5 dakika önce uygulanmasından sonra, lipid peroksidasyonunda sınırlı etkisi olduğu ancak diğer gruplarla karşılaştırıldığında kreatinin klirensi ile saptanan renal fonksiyonların sham grubu ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Literatürde alfa-tokoferol uygulama yöntemi ve dozajı farklılık gösterdiğinden, ortaya çıkan farklı görüşlerden bir nihai karar çıkarmak zordur^{12-15,24,26}. Her nasılsa, kapalı lipid peroksidasyon reaksiyonlarında alfa-tokoferolün antioksidatif alanı azalmaktadır. Çünkü bu durumlarda alfa-tokoferol düzeyi ve etkinliği oldukça az olarak görülmektedir. Ters olarak alfa-tokoferol yüksek konsantrasyonlarda prooksidan gibi görev alarak zararlı olabilmektedir¹.

Verapamil gibi kalsiyum kanal blokörleri, lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan serbest radikaller'in yol açtığı, patolojik iyon geçişini engelleyerek, membran koruyucu bir etki göstermektedirler^{16,17,19}. Ek olarak kalsiyum kanal blokörleri, renal parankimdeki artmış vasküler rezistansı azaltıp, kan akımını tekrar arttırarak, azalmış renal fonksiyonu da restore ederler²⁰⁻²². Shapiro ve ark. isole bir model ile verapamil'in sıcak ve soğuk iskemiden sonra renal fonksiyonlara olan etkisini araştırmışlardır²¹. Bu çalışmada verapamilin hiçbir sistemik etkisi olmadan, sıcak ve soğuk iskemi nedeniyle oluşacak olumsuz etkilerde, koruyucu olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca Sobh ve ark. verapamille ilgili benzer sonuçlar bildirmişlerdir²⁰. Bizim çalışmamızda verapamilin; reperfüzyondan hemen önce uygulanarak, lipid peroksidasyonunu azaltıp, belki de artmış iyon girişini de azaltarak, sıcak iskemi sonrasındaki reperfüzyon hasarını azaltıcı etkisi görülmüştür. Alfa-tokoferolün benzer bir etkisi ise, bi-

zim çalışmamızda gösterilememiştir. Verapamil ile alfa-tokoferolün birlikte kullanıldığı bazı değişik organ modelli çalışmalar vardır ve verapamilin; alfa-tokoferolün reperfüzyon hasarından koruyucu etkisini, artırdığı rapor edilmiştir^{26,27}.

Sonuç olarak çalışmamızda, bilateral sıcak iskeminin iskemik periyottan sonraki 48. saatte böbrek fonksiyonu üzerinde zararlı etkiler oluşturduğu böbrek fonksiyon testleri ile gösterilmiştir. Ayrıca verapamilin reperfüzyon hasarından korunmada alfa-tokoferolden daha iyi bir koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur. Alfa-tokoferolün güçlü serbest radikal önleyici etkisi ve lipid peroksidasyon zincirini kırma özelliklerine rağmen reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi halen kesin bir açıklık kazanmamıştır.

KAYNAKLAR

- 1- **Das DK, Maulik N:** Antioxidant effectiveness in ischemia-reperfusion tissue injury. *Methods Enzymol*; 233: 601-611, 1994.
- 2- **Akgür FM, Kılınç K, Aktuğ T:** Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res*; 21: 395-399, 1993.
- 3- **Goode HF, Webster NR, Howdle PD, Leek JP, Lodge JPA, Sadek SA, Walker BE:** Reperfusion injury, antioxidants and hemodynamics during orthotopic liver transplantation. *Hepatology*; 19: 354-359, 1994.
- 4- **Grune T, Siems WG, Kowalewski L, Ester B:** Postischemic accumulation of the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenol in rat small intestine. *Life Sciences*; 55: 693-699, 1994.
- 5- **Hirose J, Yamaga M, Ide J, Tanone M, Takagi K:** Reduced ischemia-reperfusion injury in muscle. Experiments in rats with EPC-K1, a new radical scavenger. *Acta Orthop Scan*; 68(4): 369-373, 1997.
- 6- **Liu PT, Howart JA, Boulter PS, Parke DW:** Studies in surgical trauma: Oxidative stress in ischemia-reperfusion on rat liver. *Clin Science*; 86: 453-460, 1994.
- 7- **LukovicL, Petty MA, Bolkenius FN, Grisgar JM, Dow J, De Jong W:** Protection of infarcted, chronically reperfused hearts by an alpha-Tocopherol analogue. *Eur Pharmacol*; 233: 63-70, 1993.
- 8- **Nakajima T, Hishida A, Kato A:** Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamycin-mediated nephropathy in rats. *Am J Physiol*; 266: 425-431, 1994.

- 9- **Paller MS, NeumannTV, Knobloch E, Patten M:** Reactive oxygen species and rat renal epithelial cells during hypoxia and reoxygenation. *Kidney Int*; 40: 1041-1049, 1991.
- 10- **Orrenius S:** Mechanisms of oxidative cell damage; in: Poli G, Albano E, Dianzani MU (eds); *Free radicals: From basic science to medicine*. Birkhauser Verlag Basel/Switzerland; 47-64, 1993.
- 11- **Mayumi T, Schiller HJ, Bulkley GB:** Pharmaceutical intervention for the prevention of post-ischemic reperfusion injury; in: Poli G, Albano E, Dianzani MU (eds); *Free radicals: From basic science to medicine*. Birkhauser Verlag Basel/Switzerland; 438-457, 1993.
- 12- **Burton GW, Traber MG:** Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. *Ann Rev Nutr*; 10:357-382, 1990.
- 13- **Ramsammy LS, Josepovitz C, Ling KY, Lane PB, Kaloyanides GJ:** Failure of inhibition of lipid peroxidation by vitamin E to protect against gentamycin nephrotoxicity in the rat. *Biochem Pharmacol*; 36: 2125-2132, 1987.
- 14- **Takenaka M, Tatsukawa Y, Dohi K, Ezaki H, Matsukama K, Kawasaki T:** Protective effects of alpha-Tocopherol and coenzyme Q10 on warm ischemic damages on the rat kidney. *Transplant*; 32:137-141, 1981.
- 15- **Trachtman H, Chan JCM, Chan W, Valderrama EE, Brandt R, Wakely P, Futterweit S, Maesaka J, Ma C:** Vitamin E ameliorates renal injury in an experimental model of immunoglobulin A nephropathy. *Pediatr Res*; 40(4): 620-626, 1996.
- 16- **Bamberger MH, Qien L:** Molecular response to calcium channel blockers expressed during reperfusion following acute renal ischemia. *Ann. NY Acad Sci*; 723: 451-453, 1994.
- 17- **Benyi L, Weizheng Z, Puyun L:** Protective effects of nifedipine and allopurinol on high energy shock wave induced acute changes of renal function. *J. Urol*; 153: 596-598, 1995.
- 18- **Dosluoğlu HH, Aktan AO, Yeğen C, Okbay N, Yalın AS, Yan R, Ercan S:** The cytoprotective effects of verapamil and iloprost (ZK36374) on ischemia/reperfusion injury of kidneys. *Transpl Int*; 6(3): 138-142, 1993.
- 19- **Mark IT, Weglicki WB:** Antioxidant activity of calcium channel blocking drugs. *Methods Enzymol*; 234: 620-630, 1994.
- 20- **Sobh MA, Shebab El-Din AB, Moustapha FE, El-Far MA, Hussein ME, Gad ME, Ghoneim HM:** A prospective randomized study of protective effect of verapamil on ischemic renal injury in renal allotransplants. *Transplant Proc*; 21: 1230-1232, 1989.
- 21- **Shapiro JJ, Chenng C, Habashi A, Chan L, Schrier RW:** The effect of verapamil on renal function after warm and cold ischemia in the isolated perfused rat kidney. *Transplantation*; 40(6): 596-600, 1985.
- 22- **Strohmaier WL, Abeliuss A, Billes I, Grossmann T, Wilbert DM, Bichler KH:** Verapamil limits shockwave-induced renal tubular damage in- vivo. *J Endourol*; 8: 269-273, 1994.
- 23- **Yagi K:** A simple assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biol Chem Med*; 15: 212-216, 1976.
- 24- **Rabl H, Khoschsorur G, Colombo T, Petritsch P, Rauchenwald M, Költringer P, Tatzber F, Esterbauer H:** A multivitamin infusion prevents lipid peroxidation and improves transplantation performance. *Kidney Int*; 43: 912-917, 1993.
- 25- **Shackleton C, Ettinger SI, Scudamore CH, Toilekis PF, Keown PA:** Effect of a 21-aminosteroid, U74006F, on lipid peroxidation and glomerulotubular function following experimental renal ischemia. *J Surg Res*; 57: 433-437, 1994.
- 26- **Kirpatovski VI, Petrv DA, Kudriavtsev Lu V:** The effect of an emulsion containing alpha-Tocopherol and dimethylsulphoxide and verapamil on reperfusion injury to the rat kidneys. *Urol Nephrol*; (1): 32-35, 1995.
- 27- **Shaheen AA, Abd El-Fattah Ae, Seif EL- Nasr M:** Influence of verapamil on the efficacy of vitamin E in preventing the ischemia-reperfusion induced biochemical rearrangement in cerebral cortex of rat. *Arzneimittelforschung*; 46(7): 670-673, 1996.