

بهبود ساختمان و عملکرد کلیه با استفاده از آماده‌سازی

ایسکمیک

دکتر مه‌ری کدخدایی (دانشیار)، دکتر مریم زحمتکش (دانشجوی دکترای فیزیولوژی)، دکتر مهدیه فقیهی (استادیار)

گروه فیزیولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: اصطلاح "Preconditioning" به پدیده‌ای اطلاق می‌شود که در آن آماده‌سازی قبلی با محرک‌های آسیب‌رسان، تحمل سلول را در مواجهه با استرس‌های آسیب‌رسان بعدی افزایش می‌دهد. بطور کلی آسیب‌های ناشی از ایسکمیک در کلیه با مرگ و میر بالایی همراه است. افزایش توانایی این اندام در مواجهه با ضایعات ناشی از ایسکمیک بسیار اهمیت دارد. این امر می‌تواند با القای دوره‌های کوتاه مدت ایسکمیک-پرفیوژن مجدد از طریق کلامپ نمودن شریان کلیه انجام شود. در مطالعه قبلی آماده‌سازی ایسکمیک به صورت سه دوره متناوب ۵ دقیقه ایسکمیک و ۵ دقیقه پرفیوژن مجدد مانع کاهش شدید ویتامین E پلاسما و بافت کلیه متعاقب یک دوره ایسکمیک ۳۰ دقیقه‌ای گردید. در مطالعه حاضر اثر این مدل آماده‌سازی ایسکمیک بر بهبود ساختمان و عملکرد کلیه در ضایعات ناشی از ایسکمیک-پرفیوژن مجدد مورد مطالعه قرار گرفت و به این منظور تغییرات بافتی کلیه‌ها بررسی و BUN و کراتینین سرم به عنوان شاخص‌های عملکردی کلیه اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها: ۲۸ موش صحرانی نر بالغ در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم به طور تصادفی به چهار گروه مساوی تقسیم شدند (کنترل جراحی، ایسکمیک-پرفیوژن مجدد IR، آماده‌سازی ایسکمیک IPC و ایسکمیک-پرفیوژن مجدد متعاقب آماده‌سازی ایسکمیک IPC-IR). در گروه IR شریان کلیوی راست به مدت ۳۰ دقیقه کلامپ و سپس ۱۰ دقیقه پرفیوژن مجدد اعمال شد. در گروه IPC سه نوبت ۵ دقیقه‌ای ایسکمیک و سه نوبت ۵ دقیقه‌ای پرفیوژن مجدد به طور متناوب اعمال شد. گروه IPC-IR ابتدا شرایط IPC و سپس شرایط IR را تجربه نمودند. مدت انجام آزمایش در تمام گروه‌ها یکسان بوده و در پایان آزمایش، نمونه خون از ورید کلیوی راست به منظور اندازه‌گیری BUN و کراتینین گرفته شد و کلیه جهت بررسی بافت‌شناسی خارج گردید.

یافته‌ها: ۳۰ دقیقه ایسکمیک در گروه IR موجب کاهش معنی‌دار عملکرد کلیوی گردید. دوره‌های متناوب ایسکمیک در گروه IPC همانند گروه کنترل تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) را با گروه IR نشان داد اما این دوره‌های متناوب ایسکمیک موجب تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های IPC-IR و IR نگردید. بررسی‌های بافت‌شناسی نشان داد که آسیب قابل توجه بافتی در گروه IPC وجود نداشت و علائم بهبودی در گروه IPC-IR نسبت به گروه IR مشاهده شد.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که این مدل آماده‌سازی ایسکمیک در کوتاه مدت نتوانست بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش سطح کراتینین ناشی از IR را به سطح نرمال برگرداند. اما ضایعات سلولی ناشی از IR را در بافت کلیه کاهش داد. اثرات حفاظتی این مدل آماده‌سازی ایسکمیک نیاز به بررسی در دوره‌های بلند مدت پرفیوژن مجدد دارد.

مقدمه

مواد و روش‌ها

علیرغم پیشرفت‌های قابل ملاحظه در درمان بیماری‌های حاد، نارسایی حاد کلیه هنوز جزو مشکلات عمده بالینی می‌باشد که با مرگ و میر بالایی همراه است (۱). یکی از علل عمده نارسایی حاد کلیه، ایسکمی کلیه می‌باشد. بدیهی است که برای بقای بافت ایسکمیک، پرفیوژن مجدد ضروری است اما خود، آسیب مضاعفی ایجاد می‌کند که آن را تحت عنوان ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد (IR) می‌شناسیم (۲). شواهد زیادی وجود دارد که گونه‌های فعال اکسیژن واسطه مهم آسیب‌های ناشی از IR در کلیه هستند (۳،۲) و گزارشات متعددی از مفید بودن داروهای آنتی‌اکسیدان در جلوگیری از ضایعات فوق ارائه شده است (۴): از سوی دیگر مفید بودن کاربرد روشهایی از قبیل آماده‌سازی ایسکمیک (IPC) در جلوگیری از ضایعات ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد در اندام‌های مختلف از جمله در کلیه (۵،۶) مطرح گردیده است. در واقع آماده‌سازی قبلی بافت با ایسکمی، تحمل سلول را در مواجهه با ایسکمی متعاقب افزایش می‌دهد. این پدیده اولین بار در قلب مشاهده شد اما مطالعات مشابهی نیز در کلیه انجام شده است. در سال ۱۹۸۴، Zager و همکارانش اولین آزمایشات را انجام دادند و اثرات القای ایسکمی را بر پاسخ بافت به ضایعات ناشی از ایسکمی بعدی بررسی کردند. با وجود انجام مطالعات بسیار، هنوز در مورد شرایطی که تحت آن آماده‌سازی بافتی در کلیه نسبت به ایسکمی متعاقب ایجاد می‌شود، توافق نظر وجود ندارد (۷). با توجه به اینکه در مطالعه قبلی نشان دادیم که آماده‌سازی ایسکمیک به صورت سه دوره متناوب ۵ دقیقه ایسکمی و ۵ دقیقه پرفیوژن مجدد می‌تواند مانع کاهش شدید ویتامین E پلاسما و بافت کلیه متعاقب یک دوره ایسکمی ۳۰ دقیقه‌ای گردد (۶)، در این مطالعه اثر این مدل آماده‌سازی ایسکمیک بر بهبود شاخص‌های عملکردی کلیه و تغییرات بافت‌شناسی کلیه مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه از ۴ گروه کنترل (شاهد) جراحی، گروه ایسکمی- پرفیوژن مجدد (IR)، گروه آماده‌سازی ایسکمیک (IPC) و گروه ایسکمی- پرفیوژن مجدد متعاقب آماده‌سازی ایسکمیک (IPC-IR) استفاده شد.

هر گروه شامل ۷ موش صحرایی نر سفید از نژاد Sprague-Dawley در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ گرم بودند که در شرایط دسترسی آزاد به آب و غذا و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. از تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلرید (۵۰ mg/kg) و کلرپرومازین هیدروکلرید (۲۵ mg/kg) به منظور بیهوشی استفاده شد. مدت انجام آزمایش در تمام گروهها یکسان بوده و در پایان آزمایش، نمونه خون از ورید کلیوی راست گرفته شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید و سرم حاصل توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Hitachi analyzer 704) در طول موج ۵۲۰ و ۵۰۵ نانومتر به ترتیب برای اندازه گیری BUN و کراتینین استفاده شد. بلافاصله پس از خونگیری، کلیه نیز جهت بررسی بافت‌شناسی خارج و پس از شستشو در محلول PBS در محلول فرمالین ۱۰ درصد فیکس گردید.

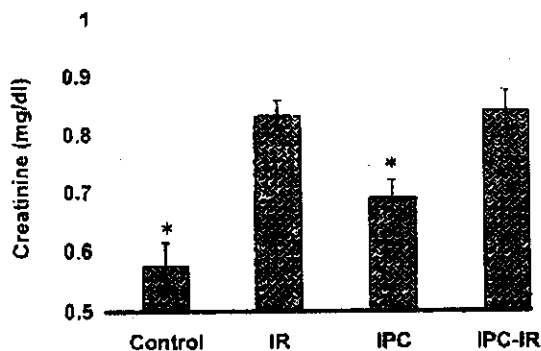
۱- گروه کنترل جراحی: در این گروه حیوان فقط تحت عمل جراحی قرار می‌گرفت. به این ترتیب که برش طولی و عرضی روی شکم داده می‌شد و سپس شریان کلیه از بافت اطراف جدا شده ولی ایسکمیک داده نمی‌شد و محل زخم با تنظیف آغشته به محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد مرطوب و بدن حیوان گرم نگه داشته می‌شد.

۲- گروه ایسکمیک- پرفیوژن مجدد: این گروه نیز مورد عمل جراحی قرار می‌گرفتند. ۳۰ دقیقه بعد از باز کردن شکم، شریان کلیه راست به وسیله کلامپ بولداگ به مدت ۳۰ دقیقه مسدود شده و از تغییر رنگ کلیه به منظور تایید انسداد استفاده شد. سپس با باز کردن کلامپ مدت ۱۰ دقیقه پرفیوژن مجدد برقرار شد.

۳- گروه آماده‌سازی ایسکمیک: این گروه نیز مورد عمل جراحی قرار می‌گرفتند. ۴۰ دقیقه بعد از باز کردن شکم، سه

یافته‌ها

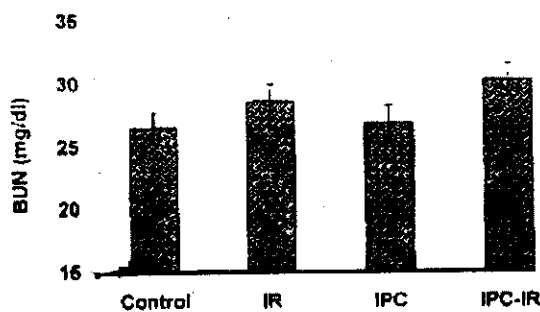
در این مطالعه تغییرات غلظت BUN و کراتینین سرم و تغییرات هیستولوژی کلیه در ۴ گروه مورد بررسی قرار گرفت که نتایج زیر به دست آمد.



نمودار ۱- تغییرات غلظت کراتینین سرم در گروه‌های مختلف و مقایسه آن با گروه کنترل

هر یک از ستونها نمایانگر میانگین \pm خطای معیار غلظت کراتینین بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. ستاره، اختلاف معنی‌دار را نسبت به گروه IR در سطح $p \leq 0.05$ نشان می‌دهد. ایسکمی- پرفیوژن مجدد (IR)، آماده‌سازی ایسکمیک (IPC)، ایسکمی- پرفیوژن مجدد متعاقب آماده‌سازی ایسکمیک (IPC-IR).

نمودار ۱ نشان دهنده تغییرات غلظت کراتینین سرم در گروه‌های مختلف می‌باشد. در گروه IR کراتینین به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. اگرچه کراتینین در گروه IPC تفاوت معنی‌داری با گروه IR نشان داد اما اختلاف معنی‌داری بین گروه IR و IPC-IR مشاهده نشد.



نمودار ۲- تغییرات غلظت BUN در گروه‌های مختلف و مقایسه آن با گروه کنترل

نوبت ۵ دقیقه‌ای ایسکمی و سه نوبت ۵ دقیقه‌ای پرفیوژن مجدد به طور متناوب بر شریان کلیه راست اعمال شد.

۴- گروه ایسکمیک- پرفیوژن مجدد متعاقب آماده‌سازی ایسکمیک: پس از اعمال جراحی و باز کردن شکم، سه نوبت ۵ دقیقه‌ای ایسکمی و سه نوبت ۵ دقیقه‌ای پرفیوژن مجدد به طور متناوب بر شریان کلیه راست اعمال گردید و پس از آن یک دوره ۳۰ دقیقه‌ای ایسکمیک و یک دوره ۱۰ دقیقه‌ای پرفیوژن مجدد اعمال شد.

در تمامی گروه‌ها در طول مدت آزمایش محل زخم با نظیف آغشته به محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد مرطوب و بدن حیوان گرم نگه داشته می‌شد. در انتها یک نمونه خون از ورید کلیوی راست برای اندازه‌گیری BUN و کراتینین گرفته شد. سپس کلیه نیز جهت بررسی بافت‌شناسی خارج گردید.

بافت شناسی

بافتهای کلیه ۲۴ ساعت بعد از اینکه در فرمالین قرار داشتند، در اتانول ۷۰ درصد قرار داده شدند و با روش‌های معمول، مرحله قالب‌گیری با پارافین انجام شد. سپس برش‌های ۴ میکرومتری تهیه و توسط هماتوکسلین و انوزین رنگ‌آمیزی شدند. فقدان لبه بروسی، واکونوله شدن سلولها، پیکنوز و وجود Cast در مجاری به عنوان شاخص‌های آسیب توبولی در نظر گرفته شد. تمام لام‌های تهیه شده حداقل در ۱۰ میدان تصادفی بدون همپوشانی با بزرگنمایی ۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند و درصد آسیب توبولها به صورت زیر ارزش‌گذاری شد: عدم آسیب توبولها، صفر، آسیب توبولی کمتر از ۲۵ درصد، ۱، آسیب توبولی ۵۰-۲۵ درصد، ۲ و برای آسیب بیشتر از ۵۰ درصد عدد ۳ منظور شد.

روش آماری

در این تحقیق نتایج بر اساس برنامه آماری SPSS-10 و تست آنالیز واریانس یک طرفه مورد بررسی قرار گرفت و برای مقایسه چندگانه از شاخص توکی استفاده شد. اختلاف معنی‌دار در سطح $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

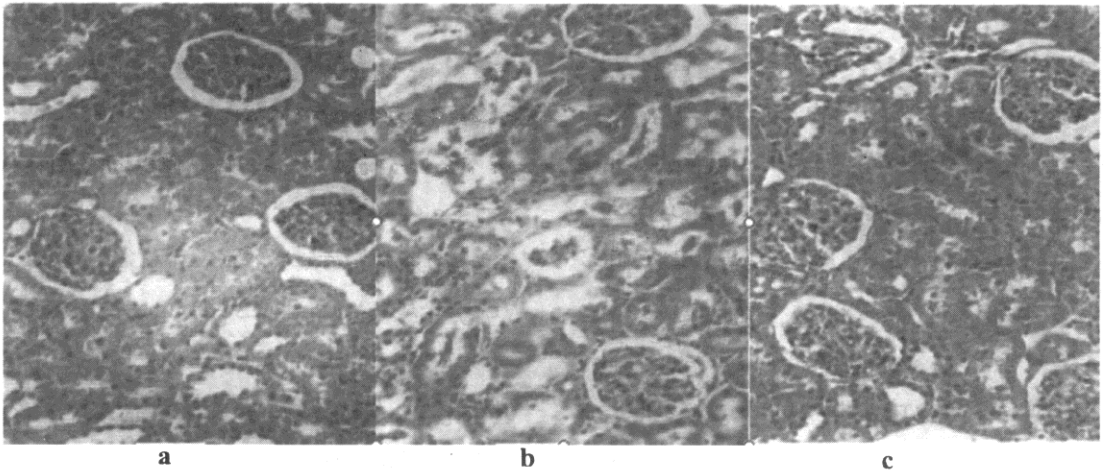
شکل ۱ تغییرات بافتی را در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. بافت‌های گروه کنترل، هیستولوژی نرمال نشان دادند. اسلایدهای مربوط به گروه آماده سازی IPC نیز قابل مقایسه با گروه کنترل بود گرچه در بعضی نواحی فاقد لبه بروسی بوده و واکوئولاسیون سلولی هم قابل رویت بود. در مقاطع مربوط به گروه IR، گلوبومرول‌ها تغییرات قابل تشخیص با میکروسکوپ نوری نداشتند در حالیکه ضایعات توبولی بسیار مشخص بود. فقدان کامل حاشیه بروسی، تشکیل وسیع Cast درون لومن و اتساع توبولی دیده می‌شد. در گروه IPC-IR اثرات محافظت بافتی دیده می‌شد.

هر يك از ستونها نمایانگر میانگین \pm خطای معیار غلظت کراتینین بر حسب میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد. ایسکمی پرفیوژن مجدد (IR)، آماده‌سازی ایسکمیک (IPC)، ایسکمی-پرفیوژن مجدد متعاقب آماده‌سازی ایسکمیک (IPC-IR).

نمودار ۲ نشان دهنده تغییرات غلظت BUN در گروه‌های مختلف می‌باشد. از نظر میزان BUN در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین‌های مقادیر کراتینین سرم و BUN در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول ۱- میانگین مقادیر کراتینین سرم و BUN در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	Mean \pm SE	Mean \pm SE
کنترل	۰/۵۷ \pm ۰/۰۳۲	۲۵/۰ \pm ۱/۲۶
IR	۰/۸۳ \pm ۰/۰۳۵	۲۸/۵ \pm ۱/۳۶
IPC	۰/۶۸ \pm ۰/۰۳۵	۲۶/۸۳ \pm ۱/۳۶
IPC-IR	۰/۸۴ \pm ۰/۰۳۲	۳۰/۲۸ \pm ۱/۲۶



شکل ۱- بررسی هیستولوژیک بافت‌های کلیه در گروه‌های مختلف. a = بافت‌شناسی نرمال گلوبومرول و توبول‌ها در گروه کنترل. b = تغییرات عمده در گروه IR شامل از دست رفتن هسته، ظهور Cast در لومن توبول‌ها. c = مقاطع در گروه IPC-IR محافظت ساختمانی را توسط آماده‌سازی قبلی از IR نشان داد. (هماتوکسیلین و اتوزین، $\times 400$)

ناشی از ایسکمی-پرفیوژن مجدد می‌شناسیم (۲). آماده‌سازی قبلی با محرک‌های آسیب رسان، تحمل سلول را در مواجهه با استرس‌های آسیب رسان بعدی افزایش می‌دهد. این پدیده اولین بار در قلب مشاهده شد اما مطالعات مشابهی در کلیه انجام شده است. در سال ۱۹۸۴، Zager و همکارانش اولین آزمایشات را انجام دادند و اثرات القای ایسکمی را بر پاسخ بافت کلیه به ضایعات ناشی از ایسکمی بعدی بررسی کردند. آنها گزارش کردند که ایسکمی به مدت ۱۵ دقیقه مقاومت کلیه

بحث

نارسایی حاد کلیه هنوز جزو مشکلات عمده بالینی می‌باشد که با مرگ و میر بالایی همراه است (۱). یکی از علل عمده نارسایی حاد کلیه، ایسکمی کلیه می‌باشد. بدیهی است که برای بقای بافت ایسکمیک، پرفیوژن مجدد ضروری است اما خود، آسیب مضاعفی ایجاد می‌کند که آن را تحت عنوان ضایعات

عنوان شاخص‌های عملکردی کلیه اندازه‌گیری شد و گروه‌های مختلف از نظر تغییرات بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه، ایسکمی در گروه IR به طور معنی‌داری عملکرد کلیه را کاهش داد که با افزایش غلظت کراتینین سرم در مقایسه با گروه کنترل مشخص شد. از نظر غلظت کراتینین تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های IR و IPC-IR وجود نداشت. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که BUN و کراتینین شاخص‌های بسیار حساسی نیستند که بتوانند تغییرات کم یا متوسط در عملکرد کلیه را به خوبی نشان دهند. برای ارزیابی عملکرد کلیه بهتر است که GFR اندازه‌گیری شود اما در این مدل جمع‌آوری ادرار به اندازه کافی امکانپذیر نبود. از نظر بافت‌شناسی، گروه کنترل هیستولوژی نرمال نشان دادند. اسلایدهای مربوط به گروه آماده‌سازی IPC نیز قابل مقایسه با گروه کنترل بود گرچه در بعضی نواحی فاقد لیه بروسی بوده و واکونولاسیون سلولی هم قابل رویت بود. در مقاطع مربوط به گروه IR، گلوومرول‌ها تغییرات قابل تشخیص با میکروسکوپ نوری نداشتند در حالیکه ضایعات توبولی بسیار مشخص بود. فقدان کامل حاشیه بروسی، تشکیل وسیع Cast درون لومن و اتساع توبولی دیده می‌شد. اگرچه این مدل IPC نتوانست عملکرد کلیه را در مرحله اولیه پرفیوژن مجدد به میزان زیادی بهبود بخشد، اما در نتایج بافت‌شناسی گروه IR-IPC، اثرات محافظت بافتی دیده شد. نتایج به دست آمده در مطالعه کنونی با نتایج مطالعه Jefayri و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد. آنها گزارش نمودند که با وجود عدم تغییرات معنی‌دار در کراتینین سرم بین گروه‌ها، تعداد سلول‌های ضایعه دیده در گروه IR-IPC نسبت به گروه IR کمتر بود.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که این مدل آماده‌سازی ایسکمیک در کوتاه مدت نتوانست بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش سطح کراتینین ناشی از IR را به سطح نرمال برگرداند اما ضایعات سلولی ناشی از IR را در بافت کلیه کاهش داد. اثرات حفاظتی این مدل آماده‌سازی ایسکمیک در طولانی مدت نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

را نسبت به ضایعه ایسکمیک متعاقب کاهش می‌دهد، حتی اگر ایسکمیک متعاقب ۳۰ دقیقه بعد از اولی اعمال شود (۸). لی و همکارانش در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که ۴ دوره متناوب ۸ دقیقه ایسکمیک و ۵ دقیقه پرفیوژن مجدد کلیه را در برابر اثرات ایسکمیک ۴۵ دقیقه‌ای که بلافاصله اعمال شود، حفاظت می‌کند (۹). در مطالعه دیگر ۴ دوره متناوب ۴ دقیقه ایسکمیک و ۱۱ دقیقه پرفیوژن مجدد سبب کاهش تعداد سلول‌های مرده در کلیه شد در حالی که تغییری در سطح کراتینین ایجاد نکرد (۱۰). Behrends و همکارانش مشاهده کردند که ۳ دوره متناوب ایسکمیک به مدت ۱۰ دقیقه و پرفیوژن مجدد به مدت ۱۰ دقیقه نتوانست کلیه را در برابر ایسکمیک ۶۰ دقیقه‌ای متعاقب حفاظت کند (۱۱). ایسکمیک یک طرفه اثرات حفاظتی بر ضایعات ایسکمیک متعاقب در همان کلیه دارد و کلیه مقابل را در برابر ایسکمیک حفاظت نمی‌کند. این موضوع نشان دهنده آن است که اورمی سیستمیک برای ایجاد حفاظت ضروری نیست. با وجود انجام مطالعات بسیار، هنوز در مورد شرایطی که تحت آن آماده‌سازی بافتی در کلیه نسبت به ایسکمیک متعاقب ایجاد می‌شود، توافق نظر وجود ندارد (۷). با توجه به اینکه در مطالعه قبلی نشان دادیم که آماده‌سازی ایسکمیک به صورت سه دوره متناوب ۵ دقیقه ایسکمیک و ۵ دقیقه پرفیوژن مجدد می‌تواند مانع کاهش شدید آنتی‌اکسیدان اندوژن (ویتامین E) پلاسما و بافت کلیه متعاقب یک دوره ایسکمیک ۳۰ دقیقه‌ای گردد (۶)، در این مطالعه بر آن شدیم تا اثر این مدل آماده‌سازی ایسکمیک را بر بهبود شاخص‌های عملکردی کلیه و تغییرات بافت‌شناسی کلیه مورد بررسی قرار دهیم. در این مطالعه از ۴ گروه کنترل (شاهد) جراحی، گروه ایسکمیک-پرفیوژن مجدد، گروه آماده‌سازی ایسکمیک و گروه ایسکمیک-پرفیوژن مجدد متعاقب آماده‌سازی ایسکمیک استفاده شد. IPC به صورت سه نوبت ۵ دقیقه‌ای ایسکمیک و سه نوبت ۵ دقیقه‌ای پرفیوژن مجدد به طور متناوب بر شریان کلیه راست اعمال شد و اثرات حفاظتی آن بر یک دوره ایسکمیک ۳۰ دقیقه‌ای متعاقب بررسی گردید. BUN و کراتینین سرم به

منابع

برفیوژن مجدد در کلیه موش صحرائی. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۱۳۸۲، شماره ۲: ۱۶۳-۱۵۳.

1. Thadhani R, Pascual M, Bonventre J: Acute renal failure. The New England Journal of Medicine 1996; 334: 448-1460.

2. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML: Renal ischaemia-reperfusion injury. British Journal of Surgery 1996; 83: 162-170.

3. Nath KA, Norby SM: Reactive oxygen species and acute renal failure. American Journal of Medicine 2000; 109: 655-678.

4. Baron P, Gomez-Marin O, Casas C, Heil J, Will N, Condie R, Burke B, Najarian JS, Sutherland DE. Renal preservation after warm ischemia using oxygen free radical scavengers to prevent reperfusion injury. Journal of Surgery Research. 1991; 51: 60-5.

5. Toosy N, McMorris EL, Grace PA, Mathie RT. Ischaemic preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury. BJU Int. 1999; 84: 489-94.

۶- آریامنش. سیمین، فقیهی. مهدیه، کدخدایی. مهري. اثر

آماده‌سازی بافتی بر تغییرات مقدار ویتامین E در شرایط ایسکمی-

7. Joseph V. Bonventre. Kidney ischemic preconditioning. Current Opinion in Nephrology Hypertension 2002 11: 43 - 48.

8. Zager RA, Baltés LA, Sharma HM, Jurkowitz MS. Responses of the ischemic acute renal failure kidney to additional ischemic events. Kidney International 1984; 26: 689 -700.

9. Lee HT, Emala CW. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A1 and A3 receptors. American Journal of Physiology, Renal Physiology 2000; 278: F380-F387.

10. Jefayri MK, Grace PA, Mathie RT. Attenuation of reperfusion injury by renal ischaemic preconditioning: the role of nitric oxide. BJU International 2000; 85:1007-1013.

11. Behrends M, Walz MK, Kribben A, et al. No protection of the porcine kidney by ischaemic preconditioning. Experimental Physiology 2000; 85:819-827.