

N-Asetilsisteinin Rat İntraabdominal Sepsis Modelinde Böbrek Apoptozisi Üzerine Olan Etkileri

The Effects of N-Acetylcysteine on Kidney Apoptosis in a Rat Intraabdominal Sepsis Model

Hatice FİDAN,^a
Uğur KOCA,^b
Bekir Uğur ERGÜR,^c
Ayganım AHMEDOVA,^d
Filiz KAYMAKÇI^e

^aAnesteziyoloji Kliniği,
Karadeniz Ereğli Devlet Hastanesi,
Zonguldak

^bAnesteziyoloji ve Reanimasyon AD,
^cHistoloji AD,
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İzmir

^dAnesteziyoloji Kliniği,
Van Erciş Devlet Hastanesi, Van

^eAnesteziyoloji Kliniği,
İğdir Devlet Hastanesi, İğdir

Geliş Tarihi/Received: 30.11.2011
Kabul Tarihi/Accepted: 05.03.2012

Çalışmamız, TARK 2010 Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği 44. Ulusal Kongresi (27-31 Ekim 2010, Antalya)'nde poster olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi/Correspondence:
Hatice FİDAN
Karadeniz Ereğli Devlet Hastanesi,
Anesteziyoloji Kliniği, Zonguldak,
TÜRKİYE/TURKEY
hatice@haticefidan.com

doi: 10.5336/medsci.2011-27549

Copyright © 2012 by Türkiye Klinikleri

ÖZET Amaç: Bu çalışmada, rat intraabdominal sepsis modelinde N-Asetilsistein (NAS)'in renal apoptozis üzerindeki etkisini araştırmak amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamızda ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldı: Sham (n=7), sepsis (n=7) ve NAS (n=7) grubu. Sham grubuna sadece laparotomi, sepsis ve NAS grubuna çekal ligasyon perforasyon (ÇLP) cerrahisi uygulandı. Cerrahi işlemden sonra sham ve sepsis grubuna 1 mL serum fizyolojik, NAS grubuna ise 150 mg/kg/gün NAS günde bir defa 3 gün intraperitoneal olarak uygulandı. Son dozdan 6 saat sonra tüm ratlara anestezi altında orta hattan laparotomi uygulandı, her iki böbrek biyokimyasal ve histopatolojik örnekleme için çıkartıldı. Dokular malondialdehid düzeyi, renal korpüskül ve proksimal tubulusdaki yapısal değişiklikler, mononükleer hücre infiltrasyonu, eritrosit ekstravazasyonu ve sistein aspartat-spesifik proteinaz immünreaktivitesi (kaspaz-3) bakımından karşılaştırıldı. Verilerin analizinde Kruskal-Wallis testi ve Mann-Witney-U testleri kullanıldı. **Bulgular:** Gruplar proksimal tubuluslardaki yapısal değişiklikler, kaspaz-3 immünreaktivitesi, mononükleer hücre infiltrasyonları ve eritrosit ekstravazasyonu bakımından karşılaştırıldığında, sham grubuna göre sepsis grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,05). Mononükleer hücre infiltrasyonları ve eritrosit ekstravazasyonu sepsise göre NAS grubunda anlamlı olarak azalmış bulundu (p<0,05). İntertisyel alandaki yapısal değişiklikler sham grubuna göre sepsis ve NAS gruplarında anlamlı olarak artmış bulundu. (p<0,05). **Sonuç:** Elde ettiğimiz bulgular, sepsisin erken döneminde NAS uygulamasının böbrekte anti-inflamatuar etki oluşturduğunu göstermektedir. Serbest oksijen radikali temizleyicisi olan NAS'ın apoptozisi önlemede ve hücre iyileşmesi üzerindeki potansiyel etkisinin spesifik çalışmalar ile değerlendirilmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sepsis; kaspaz 3; böbrek; asetilsistein

ABSTRACT Objective: The objective of this study was to investigate the effect of N-acetylcysteine (NAC) on kidney apoptosis using a rat intraabdominal sepsis model. **Material and Methods:** Rats were randomised into three study groups: sham (n=7), sepsis (n=7), and NAC (n=7) groups. In sham group, only laparotomy was performed, whereas in both sepsis and NAC groups, cecal ligation and perforation were done. After surgical process, in sham and sepsis groups, 1 mL saline was given once daily intraperitoneally for three days, and in NAC group, 150 mg/kg NAC was given once daily intraperitoneally for three days. Six hours after the last dose, midline laparotomy was performed to all rats, and both kidneys were removed for biochemical and histopathological samplings. Findings from these tissues were compared based on malondialdehyde levels, structural changes in renal corpus and proximal tubules, mononuclear cell infiltration, erythrocyte extravasation and cysteinyl aspartate-specific proteinases (caspases)-3 immunoreactivity. Data were analysed using Kruskal-Wallis and Mann-Witney-U tests. **Results:** Structural changes in proximal tubules, caspase-3 immunoreactivity and mononuclear cell infiltration and erythrocyte extravasation were significantly increased in sepsis group when compared to sham (p<0.05). Mononuclear cell infiltration and erythrocyte extravasation were significantly less in NAC group when compared to sepsis (p<0.05). Structural changes in interstitial space were increased in both sepsis and NAC groups when compared to sham (p<0.05). **Conclusion:** Although the findings of this study demonstrated an anti-inflammatory effect of NAC on kidneys when used during early sepsis, it was concluded that NAC as a free radical scavenger should be further studied for its potential effects on cell healing and prevention of apoptosis.

Key Words: Sepsis; caspase 3; kidney; acetylcysteine

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(6):1653-9

Sepsis ve septik şok, ileri yoğun bakım desteği ve uygulanan modern tedavilere rağmen %30-90 oranındaki mortalitesi nedeniyle önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir.^{1,2} Patogenezi enfeksiyona karşı sistemik inflammatuar yanıtı içermektedir. Hastanın inflammatuar yanıtı aşırı olunca ciddi kardiyovasküler instabilite, çoklu organ yetersizliği, koagülopati ve ölüm gelişebilmektedir.³

Akut böbrek yetmezliği insidansı sepsiste %19, ağır sepsiste %27 ve septik şokta %51'dir. Sepsiste akut böbrek yetmezliği patogenezinde başlıca sistemik ve lokal mediyatörler, nötrofil-endotel etkileşimleri, mikrovasküler trombozlar, renal hipoperfüzyon ve reperfüzyon hasarı suçlanmıştır. Akut böbrek yetmezliğindeki renal hücre ölümü, nekrozun yanı sıra apoptozise de bağlıdır.^{4,5}

Apoptozis, organizmada genetik olarak programlanmış bir hücre ölümü şeklidir.

Epitelial hücrelerdeki apoptoziste en az üç ana yolak rol oynamaktadır:

1. Reseptör aracılı (ekstresek) yolak, hücreye Fas (CD 95) gibi transmembran hücre ölüm reseptörlerinin ve TNF reseptörlerinin bağlanması ile tetiklenebilir.

2. İntrensek yolak sitokrom-c gibi proapoptotik faktörlerin mitokondriden sitozole salınmasını içerir ve Bcl-2 protein ailesi tarafından regüle edilir.

3. Sitotoksik T hücreler ve natürel öldürücü hücrelerin rol aldığı yolak.⁶

Süperoksid radikal (SOR) oluşumu inflamasyon, radyasyon, yaşlanma, kimyasal maddeler ve ilaçlar gibi bazı uyarıların etkisiyle artar. SOR'lar hücrelerin lipid, protein, DNA ve karbonhidrat gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Serbest radikaller son derece reaktif ve kısa ömürlüdürler. Bu yüzden direkt olarak ölçülmeleri zordur. Serbest radikal üretimi artışının belirlenmesi için malondialdehid (MDA) gibi lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin ölçümü en çok kullanılan yöntemdir.

N-Asetilsisteinin (NAS) glutatyon sentezi için gereken sisteini temin etmesi ve glutatyon peroksidaz aktivitesini artırması nedeniyle, oksidatif stresle ilişkili hasarın önlenmesinde daha etkili ve güvenli

olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.^{7,8} Çalışmamızda, rat intraabdominal sepsis modelinde NAS'ın renal apoptozis üzerindeki etkisini, doku MDA düzeyini, apoptozisin ekstresek yolağının bir ürünü olan kaspaz-3 immünreaktivitesini, proksimal tubuluslardaki yapısal değişiklikleri, tübüler atrofiyi, tübüler fırçamsı kenar kaybını, tübüler dilatasyonu, kast formasyonunu, vakuolizasyonu, mononükleer hücre infiltrasyonunu, eritrosit ekstrasvazasyonunu, renal korpüskül morfolojisindeki değişiklikleri tespit ederek araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvanları Araştırmaları Etik Kurulu'ndan izin alındıktan sonra Multidisipliner Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'nın olanakları kullanılarak yapıldı.

Çalışmada ağırlıkları 200-250 g olan 21 adet Wistar Albino tipi erişkin erkek rat kullanıldı.

Denekler intraperitoneal (İP) olarak 50 mg/kg ketamin (Ketalar® Pfizer Pharma GMBH, Germany) ve 10 mg/kg xylazine (Alfazyne®, %2, Alfasan International, 3440AB, Woerden, Holland) uygulanarak anestezize edildi.

ÇEKAL LİGASYON PERFORASYON (ÇLP) MODELİ

İntraabdominal enfeksiyon çalışmalarında kullanılan tüm hayvan türleri için ÇLP basit, kliniğe uyarlanabilir ve en sık kullanılan modeldir.

Deneklere cerrahi alanın sterilizasyonu yapıldıktan sonra genel anestezi altında orta hattın laparotomi yapıldı. Çekum izole edildikten sonra terminal ileumun hemen distalinden 3/0 ipek ile bağlandı. Çekum 18 gauge venöz branül (Bıçakçılar, İstanbul, Türkiye) ile tek noktadan perforasyon yapıldıktan sonra hafifçe sıvazlanarak intraperitoneal gayta kontaminasyonu sağlandı. Resüsitasyon amacı ile karın içine 3 mL serum fizyolojik verilmekle birlikte karın duvarı iki tabaka halinde kapatıldı.⁹

DENEY PROTOKOLÜ

Ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldı.

Grup 1'e (sham grubu) sadece laparotomi yapıldı. Laparotomiden 6 saat sonra başlayıp 24 saatte

tek doz olacak şekilde 3 defa 1 mL/rat salin İP verildi.

Grup 2'ye (sepsis grubu) ÇLP cerrahisi uygulandı. ÇLP'den 6 saat sonra başlayıp 24 saatte tek doz olacak şekilde 3 defa 1 mL/rat salin İP verildi .

Grup 3'e (NAS grubu) ÇLP'den 6 saat sonra başlayıp 24 saatte tek doz olacak şekilde 3 defa 150 mg/kg/gün NAS 1 mL saline tamamlanarak İP olarak verildi.

Deneklere cerrahi işleminden sonraki 60. saatte anestezi altında orta hattan laparotomi uygulandı. Sağ böbrek MDA düzeyi ölçümü için sıvı nitrojenle dondurularak -80°C'de saklandı, sol böbrek ise histopatolojik değerlendirme için %10'luk tampedonlu formaldehid içinde fiske edildi. Deney sonunda tüm ratlar yüksek doz anestezi madde uygulanarak sakrifiye edildi.

BİYOKİMYASAL İNCELEME

MDA Ölçümü

MDA düzeyi, alınan dokunun tiyobarbiturik asid (TBA) ile reaksiyona girmesi sağlandıktan sonra yüksek verimli sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında spektrofotometrik olarak µmol/gr birimiyle değerlendirildi.¹⁰

Histomorfolojik İncelemeler

Histomorfolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler bir histolog tarafından deney grupları bilinmeden (kör olarak) yapıldı.

Böbrek dokusu örnekleri ışık mikroskopunda proksimal tubuluslardaki yapısal değişiklikler, tübüler atrofi, tübüler fırçamsı kenar kaybı, tübüler dilatasyon, kast formasyonu, vakuolizasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, eritrosit ekstravazasyonu, renal korpüskül morfolojisindeki değişiklikler ve intertisyel alandaki değişiklikler incelenerek değerlendirildi. Kesitlerden elde edilen görüntüler semikantitatif olarak 0, +, ++, +++, ++++ şeklinde hasarlanma oranına göre skorlandı.

Kaspaz-3 immünreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla rat spesifik anti-kaspaz-3 monoklonal antikor (RB-10287-R7, Labvision) kullanılmıştır. İmmünohistokimyasal skorlama için pozitif boyanmanın derecesi, yoğunluk ve dağılım açısından

1'den 4'e kadar olan bir gösterge çizelgesi kullanılarak semikantitatif skorlama ile değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel değerlendirme için Statistical Package of Social Sciences 15 (SPSS 15.0, Chicago, IL, ABD) programı kullanıldı. Verilerin analizinde Kruskal-Wallis testi, ikili grup karşılaştırılmasında ise Mann Witney-U testi kullanıldı. İstatistiksel olarak p<0,05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Her grupta 7 rat çalışmaya alındı. Ratlardan elde edilen veriler istatistiksel olarak analiz edildi. Sonuçlar medyan (minimum, maksimum) olarak verildi.

Böbrek dokusunun boyanmış kesitlerinin incelenmesi ile gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirilmiştir. Sham grubuna ait böbrek kesitleri incelendiğinde, epitel hücreleri karakteristik yapı ve özelliklerini korumaktaydı, herhangi bir hücre infiltrasyonu ve fırçamsı kenar kaybı gözlenmemiştir (Resim1).

Sepsis grubunda kortikal bölgede özellikle yoğun olmak üzere peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonu, proksimal tübül hücrelerinde fırçamsı kenar kaybı, korteksteki damarlarda vazodilatasyon ve eritrosit ekstravazasyonu dikkati çekti. Bazı alanlarda proksimal tubuluslarda nadir tübüler atrofi, tübüler dilatasyon, vakuolizasyon gözlendi (Resim 1).

NAS grubunda ise sepsis grubuna göre kortikal bölgede özellikle peritübüler alanda mononükleer hücre infiltrasyonunda azalma, proksimal tübül hücrelerinde fırçamsı kenar kaybında daha az oranda azalma, kortekste az oranda eritrosit ekstravazasyonu dikkati çekti. Sepsis grubunda bazı proksimal tubulus alanlarında gözlenen tübüler atrofi, tübüler dilatasyon ve vakuolizasyon NAS grubunda gözlenmedi (Resim 1).

Gruplar proksimal tubuluslardaki yapısal değişiklik skorları bakımından karşılaştırıldığında, sepsis grubunda (2,00; 1,00 -3,00) sham grubuna (00; 00-00) göre anlamlı bir artış saptanırken (p=0,001), NAS grubundaki azalma (1,00; 1,00-



RESİM 1: Gruplara ait hematoksilen eozin ile boyanmış korteks ve medullaya ait kesit görüntüleri.

(\blackrightarrow) Mononükleer hücre infiltrasyonu ve (\blackrightarrow) eritrosit ekstrasvazyonunu göstermektedir (Hematoksilen eozin boyama $\times 40$ 'lık büyütme).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

2,00) sepsis grubuna göre anlamlı bulunmadı ($p=0,225$).

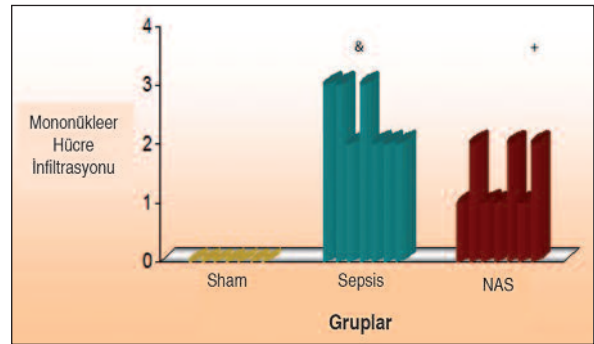
Sham (00; 00-00), sepsis (2,00; 2,00-3,00) ve NAS grubundaki (1,00; 1,00-2,00) mononükleer hücre infiltrasyonu skorları karşılaştırıldığında, sham grubuna göre sepsis grubundaki artış anlamlı bulundu ($p=0,001$). Yine sepsis grubuna göre NAS grubundaki azalma anlamlı bulundu ($p=0,010$) (Şekil 1).

Sham (00; 00-00), sepsis (3,00; 2,00-4,00) ve NAS grubundaki (2,00; 1,00-3,00) eritrosit ekstrasvazyonu skorları karşılaştırıldığında, sham grubuna göre sepsis grubundaki artış anlamlı bulundu ($p=0,001$). Yine sepsis grubuna göre NAS grubundaki azalma anlamlı bulundu ($p=0,01$) (Şekil 2).

Sham (00; 00-00), sepsis (1,00; 1,00-2,00) ve NAS grupları (1,00; 1,00-2,00) intertisyel alandaki yapısal değişiklik skorları bakımından karşılaştırıldığında sham grubuna göre sepsis grubundaki artış ($p=0,001$) ve NAS grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$).

Sham (1,00; 00-1,00), sepsis (2,00; 2,00-3,00) ve NAS grupları (2,00; 1,00-3,00) kaspaz-3 immün-reaktivitesi bakımından karşılaştırıldığında, sham grubuna göre sepsis grubundaki ($p=0,001$) ve NAS grubundaki artma anlamlı bulundu ($p=0,003$) (Resim 2).

Sham (154,490; 90,38-207,05), sepsis (127,560; 111,54-167,31) ve NAS (139,100; 116,67-182,69)

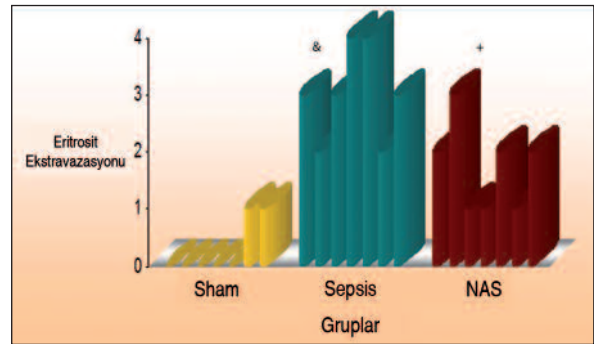


ŞEKİL 1: Grupların mononükleer hücre infiltrasyonu

&: Sham ile sepsis grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$

+ : Sepsis ile NAS grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



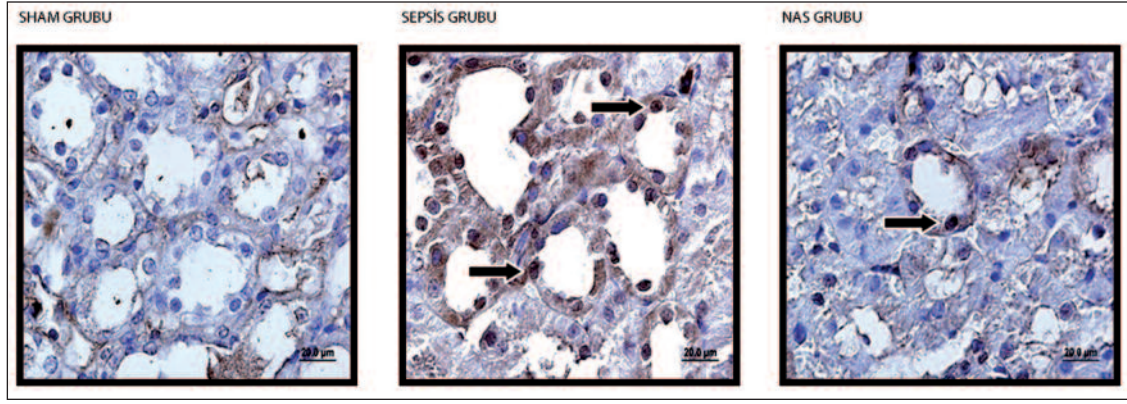
ŞEKİL 2: Grupların eritrosit ekstrasvazyonu

&: Sham ile sepsis grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$

+ : Sepsis ile NAS grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

grupları MDA düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).



RESİM 2: Gruplara ait kaspaz-3 immunhistokimyasal boyamaya ait kesit görüntüleri.
 (→) Kaspaz-3 immunpozitif hücreler (immünohistokimyasal boyama x100'lük büyütme).
 (Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

Sonuçlar medyan (minimum- maksimum) olarak verildi.

TARTIŞMA

Sepsis her geçen gün patogenezi, fizyopatolojisi, tanı ve sağaltım yöntemlerindeki gelişmelere karşın bugün hala önemini koruyan ölümcül bir süreçtir.¹¹ Kontrolden çıkmış proinflatuar mekanizmalar ve regülasyonu bozulmuş anti-inflatuar mekanizmalar arasındaki dengesizlik söz konusudur. Deneysel ve klinik olarak sepsisin yol açtığı uzak organ hasarlarını azaltmaya yönelik araştırmalar sürmektedir.

Messaris ve ark. nın yaptığı bir çalışmada ÇLP ile oluşturulan deneysel sepsis modelinde renal tübül hücresindeki apoptozis araştırılmıştır.¹² ÇLP sonrası 6. saatte apoptotik hücre oranı yüksekken daha sonraki saatlerde bu değer azalmış ve 60. saatte tekrar pik yapmıştır. Bu çalışmaya dayanarak, çalışmamızda apoptozisi tespit edebilmek için 60. saatte renal doku örneklerini aldık.

Gürer ve ark.nın yaptığı bir çalışmada 45 ratta %30'luk oranda haşlanma yanığı oluşturulduktan 72 saat sonra ÇLP ile peritonit oluşturulmuştur.¹³ Altı gün boyunca 150 mg/kg/gün dozunda NAS tedavisi uygulanmıştır. Sonuçta NAS iki darbeli travma modelinde doku oksidatif stres düzeyini ve akciğerdeki (AC) doku hasarını hafifletirken karaciğerdeki (KC) doku hasarına etkin bulunmamıştır.

Özdülger ve ark.nın yaptıkları bir çalışmada ise ÇLP yapılan deney hayvanlarında 7 günlük 150 mg/kg/gün dozunda NAS tedavisinin, AC dokusunda lipid peroksidasyonunu azalttığı, AC doku MDA düzeyindeki düşme ile hücresel hasarı azalttığı, kaspaz-3 pozitif hücre oranındaki azalma ile gösterilmiştir.⁹ Bizim çalışmamızda böbrek dokusunda kaspaz-3 pozitif boyanan hücre sayısı ve MDA düzeyleri 3 gün boyunca 150 mg/kg/gün dozunda NAS tedavisi uygulandıktan sonra değerlendirildi. MDA düzeyleri açısından gruplar arasında fark saptanmadı, bunun nedeni bizim çalışmamızdaki NAS tedavisi süresinin bu çalışmaya göre kısa olmasına (7 güne karşın 3 gün) veya AC ve böbrek dokularının tedaviye yanıtının farklı olmasına bağlı olabilir. Tavşanlarda yapılan bir çalışmada 10 mg/kg/gün dozunda verilen NAS tedavisinin 12. saatinde MDA düzeyi sham grubuna göre serumda düşük bulunurken, KC dokusunda yüksek bulunmuştur. Bu durum, lipid peroksidasyon hasarının göstergesi olan MDA düzeyinin dokulardaki düzeyinin düşmesi için yeterli süre geçmediği ile açıklanmaktadır.¹

Birçok çalışmada; ağır sepsis ve septik şokun ilk saatinde uygulanan NAS tedavisinin oksidatif stresi azalttığı, doku oksijenasyonunu iyileştirdiği, hepatik ve solunumsal fonksiyonları geliştirdiği, sellüler glutasyon depolarını doldurduğu, anlamlı derecede antioksidan olduğu gözlenmiştir.^{7,14} NAS, nitrik oksit (NO) ve cGMP sentezini artırır. Bir çok

çalışmada NAS'ın sol ventrikül stroke volüm indeksini üç mekanizma ile artırdığı gösterilmiştir: Kardiyomiyosit kontraktilitesini artırarak, afterload'ı ve TNF- α gibi kardiyak depresif faktörleri azaltarak.¹⁵ Molnar ve ark.nın yaptığı çalışmada ise organ fonksiyon bozukluğu gelişen yoğun bakım hastalarında gecikmiş NAS uygulaması sonucunda sağkalım negatif yönde etkilenmiş, geç NAS uygulanan gruptaki 58 septik şoklu hastada kardiyovasküler performansda azalma ve inotrop destek ihtiyacında artış saptanmıştır.¹⁶ Spapen ve ark. ağır sepsis hastalarında NAS'ın mikroalbuminüri ve organ fonksiyonları üzerine etkilerini değerlendirmiş, ancak kontrol grubuna göre giriş APACHE II ve ardışık organ yetersizliği değerlendirme (SOFA) skoru takiplerinde anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.¹⁷

Akıncı ve ark.nın NAS tedavisinin çoklu organ yetmezliğindeki etkinliğini araştıran bir çalışmasında, çoklu organ yetmezliği ölçütü olarak toplam maksimum SOFA ve delta SOFA skorları ve beraberinde mekanik ventilasyon, yoğun bakım kalış süreleri ve mortalite oranları değerlendirilmiştir.¹⁸ Bu ölçümlerle, 40 mg/kg/gün dozda yoğun bakıma kabulün en erken döneminde uygulanan NAS tedavisinin çoklu organ yetmezliği gelişimini engellemediği ve mekanik ventilasyon, yoğun bakım yatış süreleri ve mortaliteyi azaltmadığı bulunmuştur.

Ratlarda endotoksin verilmesiyle oluşturulan sepsis modelinde alveolar ve interstisyel hemoraji, ödem ve lökosit infiltrasyonu gözlenirken; 275 mg/kg/gün NAS'ın 48 saat süreyle intravenöz infüzyonu verilen gruplarda AC'de histopatolojik bulguların gerilediği, bu dozda mortalitenin azaldığı ancak 550 mg/kg/gün ve 950 mg/kg/gün dozlarında uygulanan NAS tedavisinin mortaliteyi artırdığı gözlenmiştir.¹⁹ Biz de, 150 mg/kg/gün dozunda 3 gün NAS tedavisi uyguladığımız çalışma-

mızda, mononükleer hücre infiltrasyonunun ve eritrosit ekstrasvazyonunun sepsis grubuna göre NAS grubunda anlamlı olarak azaldığını saptadık. Bu bulgular, NAS ile tedavinin sepsise bağlı oksidatif hasar ve organ yetmezliğinde koruyucu rol alabileceğini düşündürmektedir. Genel olarak, oksidatif stresli hastalardaki NAS tedavisi ile ilgili optimum doz, zamanlama, uygulama şekli ve süresi halen net değildir.

Radyokontrast madde nefropatisine bağlı NO bağımlı renal tübüler hasarı önlemede N-acetylcysteine amide (NACA) ve NAS'ın membran penetrasyonlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, indüklenebilir nitrik oksit sentetaz enziminin aracılık ettiği p38 MAPK yolunun iodoheksol ile uyarılması sonucu renal tübüler hücrelerde apoptozis gerçekleşmiştir. Yeni antioksidan ajan olan ANCA, NAS'a göre bu yolu daha fazla inhibe ederek apoptozisi yavaşlatmıştır.²⁰

Zafarullah ve ark. NAS'ın moleküler düzeyde etkinliğini araştırmışlardır.²¹ Bu araştırmalar sonucunda NAS'ın transforme hücrelerin seçilmiş apoptozisini artırdığını, hücre siklusunu etkileyerek antimetastatik etki gösterdiğini ve kondrosit ve nöron gibi bazı hücrelerin büyümesini ve yaşamını teşvik ettiğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmaların sonuçları da, NAS'ın antioksidatif bir ajan olarak sepsise bağlı hücre hasarında koruyucu olabileceğini işaret etmektedir.

SONUÇ

Elde ettiğimiz bulgular sepsisin erken döneminde NAS uygulamasının böbrekteki inflamatuvar hasarlanmayı azalttığını göstermektedir. Serbest oksijen radikali temizleyicisi olan NAS'ın, sepsiste hücre korunması ve apoptozise etkisinin spesifik çalışmalar ile değerlendirilmesi, ve etkinliğinin dozu, uygulama zamanlaması ve süresi ile ilgili araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Duran A, Kafalı E, Fidan M, Köylü Ö, Gökçalp A, Arslan U, et al. [Efficacy of low dose N-acetylcystein therapy on experimental rabbit sepsis model]. *Medical Journal of Selçuk* 2004;20(4):140-9.
2. İskit A. [Experimental models in sepsis]. *Anestezi Dergisi* 2006; 14(2):71-5.
3. Zarychanski R, Doucette S, Fergusson D, Roberts D, Houston DS, Sharma S, et al. Early intravenous unfractionated heparin and mortality in septic shock. *Crit Care Med* 2008; 36(11):2973-9.
4. Lee HT, Xu H, Siegel CD, Krichevsky IE. Local anesthetics induce human renal cell apoptosis. *Am J Nephrol* 2003;23(3):129-39.
5. Cankurtaran M, Kiyıkım A. [Renal hemodynamics and the mediators in sepsis]. *Erciyes Medical Journal* 2002;24(4):202-8.
6. Yazıcı P, Alizadehshargh S, Güner G. [Apoptosis: regulatory molecules, its relationship with diseases and apoptosis detection methods: review]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009; 29(6):1677-86.
7. Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR, Moraldi E, Cantini Q, Novelli G. The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(6):1907-11.
8. Kılçıkız S, Demirel C. [Oxidative stress, radiation-induced damage and the potential role of N-acetylcysteine as a radioprotector]. *Turkish Journal of Oncology* 2008;23(4):200-7.
9. Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, Cinel L, Avlan D, Unlu A, et al. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *Shock* 2003;19(4):366-72.
10. Vincent JL. Update on sepsis: pathophysiology and treatment. *Acta Clin Belg* 2000;55(2): 79-87.
11. Hong YL, Yeh SL, Chang CY, Hu ML. Total plasma malondialdehyde levels in 16 Taiwanese college students determined by various thiobarbituric acid tests and an improved high-performance liquid chromatography-based method. *Clin Biochem* 2000;33(8):619-25.
12. Messaris E, Memos N, Chatzigianni E, Katakı A, Nikolopoulou M, Manouras A, et al. Apoptotic death of renal tubular cells in experimental sepsis. *Surg Infect (Larchmt)* 2008;9(3): 377-88.
13. Gürer A, Özdoğan M, Gökakın AK, Gömceli I, Gülbahar O, Arikök AT, et al. Tissue oxidative stress level and remote organ injury in two-hit trauma model of sequential burn injury and peritoneal sepsis are attenuated with N-acetylcysteine treatment in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2009;15(1):1-6.
14. Bernard GR. N-acetylcysteine in experimental and clinical acute lung injury. *Am J Med* 1991;91(3C):54S-59S.
15. Del Sorbo L, Zhang H. Is there a place for N-acetylcysteine in the treatment of septic shock? *Crit Care* 2004;8(2):93-5.
16. Molnár Z, Shearer E, Lowe D. N-Acetylcysteine treatment to prevent the progression of multisystem organ failure: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Crit Care Med* 1999;27(6):1100-4.
17. Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest* 1998; 113(6):1616-24.
18. Akıncı B, Erden A, Kanbak M, Aypar Ü. [The effect of N-acetylcysteine treatment to prevent the progression of multiple organ failure]. *Türk Anest Rean Der Dergisi* 2005; 33(1):76-81.
19. Sprong RC, Winkelhuyzen-Janssen AM, Aarsman CJ, van Oirschot JF, van der Bruggen T, van Asbeck BS. Low-dose N-acetylcysteine protects rats against endotoxin-mediated oxidative stress, but high-dose increases mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157(4 Pt 1):1283-93.
20. Gong X, Celsi G, Carlsson K, Norgren S, Chen M. N-acetylcysteine amide protects renal proximal tubular epithelial cells against iohexol-induced apoptosis by blocking p38 MAPK and iNOS signaling. *Am J Nephrol* 2010;31(2):178-88.
21. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 2003;60(1):6-20.