

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DAHİLİ TIP BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
NEFROLOJİ BİLİM DALI

**N-ACETYLCYSTEİNİN RATLARDA KONTRAST NEFROPATİ
GELİŞİMİNE ETKİSİ**

118714

UZM. DR. YAVUZ YENİÇERİOĞLU
NEFROLOJİ UZMANLIK TEZİ

118714

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. TANER ÇAMSARI

İZMİR
MART 2002

ÖNSÖZ

Nefroloji Uzmanlık eğitimim sırasında bilgi ve birikimleriyle yetişmemi sağlayan Nefroloji Bilim Dalı başkanı ve tez danışmanım Prof. Dr. Taner ÇAMSARI, Nefroloji Bilim Dalı Öğretim üyeleri ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Dr. Yavuz YENİÇERİOĞLU

İçindekiler

1) Genel Bilgiler	
1.1) Kontrast Nefropatisi	1
1.2) Kontrast Nefropatisi Patogenezi	1
1.3) Serbest Oksijen Radikalleri	5
1.4) Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek	9
1.5) N-Acetylcysteine	10
1.6) N-Acetylcysteine Yan Etkiler ve Toksisite	14
1.7) Deneysel Kontrast Nefropati Modelleri	14
1.8) N-Acetylcysteinin Böbrek Patolojilerine Etkisi	14
2) Amaç	16
3) Materyal ve Yöntem	16
3.1) Patoloji	17
3.2) Biyokimya	18
4) İstatistik	19
5) Bulgular	19
6) Tartışma	24
7) Sonuç	27
8) Türkçe Özet	28
9) İngilizce özet, Summary	29
10) Kaynaklar	30

N-ACETYLCYSTEİNİN RATLARDA KONTRAST NEFROPATİSİNE ETKİSİ

1) Genel Bilgiler

1.1) Kontrast Nefropatisi

Kontrast nefropatisi (KN) alternatif etimolojilerin dışlanması durumunda kontrast madde verilmesi sonrası gelişen, böbrek fonksiyonlarındaki akut bozulma olarak tanımlanır(1). Bazı prospektif yayınlarda yatan hastalarda gelişen böbrek yetmezliğinin %10'unun kontrast madde kullanımına bağlı olduğu bildirilmektedir(2). 1950'li yıllarda az sayıda olgu bildirilmesine karşın, kontrast madde kullanımının artması ve tanınması ile insidans artmıştır (1).

KN'nin gerçek insidansı bilinmemektedir. Çalışmalarda KN insidansı %0-92 arasında değişen oranlarda nefrotoksisite bildirilmiştir(3). Literatürdeki bu farklılık hasta seçimi, nefropati tanımındaki farklılık, retrospektif çalışmalarda işlem öncesi ve sonrasında böbrek fonksiyonları kontrolünün yapılmamasına bağlı olabilir. Kontrast madde verilmesi sonrası, idrarda renal tübül epitel hücreleri, silendir ve debris gözlenebilir. Bu bulgular özgün olmayıp, böbrek yetmezliği ile korelasyon göstermez . Ağır proteinüri varlığı literatürde bildirilmiştir, ancak sık rastlanan bir bulgu değildir(4). Akut tübüler nekroz gelişmesi durumunda buna uyan idrar sodyum ve fraksiyonel sodyum atılımı değişiklikleri gözlenebilir. Bazal kreatinin değeri yüksekliği, proteinüri, hipertansiyon, ileri yaş, dehidratasyon, hiperürisemi, tekrarlayan kontrast madde kullanımı, soliter böbrek, multiple myeloma ve 2 ml/kg'dan fazla kontrast madde kullanımı KN gelişimi için bildirilen risk faktörleridir(5). Diabetes Mellitus varlığının bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildiren yayınlar olmasına karşın(6, 7), riskin altında yatan renal fonksiyon bozukluğuna ikincil olduğu bildirilmekte(5, 8), renal fonksiyonların normal olduğu durumlarda, diyabetiklerin normal bireylerle karşılaştırıldığında eşdeğer riske sahip olduğu bildirilmektedir(9, 10, 11).

KN klinik seyri iyi tanımlanmış bir tablodur. Böbrek yetmezliği oligürik veya nonoligürik seyirli olabilir. Serum kreatinin düzeyleri genellikle 24. saatte yükselmeye başlar ve 96 saat içinde tepe düzeyine ulaşır ve genellikle 8-10 gün içinde normale döner. KN gelişmiş hastaların %10-25'inde diyaliz gereksinimi doğar, olguların yaklaşık %30'unda renal fonksiyonlar düzelmez(1, 5, 12).

1.2) Kontrast Nefropatisi Patogenezi

KN patogenezi ile ilgili bazı olası mekanizmalar ileri sürülmesine karşın, kesin mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Bununla beraber hemodinamik değişiklikler, intratübüler tıkanma, tübüler hücre hasarı, immünolojik mekanizmalar, mikrosirkülatuvar

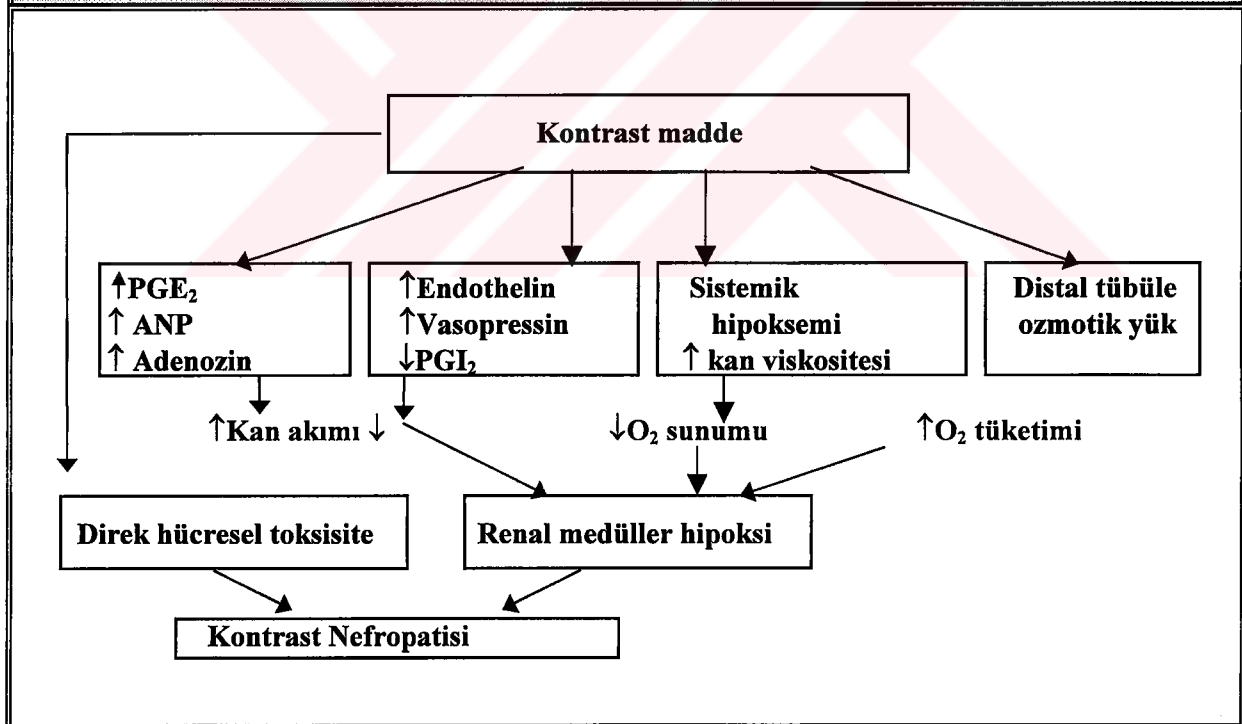
değişiklikler patogeneze ileri sürülen mekanizmalardır. Tablo 1'de KN patogenezinde ileri sürülen mekanizmalar özetlenmiştir(13). Glomerülden filtre edilen kontrast madde nefron boyunca geri emilmez. Bu yüzden kontrast madde klerensi, glomerüler filtrasyon hızına (GFR) eşdeğer kabul edilebilir. Yapılan çalışmalarda kontrast maddenin renal artere direkt verilmesi ile renal kan akımı ve GFR'de ani düşme gözlemlendiği bildirilmektedir(14, 15). Vazodilatasyonu takiben gelişen vazokonstriksiyon renal vasküler yatak için tipiktir. Kontrast maddeye bağlı gelişen vazokonstriksiyon, KN patogenezinde renal iskemi hipotezinin temelini oluşturur. Bu hipotez, hayvan modellerinde, kontrast madde verilmesi ile iskemiye son derece duyarlı olan dış medulla kısmında hasar oluşumu ile desteklenmektedir(16, 17). Bununla beraber bu görüşle çelişen yayınlarda vardır. Bir hayvan deneyinde, elektromanyetik akım probu ile akut böbrek yetmezliği gelişimi sırasında renal kan akımında azalma saptanmamıştır(18). Kronik böbrek yetmezliği olan hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada koroner anjiyografi sırasında thermodilüsyon yöntemiyle renal arter kan akımında azalma olmadığı gözlemlenmiştir(19).

Bir dizi vazoaktif madde vazokonstriksiyon olayında rol almaktadır. Şekil 1'de KN patogenezinde mediatörlerin rolü özetlenmiştir(20). Önceki veriler adrenerjik sistemin rolü düşüncesini desteklememektedir(14). Renin-angiotensin-aldosteron sisteminin rolü net değildir(14, 16, 21, 22, 23). Yapılan hayvan deneylerinde anjiotensin II reseptör antagonisti verilmesiyle kontrast madde verilmesi sonrası gelişen vazokonstriksiyonun kısmen engellendiği(24), anjiotensin II infüzyonu ile renal hasarın arttığı(25) gösterilmiştir. Düşük klerens hastalarında yapılan bir çalışmada, kontrast madde öncesi kaptopril verilmesiyle böbrek kan akımı ve GFR'deki azalmanın kısmen engellendiği gösterilmiştir(26). Kalsiyum, bu hemodinamik değişikliklerde mediatör olarak rol alıyor olabilir. Yapılan çalışmalarda kalsiyum antagonistlerinin, kontrast maddeye olan vazokonstriktör yanıtı azalttığı gösterilmiştir(23, 27).

Hayvan deneylerinde vazodilatatör sistem bozukluklarının KN patogenezinde rolü olduğu ileri sürülmektedir. Nitrik oksit ve vazodilatatör prostoglandinlerin inhibisyonu ile KN gelişim riskinin arttığı gösterilmiştir(28). Nitrik oksit sentez inhibitörü L-NAME verilmesi ile kontrast madde verilmesi sonrası gelişen vazodilatasyon fazının yerini vazokonstriksiyonun aldığı ve bu durumun yaklaşık 1 saat kadar sürdüğü gösterilmiştir(29). Bu durumun iskemik hasara neden olabileceği ileri sürülmüştür.

Tablo 1 : Kontrast nefropati patogeneğinde ileri sürülen mekanizmalar

Hemodinamik değışiklikler	Tübüler hücre hasarı
*Azalmış renal kan akımı *Artmış kan viskozitesi *Eritrosit değışiklikleri *İnatübüler tıkanmaya ikincil artmış inatübüler basınç *Trombüs oluşumu *Endotel hasarı *Azalmış filtrasyon fraksiyonu	*Akut tübüler nekroz *Medüller nekroz *Vakuolizasyon *Tübüler fonksiyon bozuklukları (enzimüri, PAH, β_2 mikroglobulin transportu),
Intratübüler tıkanma	İmmünolojik mekanizmalar
*Mukoproteinlerce jel oluşumu *Albüminüri *Artmış ürik asit ekskresyonu *Artmış oksalat ekskresyonu *Azalmış GFR	*Proliferatif glomerulonefrit *Antikor oluşumu *Allograft rejeksiyonu *Kompleman aktivasyonu

ŞEKİL 1: Kontrast nefropati patogeneğinde mediatörlerin rolü

Vazodilatatör prostoglandinler kontrast madde ile oluşan vazokonstriksiyonu engellemeye çalışırlar. Hayvan deneylerinde kontrast madde ile akut böbrek yetmezliğı oluşturabilmek için kontrast madde öncesi indometazin kullanılması gerekmektedir(16, 19). Kontrast madde enjeksiyonu ile üriner prostoglandin atılımı artmakta(30) ve renal prostosiklin sekresyonunu inhibe edilmektedir(22).

Son araştırmalar, adenozin, endothelium derived relaxing faktör (EDRF) ve endotelinin kontrast madde kullanımına bağlı gelişen anormal hemodinamide rol alabileceğini göstermektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar adenozin reseptör antogonisti olan teofilinin GFR ve RBF deki azalmayı azalttığını(31), bununla beraber adenozin gerilim inhibitörü olan dipridamolün kontrast maddeye bağlı vazokonstriksiyonu arttırdığı ileri sürölmektedir(32). Adenozine bağlı renal vazokonstriksiyon, EDRF inhibisyonu ile potansiyalize edilmektedir(33). EDRF sentez inhibisyonu, kontrast madde ile oluşan enzimüri, doku nekrozu ve GFR'deki azalmayı arttırmaktadır(29, 34, 35). EDRF öncölü olan L-arginine verilmesi ile kontrast madde etkileri kısmen geriye döndürölebilmektedir. Potent bir endojen renal vazokonstriktör olan endotelinin KN'de anahtar rolü olabileceği bildirilmektedir(36, 37). Yüksek ozmolaliteli kontrast madde verilmesi ile daha çok olmakla beraber, kontrast madde verilmesi ile plazma ve üriner endotelinde artış gözlenmiştir(37). Spesifik endotelin reseptör antagonistleri ile KN insidansının azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur(30, 38).

Kontrast madde kullanımı ile oluşan hemodinamik değişikliklerde endojen vazoaktif maddelerin suçlanmakta olmasının yanısıra, artmış kan viskozitesi, eritrosit değişiklikleri, endotel hasarı, trombosit agregasyonu, azalmış filtrasyon fraksiyonu sorumlu tutulan diğer faktörlerdir(13).

Kontrast madde verilmesi sonrası oluşan proksimal epitelyal hücre vakuolizasyonu, interstisyel inflamasyon, hücre nekrozu(16, 39) ve artmış enzimüri(40, 41, 42), Kontrast maddenin renal epitel hücre toksisitesi göstergeleridir. Renal tübüler hasar, direkt toksisite ve hemodinamik değişikliklere ikincil olabilir. Renal tübüler hasarın gösterilmesinde alanin aminopeptidaz, lösin aminopeptidaz, gama glutamil transferaz, alkalen fosfataz, aspartat amino transferaz , treholaz, β glukosidaz gibi fırçamsı kenar enzimleri ve N acetyl- β -D-glukozaminidaz gibi lizozomal enzimler ve β_2 mikroglobulin gibi düşük molekül ağırlıklı proteinlerin idrar aktiviteleri kullanılabilir(40, 41, 42). Bu enzimler yalnızca kontrast madde toksisitesine spesifik olmayıp, ilaç toksisitesi ve başka nedenli tübüler hasarlarda da artabilir(43).

Mevcut veriler ışığı altında renal iskemi ve hücrel toksisitenin KN patogenezindeki rollerini birbirinden ayırmak güçtür.

Heyman ve arkadaşları KN patogenezinin ilışkin hipotezlerinde direkt tübüler toksisitenin hipoksi ile arttığını ileri sürmüşlerdir. Kontrast madde verilmesi, sistemik ve endoteline ikincil vazokonstriksiyon nedeniyle lokal hipoksi ve hiperozmolar kontrast madde verilmesi ile oluşan ozmotik diürece bağlı oksijen ihtiyaı artışı ile renal medulla hipoksisini artırır. Bu etkileri azaltabilmek amacıyla prostoglandin, atrial natriüretik faktör, adenozin ve olasılıkla EDRF salınır. Bu mekanizmaların kesintiye uğraması ile (NSAİ) veya defektif endotelial gevşeme ile medöller hipoksi ve hasar artar(44).

Glomerüler membran geçirgenlik değişikliklerine bağlı olarak gelişen proteinürinin, normal tübül su emilimi ile birlikte olduğunda intratübüler silendir oluşumuna neden olarak GFR'yi düşürdüğü ileri sürülmektedir(13).

Özet olarak, mevcut verilere göre, KN; direkt tübüler toksisite ile beraber renal hipoksemi tarafından belirlendiği söylenebilir.

KN gelişimini engelleyebileceği düşüncesiyle teofilin, kalsiyum kanal blokerleri, dopamin, vazodilatatörler, atrial natriüretik peptid, furosemide ve mannitol gibi pekçok ajan denenmiştir. Belirtilen ajanların etkinliği konusunda görüş birliği yoktur. Hidrasyonun sağlanması genel kabul gören profilaktik yaklaşımdır(45, 46).

1.3) Serbest Oksijen Radikalleri

Serbest oksijen radikalleri, atomik yada moleküler yapılarda çiftleşmemiş tek elektronu olan, moleküler oksijenden (O_2) türemiş atom yada atom gruplarına verilen isimdir. Radyoliz, fotoliz, organik maddelerin temel yıkılımı, metal iyonlarının katalizlediği, redoks reaksiyonları, enzimlerin katalizlediği redoks reaksiyonları sırasında çeşitli şekillerde serbest radikaller oluşur(47).

Çok reaktif olan bu yapılar tek elektronlarını çiftlemek üzere başka moleküllerle kolayca reaksiyona girebilirler. Onların yapılarını değiştirebilirler. Bir serbest radikal çiftlenmemiş elektronunu radikal olmayan bir atom ya da moleküle verebilir veya tek elektronunu çiftlemek üzere, diğer bir molekülden bir elektron kapabilir. Bu tip reaksiyonlar oluştukça radikal olmayan moleküllerde radikale dönüşür. Zincir reaksiyonları şeklinde bu ilerleme serbest radikallerin çok önemli bir özelliğidir. Olay, radikalın başka bir radikalle birleşmesi veya zincir kırıcı bir antioksidan tarafından temizlenmesine kadar sürer(47).

Serbest oksijen radikallerine ek olarak, serbest elektronları bulunmadığı halde reaksiyonlarda bu şekilde davranabilen maddelerde bulunmaktadır. Kimyasal reaksiyonlar sırasında serbest radikalleri serbestleştirme (hidrojen peroksit H_2O_2 ya da hipoklorik asit HOCl) yada doğrudan sitotoksik etkide bulunma yetenekleri karakteristiktir (hipoklorik asit ya da kloramin R-NHCl). Tablo 2'de radikal olan ve olmayan reaktif oksijen partikülleri sıralanmıştır.

Tablo 2: Serbest oksijen radikalleri

Radikaller	Radikal olmayanlar
<i>Süperoksit radikal (O_2^-)</i>	<i>Hidrojen peroksit (H_2O_2)</i>
<i>Hidroksil radikal ($OH^\cdot$)</i>	<i>Lipidhidroperoksit (LOOH)</i>
<i>Alkoksil radikal ($LO^\cdot$)</i>	<i>Hipoklorik asit (HOCl)</i>
<i>Peroksil radikal ($LOO^\cdot$)</i>	<i>R-NH₂</i>
Singlet oksijen	

Oksijen radikalleri hem endojen kaynaklardan hem de eksojen kaynaklardan köken alabilmektedir. Tablo 3'de serbest oksijen radikallerinin endojen ve eksojen kaynaklarından bazıları sıralanmıştır(48). Endojen kökenli oksijen radikalleri, normalde insan organizmasında oldukça az miktarlarda bulunur ve immün sistem içinde çok önemli işlevler görürken, eksojen kökenli oksijen radikallerinin sayısında son yıllarda önemli ölçüde artış saptanmıştır. Çevreden gelen oksijen radikalleri organizma üzerinde oksidatif stres yaratırlar.

Tablo 3: Serbest oksijen radikalleri kaynakları

Endojen kaynaklar	Eksojen kaynaklar
<i>Mitokondriler (solunum zinciri) O_2^-</i>	<i>Kirlilik</i>
<i>Hücre zarı (prostoglandin sentezi) OH</i>	<i>Sigara dumanı</i>
<i>Sitokrom P-450 (Detoksikasyon reak. O_2^-</i>	<i>İyonlaştırıcı radyasyon</i>
<i>Aktive lökositler (fagositoz)</i>	<i>Pestisitler</i>
<i>Mikrozomal elektron taşıma zinciri</i>	<i>Güneş ışığı</i>
<i>Oksidan enzimler</i>	<i>İlaçlar</i>

Organizmada oksidatif süreçlerin önemli bir rol oynadığının keşfedilmesinden sonra serbest radikal kavramı neredeyse zararlı yada patojen ile eş anlamlı bir hale gelmiştir. Oysa serbest oksijen radikallerinin sağlıklı bir organizmanın işleminde son derece önemli rolleri vardır. Pek çok immünolojik reaksiyon oksidasyon süreçlerine dayanmaktadır.

Serbest radikaller saldırgan olup, hücreleri yada hücre bileşenlerini doğrudan oksitleme yeteneğine sahiptirler. Tablo 4'de serbest oksijen radikallerinin moleküler düzeydeki etkileri sıralanmıştır(49).

Tablo 4 - Artmış serbest oksijen radikallerinin zararları

*Hücre organelleri ve membranındaki lipid ve protein yapısını bozma
*Hücre DNA'sı tahribi
*Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozma
*Litik enzim aktivasyonu (Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidaz vb.)
*Artmış hücre potasyum kaybı
*Dokulara fagositer hücre toplanmasının kolaylaştırılması
*Hücre dışındaki kollajen doku bileşenlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkımı
*Kapiller geçirgenlikde bozulma

Çok sayıda kimyasal madde dokuda oksidatif stres oluşturarak lipid, protein ve nükleik asitler, karbonhidratlar gibi önemli yapıların artmış oksidasyonuna neden olur(50, 51, 52). Günümüzde in vivo oksidan stresi göstermek amacıyla pek çok yöntem vardır. Bu yöntemlerin pek çoğu lipid peroksidasyon ürünlerinin saptanmasına dayanır. Bu amaçla perokside edilmiş yağ asitlerinin hidrokarbon rezidülerinin ekshalasyonu veya dokuda MDA, konjuge dienler gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin veya lipofuksin pigmentinin monitorizasyonu kullanılabilir. Membran lipidleri oksidanların en önemli hedeflerindendir.

Membran lipid peroksidasyonu sonucu membran bütünlüğü bozulur, membran proteinleri ve membran reseptörleri ve ayrıca bunlara bağlanan enzimler inaktive olurlar. Membran lipid peroksidasyonu sonucu sitotoksik olarak bilinen malonildialdehid, konjuge dienler, gibi yan ürünlerde oluşur. Lipid peroksidasyonu, yağların özellikle poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif oksijen bağımlı yıkımı olarak tarif edilir ve dallanan bir zincir reaksiyonudur. Olayda genelde bir enzim varlığı gerekli olmamasına rağmen demir, bakır gibi metaller tarafından katalizlenir. Lipid peroksidasyonunda ilk olarak çifte bağlar yeniden düzenlemeye uğrayarak konjüge dien yapısına dönüşürler. Daha sonra peroksidasyon olayı devam ederek lipid endoperoksitleri ve/veya lipid hidroperoksitlerinin oluşumuna yol açar. Lipid Endoperoksitlerinin daha ileri yıkılımı ile göreceli olarak stabil son ürün olan MDA oluşur(53).

Serbest oksijen radikallerinin bir dizi hastalığın patogeneğinde rol aldığı gösterilmiştir(54). Oksijen radikalleri ve benzer maddeler normal metabolizma içinde de oluştuğuna göre, organizmada bu radikallerin etkilerini inhibe edebilecek gerekli savunma mekanizmalarına sahip olmalıdır. Bu kontrol mekanizmasının temel amacı bu radikallerin aşırı yapılmasını önlemek, aynı zamanda da sağlam olan komşu hücreleri korumaktır. Bunlar hem belirli maddeler (antioksidanlar, radikal tutucuları), hem de serbest radikallerin tipine ve tutulan hücrenin içinde bulunduğu fizyolojik duruma göre aktive olan bütün kimyasal reaksiyonlar olabilirler. Bunun sonucu serbest radikallerin parçalanma mekanizmaları enzimatik ya da enzimatik olmayan sistemler olarak sınıflandırılabilir(53).

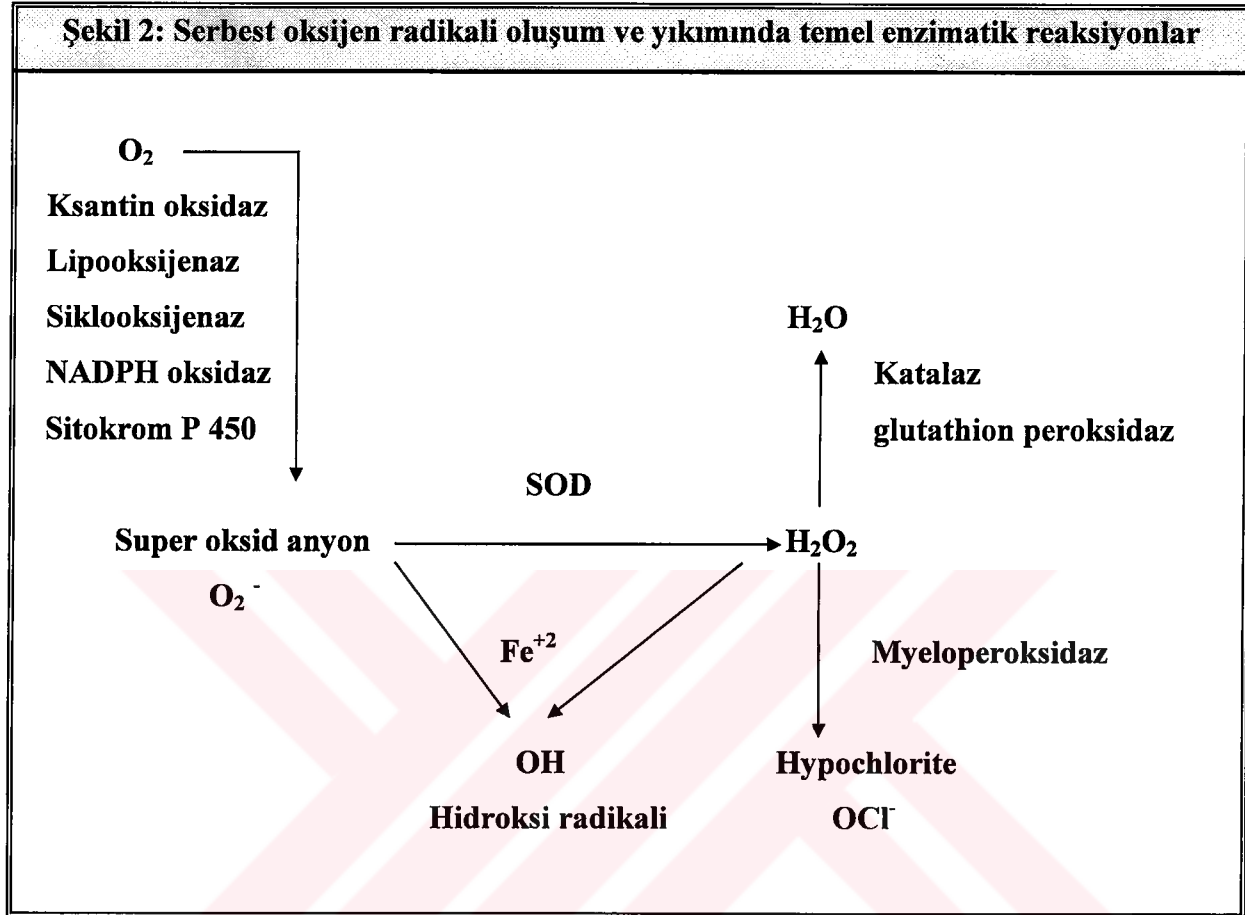
Oksidan moleküllerle mücadelede en önemli mekanizma, belirli düzeyi aşmış oksidanlara doğrudan etki ederek onları inaktif hale getiren antioksidanlardır. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamlarda farklıdır. İnsanlarda temel hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutathion peroksidaz enzimleridir(47). SOD'un yapısında bakır, çinko, manganez; glutathion peroksidazın yapısında da selenyum elementi bulunduğundan metalloenzim olarak adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine, hücre dışı ortamda SOD, katalaz, glutathion peroksidaz enzimlerinin aktiviteleri çok sınırlıdır. Hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobulin, hemopeksin, seruloplazmin, albümin, bilirubin, β -karoten, α_1 -antitripsin, transferrin, laktoferrin, ürik asit ve glukoz sorumludur(54, 55).

SOD bir metalloprotein olup sitoplazma (Cu/Zn SOD) ve mitokondrilerde (Mn SOD) bulunur. Süperoksit anyonunun H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü hızlandırır. Oluşan H_2O_2 hidroperoksidazlar (glutathion peroksidaz gibi) tarafından ortadan kaldırılır.

Katalaz bir lizozomal bir protein olup, H_2O_2 'in H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü gerçekleştirir. Glutathion peroksidaz sitoplazmik yerleşimli bir enzimdir ve su ve glutathiona oksidasyonu reaksiyonu hızlandırır. Şekil 2'de serbest oksijen radikalleri oluşumu ve yıkımındaki temel enzimatik reaksiyonlar özetlenmiştir(56).

Normalde oksidan stres mevcut antioksidanlar tarafından dengelenebilmektedir. Dengenin bozulması durumunda doku hasarı ve/veya hastalık gelişebilir.

Şekil 2: Serbest oksijen radikali oluşum ve yıkımında temel enzimatik reaksiyonlar



Oksidanlarla mücadelede temel stratejiler; oksidanları artırıcı etkenlerden uzaklaşmak, tetiklenen biyokimyasal olayları kırmak, oksidan salgılayan hücreleri etkisizleştirmek ve antioksidan kullanmaktır. Tablo 5'de tedavide kullanılabilen antioksidanlar sıralanmıştır(56).

Tablo 5: Tedavide kullanılabilen antioksidanlar

- *Rekombinant SOD
- *Demir Bağlayıcıları : Desferroksamin
- *Ksantin oksidaz inhibitörleri : Allopurinol
- *E vitamini
- *C vitamini
- *Thiol içerenler : N – asetil sistein, metionin, glutathion
- *A vitamini -B karoten
- *Probukol
- *Anjiotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
- *Trimetazidin

1.4) Serbest Oksijen Radikalleri ve Böbrek

Son yıllarda yapılan hayvan çalışmalarında serbest oksijen radikallerinin akut-kronik ve/veya immün ve immün olmayan böbrek hastalarında patofizyolojik önemi saptanmıştır. Tablo 6'da patogeneze serbest oksijen radikallerinin rolü gösterilmiş böbrek hastalıkları sıralanmıştır(56).

Tablo 6: Patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu düşünülen böbrek hastalıkları

*Glomerüler hastalık
<i>Minimal değişim hastalığı</i>
<i>Membranöz glomerülopati</i>
<i>Nötrofil bağımlı zedelenme, anti GBM nefriti</i>
*Akut böbrek yetmezliği
<i>Post iskemik</i>
<i>Toksik: cis-platin, gentamisin</i>
<i>KN, HVS, miyoglobünüri/</i>
<i>hemoglobinüri, radyasyon</i>
*Obstrüktif nefropati
*Pyelonefrit
*Progresif renal yetmezlik

KN patogenezinde serbest oksijen radikalleri aracılığıyla olan böbrek hasarı ileri sürülmektedir. İntrarenal kontrast madde enjeksiyonunun geçici vazodilatasyon ve ardından da uzun süreli vazokonstriksiyona neden olarak, GFR' yi azalttığı ve GFR azalmasının renal kan akımındaki düzelme olmasına karşın, sürdüğü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir(14, 57). GFR'deki bu azalmanın nedeni tam olarak bilinmemekle beraber, adenozin ve kalsiyumun hücre içine girişinin inhibisyonu ile, kontrast madde sonrası GFR azalmasında azalma olduğu gösterilmiştir. Kalsiyum ve adenozinin her ikisi direk olarak serbest oksijen radikalleri oluşumuna yol açan reaksiyonlarda rol sahibidir(27, 32).

Önceki çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmesi ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezindeki rolü olduğu gösterilmiştir(56).

Çeşitli iskemi ve inflamasyon modellerinde reaktif oksijen partiküllerinin glomerüler hasara neden olduğu bilinmektedir(56). Kontrast maddeye yanıt olarak gelişen vazokonstriktör yanıt kısmen adenozin tarafından oluşturulduğundan(32) ve adenozin serbest oksijen radikali oluşumunda rol sahibi olduğundan(58), serbest oksijen radikallerinin KN'de rolü olabileceği ileri sürülmüştür. Bakris ve arkadaşlarının köpekler üzerinde yaptığı bir çalışmada kontrast madde verilmesi ile renal ven MDA (lipid peroksidasyonu son ürünü, oksidan stres göstergesi) düzeyinin arttığı, renal kan akımı ve GFR'de anlamlı düşme olduğu

gözlenmiştir. kontrast madde verilmesi ile beraber, SOD (artmış serbest oksijen radikali klerensi) ve allopurinol (azalmış serbest oksijen radikali üretimi) infüzyonu ile GFR ve MDA değişimleri engellenirken, renal kan akımındaki azalma engellenememiştir. Kontrast madde verilmesi sonrası renal kan akımındaki azalmanın geçici olmasına karşılık, GFR'deki azalmanın sürmesi, serbest oksijen radikallerinin, renal kan akımı vazokonstriktör fazı sonrasında hemen sonraki düzelme fazında oluştuğunu düşündürmektedir(59).

Ratlarda yapılan bir çalışmada myoglobin ve hemoglobin ile oluşan akut böbrek yetmezliğinin ve lipid peroksidasyonun, demir bağlayıcısı olan desferoksamin ile engellendiği gösterilmiştir(60). Diğer bir çalışmada ise dehidrate bırakılan ratlarda kontrast madde verilmesi ile daha belirgin nefrotoksisite geliştiği ve dehidrate ratlarda daha az renal kortikal antioksidan enzim aktivitesi varlığı saptanmış ve katalaz verilmesi ile renal hasarın dehidrate olmayan ratlardakine benzer olduğu gösterilmiştir(61).

Bir başka çalışmada kontrast madde verilmesi ile oksidan stres göstergesi olarak doku MDA düzeyinin arttığı, ancak bu artışın renal hasarla korelasyon göstermediği saptanmıştır(62). Bunun yanı sıra desferoksamin (demir bağlayıcısı) ile tavşanlarda KN ilişkili akut böbrek yetmezliğinin engellenebildiği gösterilmiştir(63).

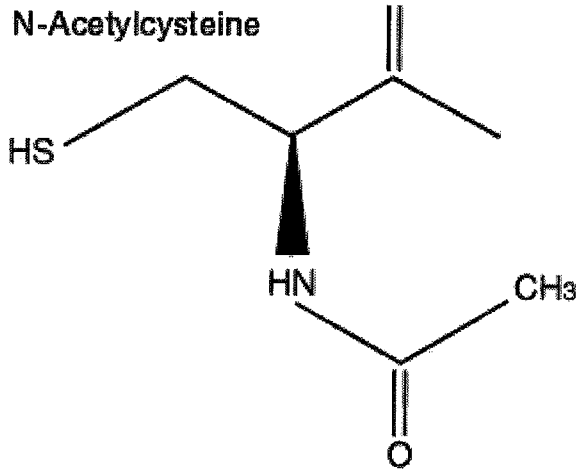
Kontrast madde verilmesi sonrası gelişen serbest oksijen radikali oluşumu çeşitli mekanizmalara bağlı olabilir. Bu mekanizmalar aşağıda sıralanmıştır. İyonik kontrast maddeler hiperozmotik özelliklerine bağlı olarak glomerüler bazal membran ve mezangiuma lökosit göçü ve serbest oksijen radikali üretimine neden olarak, doku hasarı oluşturur. Son çalışmalar serbest oksijen radikallerinin ratlarda izole glomerül ve mezangium kontraksiyonuna neden olduğunu göstermiştir(64). Bu durum glomerüler filtrasyon katsayısını azaltarak GFR'de azalmaya neden olabilir. Diğer mekanizma ise kontrast maddelerin benzoik asit halkasının direk serbest oksijen radikali oluşumuna neden olabileceğidir(65).

1.5) N-Acetylcysteine

N-acetylcysteine (NAC) L-cystein ve redükte glutathionun (GSH) asetillenmiş öncülüdür. 30 yıldan uzun süredir klinik kullanımdadır. Mukolitik etkileri nedeniyle kronik akciğer hastalıklarında ve karaciğer toksisitesi antagonizması nedeniyle asetaminofen toksisitesinde kullanılmaktadır(66).

Son dönemlerde yapılan hayvan ve insan çalışmalarında NAC'ın güçlü antioksidan özelliklerinin farkedilmesiyle kanser, kalp hastalıkları, HIV enfeksiyonu, ağır metal zehirlenmesi gibi serbest oksijen radikalleri hasarı ile karakterize bir dizi hastalıkta potansiyel törepatik ajan olarak incelenmeye alınmıştır. Yukarıda belirtilen hastalıkların yanı sıra Sjögren sendromu, sigara bırakma, influenza, hepatit C ve myoklonik epilepside de kullanılabileceğine ilişkin görüşler ileri sürülmektedir(66).

Şekil 3: N-acetylcysteine'in molekül yapısı



NAC sülfidril grubu içeren bir moleküldür ($C_5H_9NO_3S$). Molekül ağırlığı 163,2 gr/mol'dür. NAC'ın molekül yapısı şekil 3'de gösterilmiştir. Oral alım sonrası çeşitli dokular tarafından hızla emilir(%97). Karaciğer ve barsaklarda ileri derecede ilk geçiş eliminasyonuna uğrar ve deasetillenerek protein peptid zinciri yapılarına katılır ve bir dizi NAC metaboliti oluşur. Oral alınan NAC'ın yalnızca az bir miktarı değişmeden plazma ve dokulara ulaşır. Plazma tepe değerlerine oral dozdan 1 saatten önce ulaşılır. Yarılanma ömrü yaklaşık 2,15 saattir. Oral dozdan yaklaşık 12 saat sonra plazmada tespit edilemez. Alınan dozun %13-38'i 24 saatte idrarla atılır(67).

Sülfidril (SH) grubu metabolik etkiden sorumlu kısımdır. Asetillenmiş kısım molekülü oksidasyona dirençli kılar. Deneysel çalışmalarda SH içeren moleküllerin büyük bir kısmının mide asidinde duyarlı olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber intestinal sıvıda NAC'ın % 16'sı okside olduğu gösterilmiştir. Bu rakam diğer SH içeren moleküller için %75-100'dür(68). Çeşitli çalışmalarda intakt NAC'ın oral biyoyararlanımının %4-10 olarak bildirilmiştir(67, 69). Proteinler disülfid bağlanma, lümen ve intestinal mukozada deasetilasyon düşük biyoyararlanımdan sorumlu tutulan mekanizmalardır. Oral alım sonrası NAC'ın büyük kısmı diğer bileşiklere metabolize olur. Bu bileşikler; proteine bağlanan veya bağlanmayan SH gruplarıdır(70).

Ratlarda yapılan in vivo deneylerde, oral alım sonrası az miktarda redükte veya okside edilmiş NAC portal vende saptanmıştır. Bununla beraber cysteine ve inorganik sülfid karaciğere ulaşan temel metabolitlerdir. GSH'da daha az miktarlarda portal vende bulunabilir. NAC'ın bu metabolitler çevrilmesi, NAC aktivite ve koruyucu etkilerinin büyük kısmını oluşturur(70).

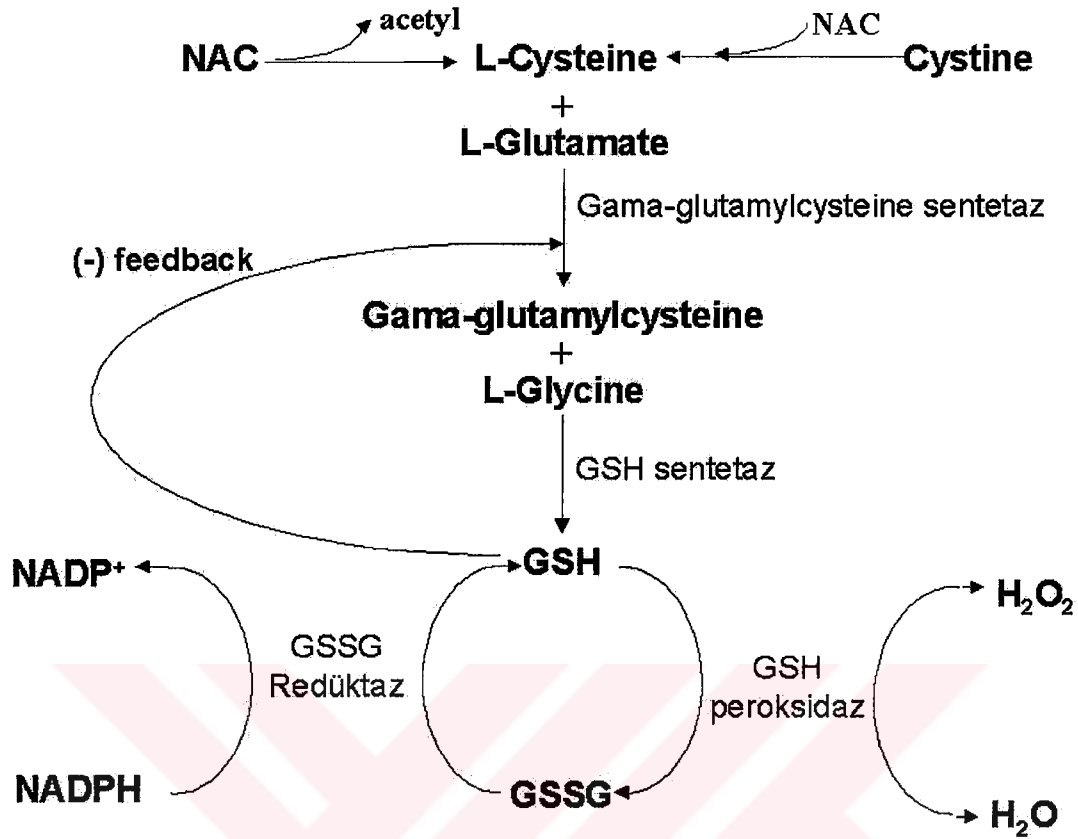
Oral uygulanan NAC'ın etkileri ekstrasellüler cystine'i cysteine indirgemesi ve/veya SH metabolitleri kaynağı olmasına bağlanmaktadır. SH kaynağı olarak NAC, GSH sentezini uyarır, glutathione-S-transferaz aktivitesini hızlandırır, detoksifikasyonu artırır ve direk olarak reaktif oksidan radikallerini etkiler(71). Son çalışmalar NAC sülfidril kaynağı olmasının yanısıra, vazodilatatör etkileri de olduğunu ortaya koymaktadır. NAC bu etkilerini nitrik oksit ile birleşerek daha stabil ve guanilat siklazı daha potent olarak aktive eden bir molekül olan S-nitrosothiol oluşturarak yapar (72, 73).

GSH en çok bulunan ve en önemli protein dışı thiol içeren moleküldür. GSH pek çok biyolojik transport, depolama, metabolizma ve koruma işleminde, indirgeyici, katalizör veya reaktan olarak rol alır. GSH etkisini direk veya diğer hücrel antioksidanların işlevlerini korumasını sağlayarak dolaylı olarak gösterir. GSH özellikle karaciğer, böbrek, barsaklar ve akciğerler gibi eksojen toksinlere maruz kalan organlar için önemlidir(74).

NAC GSH öncülüdür. GSH L-glutamate, L-cysteine ve glycinden oluşan bir tripeptiddir. GSH sentezi şekil 4'de şematize edilmiştir. Birinci aşama enzimi olan gama glutamylcysteine sentetaz enzimi GSH tarafından kontrol edilir. GSH düzeyinin artması durumunda enzim aktivitesi baskılanır. GSH sentetaz enzimi GSH düzeyinden etkilenmez. GSH tüketildiğinde sentez inhibisyonu ortadan kalkar, bu durumda sentez hızını belirleyen faktör L-cysteine'dir(74).

Okside glutathion (GSSG) GSH'nin kullanıldığı antioksidan reaksiyonlarda oluşur ve artmış oksidan stres durumunda birikir. GSSG/GSH oranı bu yüzden oksidatif stresin duyarlı bir göstergesidir. Oluşan GSSG, GSH redüktaz enzimi aracılığıyla NADPH kullanılarak GSH'ye indirgenir(74).

Şekil 4: NAC ve Glutathion metabolizması



In vivo ve in vitro veriler, NAC'ın hücre içi GSH biyosentezini arttırabildiğini göstermiştir. Hücre kültüründe NAC, GSH biyosentezi için ortamdan cysteine alınımını arttığını göstermiştir. In vivo çalışmalarda ise NAC uygulaması ile eritrosit, akciğer ve karaciğer hücrelerinde GSH düzeyinin arttığı ve deneysel yoksunluk sonrası depoları doldurduğu gösterilmiştir(66).

NAC ayrıca asetaminofen entoksikasyonunda hepatositlerde hücre içi GSH düzeyini arttırması nedeniyle antidot olarak kullanılmaktadır. Yüksek dozlarda verilen asetaminofen GSH düzeyini düşürür ve sitozolik GSH transferaz aktivitesini inhibe eder. Asetaminofen alımından sonra 1 saat içinde alınan NAC her iki etkiyi de engeller(75, 76).

Yapılmış bir dizi çalışmada NAC'ın asetaminofen entoksikasyonu, ARDS, kanser, kronik bronşit, epilepsi, kalp hastalıkları, ağır metal zehirlenmesi, HIV enfeksiyonu, influenza önlenmesi ve Sjögren sendromu gibi bir dizi hastalıkta kullanımın olumlu etkileri olabileceği bildirilmektedir(66).

1.6) NAC Yan etkiler ve Toksikite

Fare ve sıçan çalışmalarında lethal doz 50 (LD₅₀) sırasıyla 7888 mg/kg ve 6000mg/kg olarak bulunmuştur. Hayvan çalışmalarında 2000 mg/kg dozunda teratojenik etki saptanmamıştır. Aynı çalışmada AMES testi ile mutajenik etki saptanmamıştır(68). İntravenöz yolla uygulandığında NAC nadiren allerjik reaksiyonlara neden olabilir. Asetaminofen entoksikasyonu gibi yüksek oral dozlar halinde uygulandığında bile nadir olup, bulantı kusma, gastrointestinal yakınmalar, döküntü, kaşıntı, angiodem, bronkospazm, taşikardi, hipotansiyon ve hipertansiyona neden olabilir(77).

1.7) Deneysel Kontrast Nefropati Modelleri

Deneysel KN modelinde ortak kabul gören bir model mevcut değildir. Sadece kontrast madde verilmesi ile istenilen sıklıkta nefrotoksisite gelişmemesi nedeniyle, böbrek yetmezliği insidansını arttırabilmek çeşitli yöntemler uygulanagelmektedir. Su-tuz kısıtlaması, diüretik ile volüm depleksyonu, prostoglandin sentez inhibisyonu, gliserol kullanımı ve uninefrektomi bu amaçla en sık başvuru yöntemlerdir(78, 61, 17, 18)

1.8) NAC'ın Böbrek Patolojilerine etkileri

Köpekler üzerinde yapılmış bir çalışmada NAC'ın inferior vena cava oklüzyonu sonrası gelişen renal yetmezlik ve endotel disfonksiyonunu düzelttiği bildirilmiştir(79).

Tariq ve arkadaşları yaptıkları çalışmada değişen dozlarda siklosporin ve NAC verdikleri sıçan gruplarını karşılaştırdıklarında, yalnızca siklosporin verilen gruplarda BUN ve kreatinin değerlerinde yükselme gözlerken, NAC verilen grupta değişim gözlemediklerini ve siklosporin ile birlikte kullanıldığında NAC'ın koruyucu etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde siklosporin kullanımı ile oluşan doku lipidhidroperoksit, konjuge dien düzeylerinde artma ve GSH düzeylerinde azalmanın NAC kullanımı ile gözlemediklerini bildirmişlerdir. Beklendiği üzere histolojik incelemede NAC'ın, siklosporinin oluşturduğu histolojik değişiklikleri engellediği göstermiştir(80).

Holt ve arkadaşları erken dönem hepatorenal sendromu olan 12 hasta üzerinde yaptıkları kontrolsüz çalışmada NAC verilmesi ile renal fonksiyonlarda düzelme ve sağkalımda uzama gözlemediklerini bildirmişlerdir(81).

Başka bir çalışmada ise, NAC uygulamasının kronik kadmiyum alımına bağlı nefrotoksisiteyi engellediğini bildirmişlerdir(82).

NAC antioksidan özellikleri nedeni ile yaygın klinik kullanım alanı bulan küçük bir moleküldür. NAC sülfidril kaynağı olmasının yanı sıra nitrik oksidin biyolojik etkilerini

arttırmasının da rolü olabilir. Inferior vena kava oklüzyonu yapılan sıçanlarda reperfüzyon sonrası renal kanlanmada azalma ve serum oksidan stres markerlarında artma olduğu gösterildikten sonra iki ayrı gruba NAC ve nitrik oksit sentez inhibitörü L-NAME verilmesi sonrası aynı işlem ve incelemeler tekrarlanmıştır. L-NAME verilen grupta renal perfüzyonun kontrol grubuna göre daha fazla azaldığı gösterilirken, bu etkilerin NAC verilmesi ile kısmen engellendiği gösterilmiştir. Bu bulgular NAC'ın antioksidan özelliklerinin yanısıra nitrik oksit üzerine etkileri dolayısıyla da olabileceğini düşündürmektedir(83).

"New England Journal of Medicine"de yayınlanan klinik bir çalışmada bazal kreatinin değerleri yüksek 83 hastaya kontrastlı bilgisayarlı tomografi incelemesi uygulanmış, hastalar plasebo ve NAC (2x600 mg, 2 gün) gruplarına randomize edilmişler. Renal disfonksiyon bazal kreatinin değerinde 0,5 mg/dl'lik artışı olması olarak tanımlanmış. Plasebo grubunda renal disfonksiyon insidansı %21 iken NAC grubunda %2 olarak gözlenmiştir. Her iki grupta bazal kreatinin (plasebo: $2,4 \pm 1,3$ mg/dL, NAC: $2,5 \pm 1,3$ mg/dL, $p > 0,05$) değerleri benzer iken kontrast madde kullanımı sonrasında kreatinin (plasebo: $2,6 \pm 1,5$ mg/dL, NAC: $2,1 \pm 1,5$ mg/dL, $p: 0,001$) değerlerinin NAC grubunda anlamlı olarak düşük olduğu bildirilmiştir(84).

2) Amaç

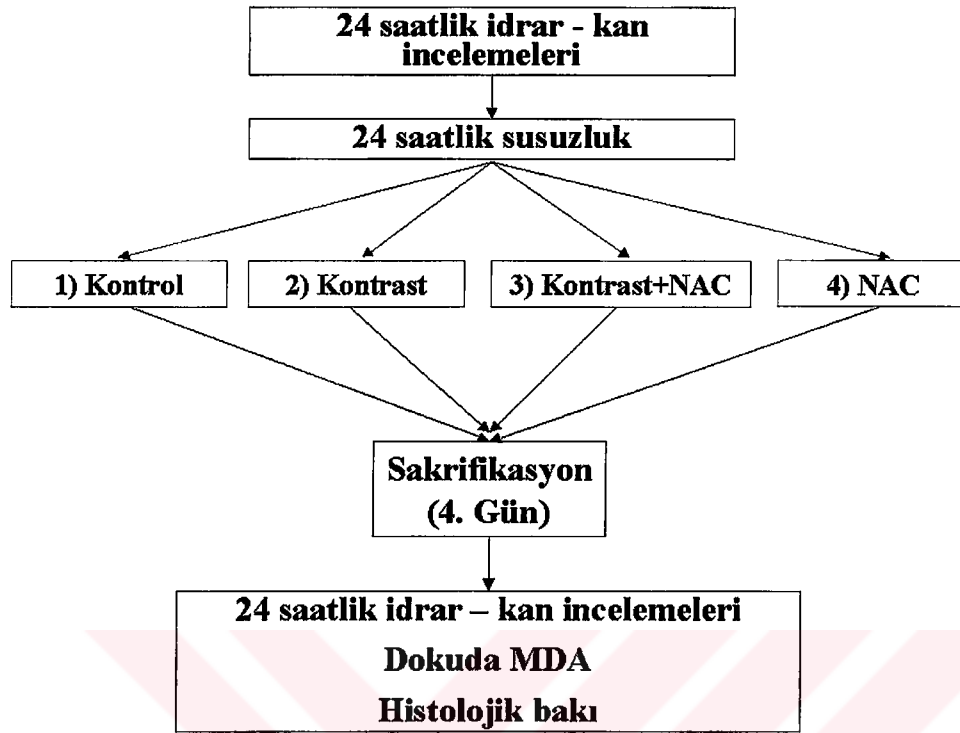
Klinik çalışmalarda hidrasyonla beraber NAC uygulamasının ılımlı böbrek fonksiyon bozukluğu olanlarda böbrek fonksiyonlarında bozulmasını azalttığı gösterilmiştir. Bununla beraber mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Biz bu çalışmada NAC verilmesinin kontrast nefropatisi gelişimi üzerine etkisini ve bu etkide NAC'ın antioksidan özelliklerinin rolünü araştırmayı planladık.

3) Materyal ve Yöntem

Vücut ağırlıkları 178-240 gr arasında değişen 28 dişi Wistar rat çalışmaya alındı. Ratlar her birinde 7 rat olmak üzere 4 gruba bölündü. Tüm ratlar tartılarak vücut ağırlıkları kayıt edildi. Çalışmanın başlangıcında tüm ratlardan bazal kan örnekleri alındı. Metabolizma kafesleri kullanılarak 24 saatlik idrar toplandı. İntravenöz girişimler eter anestezisi altında kuyruk veninden yapıldı. Serum ve 24 saatlik idrar örneklerinde kreatinin analizleri yapıldı, kreatinin klerensi hesaplandı. İzleyen 24 saat boyunca ratlar susuz bırakıldı. Dehidratasyon sonrası ratlar tekrar tartıldı. Ardından, 1. gruba (kontrol grubu) herhangi bir ilaç verilmedi, 2. gruba kontrast madde, 3. gruba kontrast madde ve NAC, 4. gruba ise yalnızca NAC verildi. İşlemlerden 2 saat sonra su alımı serbest bırakıldı. Çalışma kurgusu şekil 5'de özetlenmiştir. Kontrast madde olarak Ioxaglate (Hexabrix® ,320 mgI/mL, iyonik dimer Mallinckrodt, Guerbet) 10 mL/kg dozunda intravenöz yolla kuyruk veninden verildi. Saf NAC (Toprak İlaç, İstanbul) 50 mg/kg dozunda 0, 5 cc distile suda çözülerek verildi. 2x50 mg/kg/gün dozunda, toplam 4 kez verildi. İlk doz kontrast madde verilmeden 12 saat önce uygulanırken, 2. doz uygulamadan 30 dakika önce verildi. 12 saat arayla iki doz uygulanması sonrası NAC tedavisi sonlandırıldı. Girişimler ve anestezide bağlı strese kaynaklanabilecek farklılıkları engelleyebilmek amacıyla, anestezisi, intravenöz girişim ve gastrik sonda kontrast madde ve/veya NAC verilmeyen tüm gruplara da uygulandı. NAC verilemeyen gruplara aynı miktarda distile su gastrik sonda aracılığıyla işlemten 12 saat ve 30 dakika önce uygulandı. İzleyen dozlar oral su alımının serbest bırakılması nedeniyle verilmedi. 3. gün sonunda tüm ratlar metabolizma kafeslerine alınarak 24 saatlik idrar örnekleri biriktirildi. 5. gün başlangıcında eter anestezisi altında kan örnekleri alındı ve her iki böbrek çıkarıldı ardından ratlar hipovolemi yöntemiyle sakrifiye edildi. Sağ böbrek histolojik inceleme, sol böbrek ise dokuda MDA bakılmak üzere saklandı.

KN bazal kreatinin değerinin 0,5 mg/dL artması veya bazal değerinin %25'i veya daha fazla artması veya bazal değerinin %25'inin üzerine çıkması olarak tanımlandı.

Şekil 5: Çalışma kurgusu



3.1) Patoloji

Sakrifikasyon sonrası sağ böbrek mikroskopik inceleme için alındı. Otolizi engelleyebilmek için nefrektomi sonrası böbrek pelvisden geçecek şekilde horizontal olarak kesildi. Örnek %10 formaldehid içinde saklandı. 24 saat sonra dokunun 2 micrometrelik yüzey kesitleri alındı. Örnekler parafin bloklara yerleştirildi. 3 mikrometrelik kısım Hematoxyline&Eosin(H&E) ve Periodic Acid Schiff (PAS) yöntemiyle boyandı. Farklı kısımlardan 5 standart alan seçildi. Seçim bölgeleri şekil 6'da gösterilmiştir. Kesitler ışık mikroskobunda aynı patolog tarafından gruplar bilinmeden incelendi. Glomerüler, tübüler, interstisyel ve vasküler yapılar değerlendirildi. Fırçamsı kenar PAS boyası ile değerlendirildi. Seçilmiş alanlardan dijital görüntüler elde edildi. 20x büyütmede elde edilen görüntüler (Nikon Labophot-2, Japan), dijital renkli kamera (Hitachi, WK-C220E, Japan) aracılığıyla bilgisayara (Vestel, Manisa Turkey) aktarıldı. Tübüler kesit alanları interaktif işaretleme ve sayım tekniğiyle işaretlendi. İşlemler sırasında imaj analiz software (Bs200D Image Analysis Software, BAB Mühendislik Müh. Müş. San. ve Tic Ltd Şti, Ankara, Turkey) kullanıldı. Her bir seçim bölgesinden periglomerüler alanlar tercih edilerek, 3 kortikal görüntü alındı. Böylelikle her olgudan toplam 15 kortikal görüntü incelendi. Her bir olguda 1672110 mikrometre alan incelendi. Tübüler hasarlanmanın nicel olarak belirlenmesi amacıyla aşağıda tanımlanan

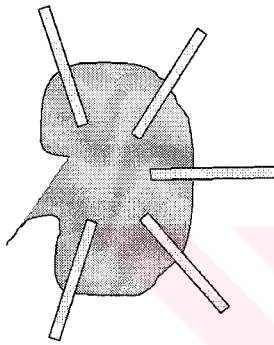
skorlarlanmaya göre her tübül kesiti skorlandı ve herbir lezyonun sıklığı yüzde olarak hesaplandı.

Evre 1: Tübüler fırçamsı kenar korunmuş ve karyoreksis, karyolizis ve piknoz gibi nekroz bulgusu yok.

Evre 2: Tübüler fırçamsı kenar kaybı mevcut, ancak karyoreksis, karyolizis ve piknoz gibi nekroz bulgusu yok.

Evre 3: Tübüler fırçamsı kenar kaybı ile beraber, karyoreksis, karyolizis, piknoz ve/veya dökülme ve/veya tübüloreksis gibi nekroz bulgusu mevcut.

Şekil 6: Histolojik inceleme için seçim bölgeleri



3.2) Biyokimya

Kan örnekleri 3000 devir/dk hızda 10 dakika santrifuj edilerek serum elde edildi. Serum ve idrar örnekleri -85°C 'de çalışma gününe kadar saklandı. İdrar ve serum kreatinin değerleri tüm örneklerde aynı seansda Hitachi marka otoanalizörde Jaffe yöntemiyle ölçüldü. Doku MDA: Sol böbrek biyokimyasal incelemeler için kullanıldı. Sol nefrektomi öncesi insülin enjektörü ile renal artere girilerek böbrek 10 cc buzlu serum fizyolojik ile perfüze edildi. Renal arter ve venin klempe edilmesi sonrası nefrektomi gerçekleştirildi. Korteks disseke edilerek ayrıldı. Elde edilen kortikal doku buzlu serum fizyolojik ile yıkandı. Watson kurutma kağıdı ile kurulandı. Ependorfa konan doku örnekleri buz üzerinde hızla transfer edilerek, hassas tartı ile tartıldı, 4-5'e parçaya bölünen doku örneklerin ependorflara konup sıvı azotta donduruldu. Doku örnekleri Teflon Potter S homojenizatörü ile 800/dk devirde 90 vuru yapılarak homojenize edildi. Homojenat $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 3000/dk devirde 10 dakika süre ile santrifuj edildi. Elde edilen homojenat örneklerinde MDA düzeyi çalışıldı. MDA analizi Draper ve Hadley 'nin tarif ettiği metoda göre belirlendi (85).

Reaktifler

- 1) Triklorasetik asid (TCA), % 15
- 2) Thiobarbitürrik asid (TBA), % 0.375

- 3) Hidroklorik asid (HCL) ,0.25 N ; 2.16 ml konsantre HCL maddelerin hepsi 100 mililitre distile suya tamamlanarak hazırlandı.
- 4) Butylated hidroksitoluene (BHT); %1 'lik BHT saf etanol içinde çözülerek hazırlandı.

3.2.2) Teknik

- 1) Homojenattan 500 µl ve 1 ml TBA/TCA/HCl karışımı eklendi. 5 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 2) 0.010 ml BHT toluen örnek tüplerine konuldu.100°C de 20 dakika örnekler kaynatıldı.
- 4.1.1.3.3. tetramethoxypropane kullanılarak standart eğrisi hazırlandı.
- 3) 532 nm `de absorbanslar ölçülerek standart eğrisine göre sonuçlar hesaplandı.

4) İstatistik

Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. Grup içi karşılaştırmalarda Wilcoxon rank testi kullanıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda ise Mann Whitney U testi testi kullanıldı. Korelasyon analizlerinde bivatriate yöntemi kullanıldı. $P<0,05$ anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

5) Sonuçlar

Çalışma boyunca rat kaybı olmadı. Ratların bazal vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında kontrol grubundaki ratların, NAC grubuna göre daha ağır olduğu gözlemlendi. Diğer gruplardaki ratların bazal vücut ağırlıkları benzerdi. Bazal ve dehidratasyon sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, tüm gruplarda vücut ağırlığının tüm gruplarda anlamlı azalma olduğu gözlemlendi. Ratların bazal ve 4. gün idrar volümleri tüm gruplarda anlamlı değişiklik göstermedi. Benzer şekilde gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında da idrar volümleri farklı değildi. Çalışma sırasında bazal kreatinin değerinde 0,5 mg/dL ve üzerinde artış gözlenmezken, kontrast madde grubunda bir sıçanda 4. gün serum kreatinin değerinin bazal değerinin %25'inden fazla arttığı gözlemlendi (0,6 mg/dl'den 0,8 mg/dL'ye). Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında kontrast madde grubu dışında kreatinin değerlerinde anlamlı değişiklik gözlenmedi(0,6 $\pm$ 0,1 vs 0,7 $\pm$ 0,2, p: 0,02). Bu artış istatistiksel açıdan anlamlı olmasına karşın, klinik açıdan önemsizdi. Bununla beraber kreatinin klerensi hiçbir grupta anlamlı değişim göstermedi(Tablo 8). Mikroskopik incelemelerde glomerüler inflamasyon bulgusu saptanmazken, interstisyumda az sayıda lenfosit varlığı gözlemlendi. Vasküler yapıların mikroskopik incelemesinde patoloji saptanmadı. Bununla beraber tübüllerde ödem, vakuolizasyon, fırçamsı kenar kaybı ve nekroz bulguları geliştiği gözlemlendi. Tübülöreksis, intratübüler silendir, rejeneratif atipi ve mitoz hiçbir kesitte gözlenmedi. Şekil 7 ve 8'de

kontrast madde verilen gruptaki iki ratta gözlenmiş, sırasıyla fırçamsı kenar kaybı ve tübüler nekroz gösterilmiştir. Doku MDA düzeyleri tüm gruplarda benzerdi(Tablo 9, Şekil 8). Tübüler hasarlanma skoru, serum kreatinin ve doku MDA düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı korelasyon saptanmadı.

Tablo 7: Çalışma boyunca ratların vücut ağırlığı ve idrar volümleri

	<i>Bazal VA (gr)</i>	<i>Deh. son*. VA (gr)</i>	<i>P</i>	<i>Bazal İdrar volümü (mL/gün)</i>	<i>4. gün İdrar volümü (mL/gün)</i>	<i>P</i>
Kontrol	208,1±5,1	200,7±5,1	0,017	10,8±2,2	12,3±2,3	AD [§]
Kontrast	208±7,3	202±7,2	0,018	8,3±1,3	10,8±2,3	AD [§]
Kontrast+NAC	200,7±3,08	183±3,8	0,018	9,39±0,74	11,11±0,93	AD [§]
NAC	194,5±4,8	184±5,6	0,018	7,1±0,8	9,2±1,6	AD [§]

VA: Vücut ağırlığı, Deh. son: Dehidratasyon sonrası, AD[§]: Anlamlı değil.

Kontrol Grubu ile Kontrast Grubunun Karşılaştırılması

Bazal ve 4. gün serum kreatinin, kreatinin klerensi değerleri ve idrar volümleri her iki grupta benzerdi (Tablo 7, 8). Tübüler hasarlanma evrelendirildiğinde, kontrol grubunda evre 1 tübüller daha sık (86,1±1,5 vs 16±1,5, p: 0,001) gözlemlendi. Bununla beraber evre 2 (13,8±1,5 vs 42±1,4; p: 0,001) ve evre 3 tübüller (%0 vs 40±2,1; p: 0,001) kontrast madde grubunda daha sık gözlemlendi(Tablo 9, Şekil 9). Doku MDA (kontrol: 2,06±0,3 vs kontrast: 2,4±0,6) düzeyi her iki grupta benzerdi (Tablo 9, Şekil 10).

Kontrast Grubu ile Kontrast+NAC Grubunun Karşılaştırılması

Bazal ve 4. gün serum kreatinin ve kreatinin klerensi değerleri gruplar arasında farklılık göstermedi(Tablo 7, 8). Tübüler hasarlanma evrelendirildiğinde, evre 2 tübüller (42,2±1,4 vs 42,2±1,5; p>0,05) benzer sıklıkta gözlemlendi. Diğer yandan evre 1 tübüller (16±1,5 vs 37±1,5; p: 0,001) kontrast+NAC grubunda, evre 2 tübüller ise (40±2,1 vs 20,2±0,86; p: 0,001) kontrast grubunda daha sık olarak gözlemlendi(Tablo 9, Şekil 9). Doku MDA düzeyi(kontrast: 2,4±0,6 vs Kontrast+NAC: 2,9±0,9) her iki grupta benzerdi(Tablo 9, Şekil 10).

Kontrol Grubu ile NAC Grubunun Karşılaştırılması

Bazal ve 4. gün serum kreatinin ve kreatinin klerensi değerleri gruplar arasında farklılık göstermedi (Tablo 7, 8). ATN skorları karşılaştırıldığında, evre 1 tübüller ($86,1 \pm 1,5$ vs $85,5 \pm 1,2$; $p > 0,05$), evre 2 tübüller ($13,8 \pm 1,5$ vs $14,2 \pm 1,2$; $p > 0,05$) ve evre 3 tübüller (0 vs $0,2 \pm 0,16$; $p > 0,05$) istatistiksel olarak benzer sıklıkta dağılım gösterdiği gözlemlendi (Tablo 9, Şekil 9). Doku MDA düzeyi (kontrol: $2,06 \pm 0,3$ vs NAC: $1,6 \pm 0,1$) her iki grupta benzerdi (Tablo 9, Şekil 10).

Tablo 8: Çalışma başlangıç ve bitiminde ratların serum kreatinin ve kreatinin klerensi değerleri

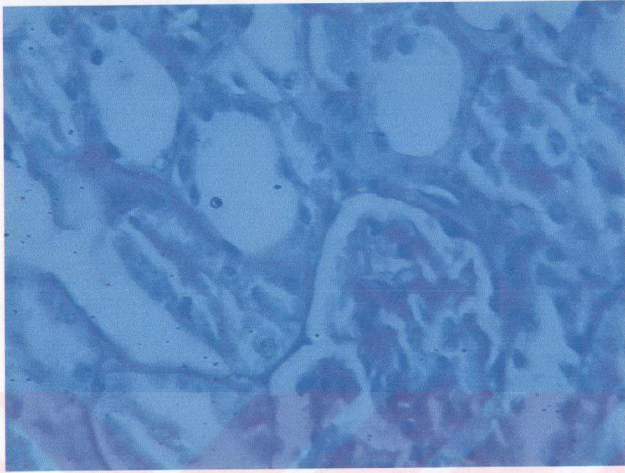
	Bazal kreat. (mg/dL)	4. gün kreat (mg/dL)	P	Bazal Kreat. Kler. (ml/dk)	4. gün Kreat. Kler. (ml/dk)	P
Kontrol	$0,58 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,01$	AD*	$0,59 \pm 0,07$	$0,67 \pm 0,1$	AD*
Kontrast	$0,6 \pm 0,1$	$0,7 \pm 0,2$	0,02	$0,54 \pm 0,04$	$0,51 \pm 0,04$	AD*
Kontrast+NAC	$0,64 \pm 0,02$	$0,64 \pm 0,03$	AD*	$0,50 \pm 0,04$	$0,47 \pm 0,02$	AD*
NAC	$0,6 \pm 0,01$	$0,64 \pm 0,02$	AD*	$0,47 \pm 0,03$	$0,47 \pm 0,06$	AD*

Kreat: Kreatinin, kler: Klerens, AD*: Anlamli değil

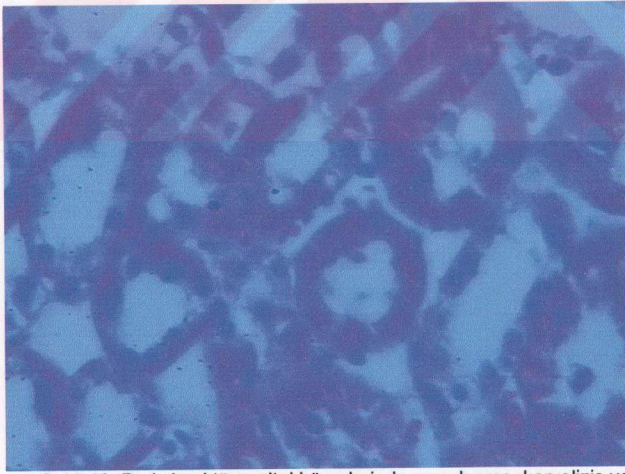
Tablo 9: Doku MDA düzeyi ve tübüller lezyonların sıklığı

	Evre 1 (%)	Evre 2 (%)	Evre 3 (%)	MDA (nmol/L)
Kontrol	$86,1 \pm 1,5^{\#}$	$13,8 \pm 1,5^{\#}$	$0^{\#}$	$2,06 \pm 0,3$
Kontrast	$16 \pm 1,5^{\#, \$}$	$42 \pm 1,4^{\#, \$}$	$40 \pm 2,1^{\#}$	$2,4 \pm 0,6$
Kontrast+NAC	$37 \pm 1,5^{\$}$	$42,2 \pm 1,5$	$20,2 \pm 0,86^{\$}$	$2,01 \pm 0,15$
NAC	$85,5 \pm 1,2$	$14,2 \pm 1,2$	$0,2 \pm 0,16$	$1,6 \pm 0,1$

$\#$: Kontrol ve kontrast grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$, $\$$: kontrast ve kontrast+NAC grubu karşılaştırıldığında $p < 0,05$

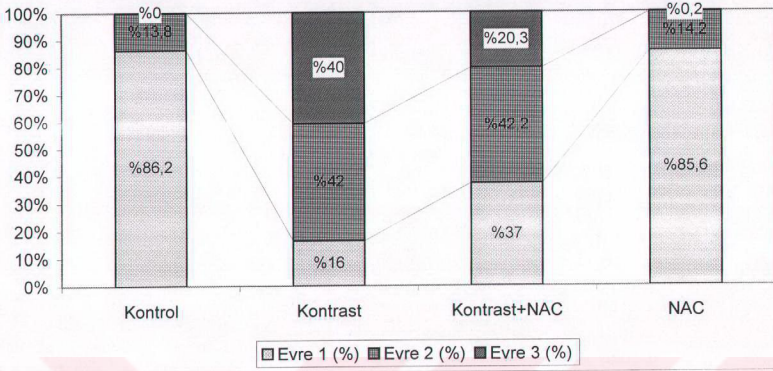


Şekil 9: Yaygın fırçamsı kenar kaybı (PAS, x40). Kontrast grubu 2 nolu rat

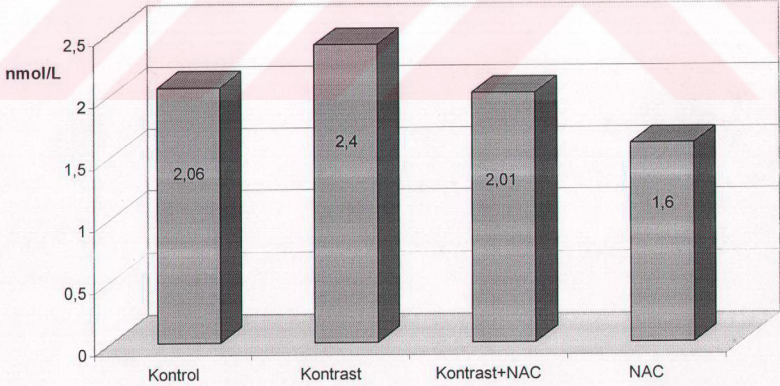


Şekil 10: Proksimal tüp epitel hücrelerinde yassılaşma, karyolizis ve karyoreksis. (H&EX40). Kontrast grubu 4 nolu rat

Şekil 9: Tübüler lezyonların gruplara göre dağılımı



Şekil 10: Gruplara göre doku MDA değerleri



6) Tartışma

KN insidansının azaltılabilmesi için arayışlar sürmesine karşın, evrensel olarak kabul gören bir yaklaşım yoktur. Mevcut verilerle en kabul gören yaklaşım hidrasyonun sağlanmasıdır (45, 46). Son yıllarda NAC'ın antioksidan ve vazodilatatör etkileri nedeniyle KN insidansını azaltılabileceği ileri sürülmektedir.

Uygulanan deneysel KN modeli ile serum kreatinin değerlerinde beklenen yükselme gözlemlenmedi. Deneysel hayvan modelleri nefrotoksik akut böbrek yetmezliğinin anlaşılmasında değerli bilgiler sağlamasına karşın bu modellerin oluşturulmasında güçlükler vardır. Kontrast maddenin tek başına verilmesi ile istenilen sıklıkta böbrek yetmezliği geliştirilemez. Literatürde standart kontrast nefropati oluşturan deneysel model yoktur. Bu durum araştırmacıları farklı yöntemleri denemeye itmektedir. Bu amaçla kontrast madde ile birlikte dehidratasyon, nonsteroid antiinflamatuvar ilaç, diüretik kullanımı, gliserol enjeksiyonu ve nefrektomi gibi ek yöntemler kullanılabilmektedir(78).

Parvez ve arkadaşları ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 24 saatlik dehidratasyon sonrası, yalnızca kontrast madde (10 mL/kg) verilmesi ile renal hasarlanma ve serum kreatinin değerlerinde yükselme gözlemlenmediklerini, intramusküler gliserol enjeksiyonu ile nefropati sağlayabildiklerini ve doku MDA düzeyinin 4-5 kat arttığını bildirmişlerdir(62). Gliserol rabdomiyoliz ve/veya intravasküler hemolize neden olarak myoglobüni ve hemoglobüni yaparak nefropati insidansını arttırmaktadır. Ancak gliserol enjeksiyonu ile sağlanan modelden elde edilen veriler tek başına kontrast maddeye bağlanamaz, süreçte myoglobüni de etkileri göz ardı edilmemelidir.

Vari ve arkadaşları yeterli kontrast nefropati modeli olmaması üzerine planladıkları çalışmalarında, tavşanlara 1 hafta süreyle tuzdan fakir diyet ve distile su vermişler. Indometazin ve kontrast madde(7 mL/kg) birlikte verildiğinde geri dönüşümlü böbrek yetmezliği elde ettiklerini bildirmişlerdir(18).

Cantley ve arkadaşları ise deneysel model olarak tek taraflı nefrektomi, az tuzlu diyet, ve intraperitoneal furosemid enjeksiyonu kullanmışlardır(30).

Çalışmamızda 24 saat süreli dehidratasyon sonrası kontrast madde verildi. Bildirilen deneysel modellerde dehidratasyon süresi 16 saat ile 72 saat arasında değişmektedir(59, 61, 62). Çelişen görüşler olmasına karşın, genel kanı iyonik kontrast maddelerin daha nefrotoksik olduğu yönündedir(45, 46). Çalışmamızda bu nedenle iyonik kontrast madde kullanıldı. Çalışmamızda diğer çalışmalarda kullanılan kontrast madde dozları (6-10 mL/kg) uygulandı(17,18, 62). Dehidratasyon sonrası tüm gruptaki ratların vücut ağırlıklarında anlamlı azalma olması dehidratasyon sağlandığını göstermektedir. Dehidratasyonun nonsteroid ilaç veya diüretik ile kombine edilmesi KN insidansını arttırabilirdi. Kontrast verilen grupta tübül kesitlerin yaklaşık %40'ında nekroz bulgusu saptanmasına karşılık kontrol grubunda nekroz

bulgusu saptanmaması deneysel modelimizle renal hasarlanma geliştiğini ortaya koymaktadır. Kreatinin değerlerinde klinik olarak anlamlı değişiklik gözlenmemesi, en çok hasarlanma gelişen kontrast grubunda bile tübül kesitlerinin yaklaşık %60'ında evre 1 veya evre 2 hasarlanma olmasına bağlı olabilir. Bu durum geri kalan nefronların kompensasyonuna ikincil olabilir.

Kontrast grubu verileri, kontrast+NAC grubu verileri ile karşılaştırıldığında, NAC uygulaması ile beraber evre 1 lezyonların yüzdesinde artış gözlenirken, nekroz bulgusu gösteren tübül kesiti yüzdesinin yarı yarıya azalması, NAC'ın kontrast madde kullanımına bağlı tübüler hasarlanmayı azalttığını göstermektedir. Çalışmamızın en önemli bulgusu budur. Diğer yandan NAC grubu ve kontrol grubu tübüler hasarlanma düzeylerinin benzer olması, NAC'ın nefrotoksik olmadığını göstermektedir. Literatürde NAC'ın kontrast nefropatiye bağlı renal hasarlanma sürecindeki etkisini histolojik düzeyde gösteren başka çalışma yoktur. Plasebo kontrollü bir klinik çalışmada NAC'ın KN insidansını azaltabileceği bildirilmesine karşın, açıklığa kavuşmayan bazı noktalar vardır. Tepel ve arkadaşları kontrastlı bilgisayarlı tomografi çekilen bazal kreatinin değeri yüksek olan insanlarda NAC'ın serum kreatinin değerindeki artışı engellediğini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada plasebo grubunda bazal serum kreatinin değerinde 0,2 mg/dL'lik bir artış gözlenmesi ve NAC grubunda ise serum kreatinin değerinin bazale göre 0,4 mg/dL düşmesi aradaki istatistiksel farklılığı yaratmaktadır(84). Bahsedilen çalışmada NAC tedavisi ile serum kreatinin değerinin bazalin altına düşmesinin nedeni açıklanmamaktadır. Bazal değerlerin altına düşmeyen serum kreatinin değeri muhtemelen istatistiksel olarak bir farklılık yaratmayacaktı. Kronik böbrek yetmezliği sürecinde, akut evrede, NAC ile serum kreatinin değerinin düşmesi yapısal etkilerle açıklanamaz. Bu durumda nitrik oksit üzerinden renal perfüzyonun artması ile ilişkili fonksiyonel bir değişim gerçekleşmiş olabilir yada olayı etkileyen bir başka süreç söz konusu olabilir. Çalışmada serum kreatinin değerlerinin aynı seansda çalışıp çalışılmadığı bildirilmemektedir. Aynı seanslarda çalışılmamış ise bu bir handikap olabilir. Belirtilen çalışmada bu etkinin NAC'ın biyokimyasal yöntemlerle etkileşmesinden kaynaklanmadığı serum örneklerine NAC ilavesi sonrası serum kreatinin çalışması ile gösterilmiştir.

Benzer şekilde, bazal serum kreatinin değerleri yüksek kardiyak kateterizasyon yapılan hastalarda yapılan randomize plasebo kontrollü, çift kör bir çalışmada Sandoval ve arkadaşları profilaktik oral NAC verilmesiyle serum kreatinin değerlerinde yükselmenin engellendiğini ve KN insidansının azaldığını bildirmişlerdir(86). Bu çalışmada kontrol grubunda serum kreatinin değerlerinde anlamlı artış olmamasına karşın, NAC grubunda serum kreatinin değerlerinde anlamlı azalma olmaktadır. Muhtemelen bu durum aradaki farklılığı yaratmaktadır. Bu çalışmada da serum kreatinin değerlerinin NAC sonrası neden azaldığı açıklanamamaktadır. Serum kreatinin değerlerindeki düşmenin artmış kreatinin sekresyonu ile ilgili olabileceğini düşüncesiyle serum BUN değerlerini kontrol ettiklerinde

farklılık gözlemlenemediklerini bildirmişlerdir(86). Bu konu farklı bir çalışmada kontrast madde verilmeksizin irdelenebilir.

Çalışmamızın en önemli bulgusu kontrast madde ile birlikte NAC verilmesi ile nekroz bulgusu gösteren tübül yüzdesinin %50 oranında azalmasıdır. NAC'ın bu olumlu etkilerini hangi mekanizmalarla gösterdiği bu çalışmadan çıkarılamaz.

Kontrast madde kullanımına bağlı renal fonksiyonlarda bozulma temel olarak renal hemodinamide değişiklikler ve tübül epiteli üzerinde direkt toksik etkilere bağlıdır. Önceki çalışmalarda böbrek dokusu veya idrarda artmış oksidan hasar ürünlerinin saptanması ve/veya serbest oksijen radikalleri inhibitörleri verilmesi ile koruyuculuğun deneysel olarak gösterilmesi ile serbest oksijen radikallerinin nefropati patogenezindeki rolü olduğu gösterilmiştir(56, 59, 62).

Patogenez göz önünde bulundurulduğunda vazokonstriksiyonu engelleyen ajanlar ve antioksidan maddelerin renal hasarlanmayı azaltması beklenir. NAC antioksidan ve vazodilatör etkileri nedeniyle KN engellenmesinde iyi bir seçenek olabilir. NAC'ın antioksidan özellikleri uzun yıllardır bilinmektedir. NAC antioksidan özelliklerini direkt ve indirek yollarla gerçekleştirir. İndirek yol önemli antioksidan özelliklere sahip GSH sentezini uyarmasıyla gerçekleşir.(71). GSH etkisini direkt veya diğer hücrel antioksidanların işlevlerini korumasını sağlayarak dolaylı yoldan gösterir. GSH özellikle karaciğer, böbrek, barsaklar ve akciğerler gibi eksojen toksinlere maruz kalan organlar için önemlidir(74).

Tariq ve arkadaşları siklosporin ile beraber NAC verilmesi ile renal doku oksidan stres markerlarındaki (lipid hidroperoksit, konjuge dien) artışın engellendiğini ve antioksidan rezervlerinin (total glutathion) arttığını ve böylelikle böbrekleri siklosporinin yapısal ve fonksiyonel zararlı etkilerinden koruduğunu göstermişlerdir(80). Bu etkiler NAC'ın antioksidan özelliklerine bağlanmaktadır.

Son çalışmalar NAC'ın antioksidan özelliklerinin yanısıra, vazodilatör etkileri de sahip olduğunu ortaya koymaktadır. NAC bu etkilerini nitrik oksit ile birleşerek daha stabil ve guanilat siklazı daha güçlü olarak aktive eden bir molekül olan S-nitrosothiol oluşturarak yapar (71, 72, 73).

Salom ve arkadaşları inferior vena cava oklüzyonu yapılan köpeklerde NAC verilmesi ile böbrek yetmezliği ve endotel disfonksiyonun azaldığı bildirilmişlerdir(79). Bu çalışmada NAC'ın bu etkilerinin nitrik oksit sentez inhibitörü L-NAME (N^G -nitro-L-arginine methyl ester) verilmesi ile engellenmesi olayın mekanizmasında nitrik oksit aracılığı ile vazodilatasyon olduğu görüşünü desteklemektedir.

Andrews ve arkadaşları 16 koroner anjiyografi yapılan hastada NAC verilmesi ile koroner ve periferik endotel bağımlı vazodilatasyona etkilerini irdemişlerdir. Bu çalışmada, NAC'ın koroner ve periferik vazodilatasyonu arttırdığını göstermişlerdir. NAC desteği ile nitrik

oksit etkinliğinin arttığının ve bununla vasküler tonusun regölasyonunda antioksidan durumun öneminin gösterdiğini vurgulamışlardır (87) .

Çalışmamızda NAC'ın bu olumlu etkilerini hangi mekanizmalarla gösterdiğini saptanamadı. Doku MDA düzeylerinin tüm gruplarda benzer olması ve tübüler hasarlanma skoru, serum kreatinin ve doku MDA düzeyi arasında korelasyon saptanmaması nedeniyle NAC'ın bu etkileri antioksidan özellikleri dolayısıyla yaptığını söyleyemeyiz. Ancak doku MDA düzeyinin yanında doku okside ve redükte glutathion düzeylerinin saptanması bu konuda daha sağlıklı bilgiler verebilirdi. Benzer şekilde bu çalışmada NAC'ın vazodilatatör etkileri konusunda bu çalışmada yorum yapmak mümkün değildir.

7) Sonuç

NAC kontrast madde ile birlikte verildiğinde, renal hasarlanmayı azaltır. Bununla beraber bu etkinin mekanizmaları konusunda bu çalışma veri sağlamamaktadır. Mekanizmanın aydınlatılabilmesi için yeni çalışmalara gereksinim vardır. Bu çalışmalar antioksidan savunma markerları ve vazodilatatör etkileri üzerine yoğunlaşabilir.

8) Türkçe Özet

Soz zamanlarda N-acetylcysteine(NAC) kontrast nefropati(KN) gelişimini engellediğine ilişkin yayınlar çıkmaktadır. Biz bu çalışmada NAC'ın kontrast maddeye bağlı renal fonksiyonel ve yapısal etkilerini araştırmayı amaçladık.

28 wistar rat 4 gruba randomize edildi. 1) Kontrol, 2) Kontrast, 3) Kontrast+NAC, 4) NAC. Serum ve 24 saatlik idrar örnekleri toplandıktan sonra tüm ratlar 24 saat boyunca susuz bırakıldı. Ardından kontrast medium (ioxaglate, 10 mL/kg) 2. ve 3. gruplara verildi. NAC (50 mg/kg) enteral yolla 3. ve 4. gruplara verildi. Kan ve idrar örnekleri toplandıktan sonra, 4 gün ratlar sakrifiye edildi. Kan ve idrar örneklerinde kreatinin çalışıldı, kreatinin klerensi hesaplandı. Bilateral nefrektomi yapıldı. Böbrek dokusunda malondialdehyde(MDA) düzeyi ölçüldü. H&E and PAS ile boyanmış preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Her bir tübül kesit alanı evre 1: fırçamsı kenar korunmuş, nekroz bulgusu yok, evre 2: Fırçamsı kenar kaybı mevcut, nekroz bulgusu yok ve evre 3: Fırçamsı kenar kaybı ve beraberinde nekroz bulgusu mevcut olarak sınıflandırıldı ve evrelerin dağılım yüzdesi hesaplandı. Bazal kreatinin ve kreatinin klerensi değerleri tüm gruplarda benzerdi. Serum kreatinin düzeyi ($0,6\pm0,1$ vs $0,7\pm0,2$; $p<0,05$) yalnızca kontrast grubunda istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdi. Doku MDA düzeyleri tüm gruplarda benzerdi. Kontrol grubu kontrast grubu ile karşılaştırıldığında; evre 2 ($13,8\pm1,5$ vs $42\pm1,4$; $p<0,05$) ve evre 3 (0% vs $40\pm2,1$; $p<0,05$) skorlar kontrast grubunda daha sıkı. Kontrast madde ile birlikte NAC verildiğinde ise evre 3 ($40\pm2,1$ vs $20,2\pm0,86$; $p<0,05$) skorların sıklığının yarıyarıya azaldığı, evre 1 lezyonların sıklığının ise ($16\pm1,5$ vs $37\pm1,5$; $p<0,05$) arttığı gözlemlendi. Sonuç olarak, NAC kontrast madde ile oluşan tübüler nekroz gelişimini azaltır.

9) İngilizce Özet, Summary

N-acetylcysteine(NAC)has yielded some promising results recently in the prevention of RCIN. In this study, we aimed to analyze the structural and functional effects of NAC in RCIN.

28 wistar rats were randomized into 4 groups. 1) Control, 2) Contrast, 3) Contrast+NAC, 4) NAC. All rats were deprived of water for 24 hours then contrast medium (ioxaglate, 10 mL/kg) were administered to 2nd and 3rd groups; NAC (50 mg/kg) was introduced enterally to 3rd and 4th groups. After 4 days rats were sacrificed. Creatinine clearance was calculated. In tissue samples, Malondialdehyde(MDA) was quantified. H&E and PAS stained slides were examined by light microscopy. Each tubular crossection from all images were scored; Grade 1: Preserved brush border without necrosis; Grade 2: loss of brush border without necrosis, grade 3: Loss of brush border and necrosis. Their frequencies were compared. Basal creatinine and creatinine clearance were similar in all groups. Serum creatinine presented statistically significant increase only in contrast group ($0,6\pm0,1$ vs $0,7\pm0,2$; $p<0,05$) although it was clinically nonsignificant. Tissue MDA levels were similar in all groups. When control and contrast groups were considered; Grade 2 ($13,8\%\pm1,5$ vs $42\%\pm1,4$; $p<0,05$) and Garde 3 (0% vs $40\%\pm2,1$; $p<0,05$) lesions were significantly more frequent in contrast group. With the administration of NAC in conjunction with contrast; the frequencies of Grade 3 ($40\%\pm2,1$ vs $20,2\%\pm0,86$; $p<0,05$) lesions were found to be decreased by half and that of Grade 1 ($16\%\pm1,5$ vs $37\%\pm1,5$; $p<0,05$) lesions were found to be increased. As a conclusion NAC attenuates development of tubular necrosis in kidney induced by contrast medium administration.

10) Kaynaklar

- 1) The Principles and Practice of Nephrology. Jacobson HR, Striker GE, Klahr S. Mosby, Year Book Inc Missouri 2nd edition 1995. Radiocontrast agent induced acute renal failure. Thompson JR, Henrich WL: 791-792.
- 2) Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB et al. Hospital acquired renal insufficiency. A prospective study. Am J Med 1983; 74:243-8.
- 3) Lautin EM, Freeman NJ, Schoenfeld AH et al. Radiocontrast associated renal dysfunction: Incidence and risk factors. AJR. 1991;157:49-58.
- 4) Tejler L, Almen T, Holtas S. Proteinuria following nephroangiography. Acta Radiol 1977; 18: 634-40.
- 5) Berns AS, Nephrotoxicity of contrast media. Kidney International 1989; 36:730-40.
- 6) Moore RD, Steinberg EP, Powe NR, Brinker JA, et al. Nephrotoxicity of high osmolality versus low osmolality contrast media: Randomized clinical trial. Radiology 1992; 182:649-55.
- 7) Mason RA, Arbeit LA, Giron F. Renal dysfunction after arteriography JAMA 1985;253(7):1001-4.
- 8) Rudnick MR, Berns JS, Cohen RM, Goldfarb S. Nephrotoxic risks of renal angiography: contrast media associated nephrotoxicity and atheroembolism. A critical review. Am J Kidney Dis. 1994;24:713-27.
- 9) Moore RD, Steinberg EP, Powe ER, White RI, Brinker JA, Fischman EK, Zinreich SJ, Smith CR. Frequency and determinants of adverse reactions induced by high-osmolality contrast media. Radiology 1989; 170: 727-32.
- 10) Parfrey PS, Griffiths SM, Barret BJ, et al. Contrast material induced renal failure in patients with diabetes mellitus, renal insufficiency or both: N Engl J Med 1989;320: 143-9.
- 11) Rudnick MR, Goldfarb S, Wexler L, et al. Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media: a randomized trial. Kidney Int 1995; 47:254-61.
- 12) Porter GA. Contrast associated nephropathy. Am J Cardiol 1989; 64:22E-26E.
- 13) I. Enge, J Edgren. Patient safety and adverse events in contrast medium examinations. 1989 Excerpta Medica, Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam, Netherlands: 121-130.
- 14) Caldicott W, Hollenberg NK, Abrams HL. Characteristics of response of renal vascular bed to contrast media. Invest Radiol 1970;;5:539-47.
- 15) Larson TS, Hudson K, Mertz JI, Romero JC et al. Renal vasoconstriction response to contrast media. The role of sodium balance and renin- angiotensin system. J Lab Clin Med 1983;101:385-91.

- 16) Heyman SN, Brezis M, Reubinoff et al. Acute renal failure with selective medullary injury in the rat. *J Clin Invest* 1988; 82:401-12.
- 17) Heyman SN, Brezis M, Epstein FH et al. Early renal medullary hypoxic injury from radiocontrast and indomethacin. *Kidney Int* 1991; 40:632-42.
- 18) Vari RC, Natarajan LA, Whitescarver SA, Jackson BA, Ott CE. Induction, prevention and mechanisms of contrast medium induced acute renal failure. *Kidney Int* 1988; 33: 699-707.
- 19) Weisberg, LS, Kurnik PB, Kurnik BRC. Radiocontrast induced nephropathy in humans: Role of renal vasoconstriction. *Kidney Int* 1992; 41: 1408-15.
- 20) Rudnick MR, Berns SJ, Cohen RM, Goldfarb S. Contrast media associated nephrotoxicity. *Current opinion in nephrology and hypertension* 1996; 5: 127-33.
- 21) Katzberg RW, Morris, TW, Burgener FA, Kamm D, Fischer HW. Renal renin and hemodynamic responses to selective renal artery catheterization and angiography. *Invest Radiol* 1977; 12:381-8.
- 22) Workman RJ, Shaff MI, Jackson RV, et al. Relationship of renal hemodynamics and functional changes following intravascular contrast to the renin -angiotensin system and renal prostacycline in the dog. *Invest Radiol* 1983; 18: 160-166.
- 23) Deray G, Martinez F, Cacoub P, Barmelou B, Jacobs C. A role for adenosine calcium and ischemia in contrast induced intrarenal vasoconstriction. *Am J Nephrol* 1990; 10:316-22.
- 24) Norby LH, Dibona GF. The renal vascular effects of meglumine diatrizoate. *J Pharmacol Exp Ther.* 1975; 193: 932-40.
- 25) Brezis M, Greenfeld Z, Shina A, Rosen S. Angiotensin II augments medullary hypoxia and predisposes to acute renal failure . *Eur J Clin Invest* 1990; 20: 199-207.
- 26) Russo D, Minutolo R, Cianciaruso B, et al. Early effects of contrast media on renal hemodynamics and tubular function in chronic renal failure . *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 1451-8.
- 27) Bakris GL, Burnett JC, . A role for calcium in radiocontrast induced reductions in renal hemodynamics. *Kidney Int* 1985; 27: 465-8.
- 28) Agmon Y, Peleg H, Greenfeld Z et al. Nitric oxide and prostanoids protect the renal outer medulla from radiocontrast toxicity in the rat. *J Clin Invest* 1994; 94: 1069-75.
- 29) Brezis M, Heyman SN, Dinour D et al. Role of nitric oxide in renal medullary oxygenation: studies in isolated and intact rat kidneys. *J Clin Invest* 1991; 88: 390-5.
- 30) Cantley LG, Spokes K, Clark B et al. Role of endothelin and prostoglandins in radiocontrast induced renal artery constriction. *Kidney Int* 1993; 44: 1217-23.
- 31) Katholi RE, Taylor GJ, McCann WP et al. Nephrotoxicity from contrast media: attenuation with theophylline. *Radiology* 1995; 195: 17-22.

- 32) Arend LI, Bakris GL, Burnett JC, Megerian C, Spielman WS. Role of intrarenal adenosine in the renal hemodynamic response to contrast media. *J Lab Clin Invest* 1987; 110: 406-11.
- 33) Okumuro M, Miura K, Yamashita Y, Yukimura T, Yamamoto K. Role of endothelium derived relaxing factor in vivo renal vascular action of adenosine in dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 1262-7.
- 34) Touati C, Idee JM, Deray G, et al. Modulation of renal effects of contrast media by endothelium-derived nitric oxide in the rat. *Invest Radiol* 1993; 28(9): 814-20.
- 35) Idee JM, Beaufrils H, Bonnemain B. Iodinated contrast media induced nephropathy: pathophysiology, clinical aspects, and prevention. *Fundam Clin Pharmacol* 1994; 8: 193-206.
- 36) Marguiles KB, Hildebrand FL, Heublein DM, Burnett JC. Radiocontrast increases plasma and urinary endothelin. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2: 1041-5.
- 37) Heyman SN, Clark BA, Kaiser N, Spokes K et al. Radiocontrast agents induce endothelin release in vivo and in vitro. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 58-65.
- 38) Oldyrod S, Slee SJ, Haylor J, Morcos SK, Wilson C. Role for endothelin in the renal response to radiocontrast media in the rat. *Clin Sci* 1994; 87: 427-34.
- 39) Battenfeld R, Khater AER, Drommer W, Guenzel P, Kaup FJ. Ioxaglate induced light and electron microscopic alterations in the renal proximal tubular epithelium of rats. *Invest Radiol* 1991; 26: 35-9.
- 40) Hunter JV, Kind PRN. Nonionic radiocontrast media: potential renal damage assessed with enzymuria. *Radiology* 1992; 183: 101-4.
- 41) Donadio C, Tramonti G, Auner I, et al. Nephrotoxicity and tubular effects of contrast media. *Contrib Nephrol* 1990; 83: 237-44.
- 42) Hartmann HG, Braedel HE, Jutzler GA. Detection of renal tubular lesions after abdominal aortography and selective renal arteriography by quantitative measurement of brush border enzymes in the urine. *Nephron* 1985; 39: 95-101.
- 43) Adelman RD, Conzelman G, Spangler W, Ishizaki G. Increased urinary enzyme activity: an early sign of gentamycin nephrotoxicity. *Clin Res* 1977; 25: 170.
- 44) Heyman SN, Rosen S, Brezis M. Radiocontrast nephropathy: a paradigm for the synergism between toxic and hypoxemic insults in the kidney. *Exp Nephrol* 1994; 2: 153-7.
- 45) Morcos SK, Thomsen HS, Webb JAW and members of Contrast Media Safety Committee of European Society of Urogenital Radiology (ESUR). Contrast medium induced nephrotoxicity: a consensus report. *Eur Radiol* 199; 9: 1602-1613.
- 46) Murphy SW, Barrett BJ, Parfrey PS. Contrast Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 177-182.

- 47) Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991 42(4):569-605.
- 48) Carrol E. Cross: Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107:526-45.
- 49) Hironen O.P, Huttunen J.K, Albanes D et al. The effect of vitamin E and beta carotene on incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med* 1994; 330:1029-35.
- 50) Gutteridge JMC, Halliwell B. The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990;15:129-35.
- 51) Stadtman ER. Covalent modification reactions are marking steps in protein turnover. *Biochemistry* 1990;29:6323-31.
- 52) Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Methods Enzymol* 1988; 186:421-31.
- 53) Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.* 1987 Dec;1(6):441-5.
- 54) Davis Conference Carroll E. Cross, B. Halliwell, E.T, et al. Harman. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987;107:526-45.
- 55) McCord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993;26:351-7.
- 56) Ichikiawa I, Kiyama S. Renal antioxidant enzymes: Their regulation and function. *Kidney Int* 1994;45:1-9.
- 57) Katzberg RW, Schulman LG, Meggs LG, et al. Mechanism of renal response to contrast medium in dogs: decrease in renal function due to hypertonicity. *Invest Radiol* 1983; 18: 80-4.
- 58) Freeman BA, Crapo JD. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 421-26.
- 59) Bakris GL, Lass N, Gaber AO; Jones JD, Burnett JC. Radiocontrast medium induced declines in renal function: a role for oxygen free radicals. *Am J Physiol* 1990; 258: F115-F120.
- 60) Paller MS. Hemoglobin and myoglobin induced acute renal failure in rats: Role of iron in nephrotoxicity. *Am J Physiol* 1988; 255: F539-F544.
- 61) Yoshioka T, Fogo A, Beckman JK. Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media induced renal injury in volume depletion. *Kidney Int* 1992; 41: 1008-15.
- 62) Parvez Z, Rahman MA, Moncada R. Contrast media induced lipid peroxidation in rat kidney. *Invest Radiol* 1989; 24: 697-702.
- 63) Hanns B, Valencia SH, Shah SV, Vari RC. The iron chelator deferoxamine prevents contrast media induced acute renal failure in the rabbit. *J Am Soc Nephrol* 1989; 1: 612.

- 64) Puyol R, Duque DI, Obregon I, et al. Reactive oxygen species contract isolated glomeruli and cultured mesangial rat cells. *Kidney Int* 1989; 35: 319.
- 65) Janzen EG. Spin trapping of oxygen radicals. *Methods Enzymol* 1982; 105: 188-203.
- 66) Kelly GS. Clinical applications of N-acetylcysteine. *Alternative Medicine Review* 1998;2(2):114-127.
- 67) Borgstrom L, Kagedal B, Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *Eur J Clin Pharmacol* 1986;31:217-222.
- 68) Bonanomi L, Gazzaniga A. Toxicological, pharmacokinetic and metabolic studies on acetylcysteine. *Eur J Respir Dis* 1980;61:45-51.
- 69) Olsson B, Johansson M, Gabrielsson J, Bolme P. Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *Eur J Clin Pharmacol* 1988;34:77-82.
- 70) Cotgreave IA, Berggren M, Jones TW, et al. Gastrointestinal metabolism of N-acetylcysteine in the rat, including an assay for sulfite in biological systems. *Biopharm Drug Dispos* 1987;8:377-386.
- 71) De Vries N, De Flora S. N-Acetyl-L-Cysteine. *J Cell Biochem* 1993;17F:S270-S277.
- 72) Jones AL, Haynes W, MacGilchrist AJ, Webb DJ, Hayes PC. N-acetylcysteine (NAC) is a potent peripheral vasodilator. *Gut* 1994;35:Suppl 5:S10-S10.
- 73) Zhang H, Spapen H, Nguyen DN, Rogiers P, Bakker J, Vincent JL. Effects of N-acetyl-L-cysteine on regional blood flow during endotoxic shock. *Eur Surg Res* 1995;27:292-300.
- 74) Lomaestro BM, Malone M. Glutathione in health and disease: Pharmacotherapeutic issues. *The Annals of Pharmacotherapy* 1995; 29: 1263-1273.
- 75) Corcoran GB, Wong BK. Role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by N-acetyl-L-cysteine in vivo: Studies with N-acetyl-D-cysteine in mice. *J Pharm Exp Ther* 1986;238:54-61.
- 76) Pratt S, Ioannides C. Mechanism of the protective action of N-acetylcysteine and methionine against paracetamol toxicity in the hamster. *Arch Toxicol* 1985;57:173-177.
- 77) Jones AL, Jarvie DR, Simpson D, et al. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine are altered in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:787-791.
- 78) Lieberthal W, Nigam SK. Acute renal failure. II Experimental models of acute renal failure: imperfect but indispensable. *Am J Physiol* 2000; 278(1): F1-F12.
- 79) Salom MG, Ramirez P, Carbonell LF, Conesa EL et al. Protective effect of N-acetylcysteine on the renal failure induced by inferior vena cava occlusion. *Transplantation* 1998; 65(10): 1315-1321.

- 80) Tariq M, Morais C, Sobki S, Sulaiman MA, Khader AA: N-acetylcysteine attenuates cyclosporin induced nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 923-929.
- 81) Holt S, Goodier D, Marley R, Patch D et al. *The Lancet* 1999; 353(23): 294-295.
- 82) Shaikh ZA, Zaman K, Tang W, Vu T. Treatment cadmium nephrotoxicity by N-acetylcysteine. *Toxicology Letters* 1999; 104: 137-142.
- 83) Conesa EL, Valero F, Nadal JC, Fenoy FJ, Lopez B, Arregui B, Salom MG. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001 Sep;281(3):R730-7.
- 84) Tepel M, Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention radiographic contrast agent induced reductions in renal function by N-acetylcysteine. *N Engl J Med* 2000; 343(3): 180-184.
- 85) Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. *Methods in Enzymol* 1990; 186: 421-31.
- 86) Sandoval LJ, Kosowsky BD, Losordo DW. Acetylcysteine to prevent angiography related renal tissue injury (The APART Trial). *Am J Cardiol* 89(1): 356-358.
- 87) Andrews NP, Prasad A, Quyyumi AA. N-acetylcysteine improves coronary and peripheral vascular function. *J Am Coll Cardiol* 2001 Jan;37(1):117-23.