

Sepsis oluşturulan sıçanlarda farklı konsantrasyonlarda verilen albuminin böbrek antioksidan ve serbest oksijen radikalleri üzerine etkisi

The effects of different concentrations of albumin on renal antioxidants and free oxygen radicals in rats with sepsis

Özlem KARA, Tümay UMUROGLU, Tolga GÜRSOY, Kemal Tolga SARAÇOĞLU, Fevzi Yılmaz GÖĞÜS

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı sepsis oluşturulan sıçanlarda antioksidan özellikler gösteren albuminin farklı konsantrasyonlarının böbrek antioksidan düzeyleri ve böbrek fonksiyonları üzerine etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 28 adet erişkin Sprague-Dawley sıçan 4 gruba ayrıldı. Birinci gruba (Grup K) herhangi bir ajan uygulanmadı. Diğer gruplarda intraabdominal sepsis oluşturuldu. İkinci gruba (Grup S) 90 dk süreyle 30 ml/kg serum fizyolojik infüzyonu, 3. gruba (Grup A5) 90 dk süreyle 15 ml/kg %5 albumin infüzyonu, 4. gruba (Grup A25) ise 45 dk süreyle 3 ml/kg %25 albumin infüzyonu uygulandı. 18. saatin sonunda tüm sıçanlara anestezi altında bilateral nefrektomi yapıldı. Kan üre nitrojeni, kreatinin ve albumin düzeylerini saptamak için böbrek venlerinden kan örnekleri alındı. Böbrek dokuları elektron mikroskobu altında diseksiyon edilerek serbest oksijen radikalleri ve antioksidan düzeylerinin ölçümü yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda serum fizyolojik uygulanan grupla karşılaştırıldığında her 2 konsantrasyonda albumin uygulanan sepsis sıçanlarda böbrek fonksiyonlarının daha iyi, glutatyon düzeylerinin daha yüksek, malondialdehit ve myeloperoksidaz düzeylerinin daha düşük olduğu saptandı. Ek olarak A25 grubunda kan üre nitrojeni ve böbrek glutatyon düzeyleri A5 grubuna göre belirgin yüksekti.

Sonuç: Böbrek dokusunda antioksidan etkilerini saptadığımız %25 albuminin hızlı infüzyonunun sepsis olgularında kullanımının böbrek disfonksiyonu gelişmesini önleme veya geciktirme açısından yüz güldürücü olabileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Sepsis, Albumin, Oksijen radikalleri, Antioksidan ajanlar

ABSTRACT

Objectives: The aim of this study is to investigate the effects of different concentrations of albumin, which has antioxidant characteristics on renal antioxidant levels and renal functions in rats with sepsis.

Materials and Methods: Twenty-eight adult male Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups. No agent was implemented to Group K. Group S received 30 ml/kg of saline infusion for 90 min, Group A5 received 15 ml/kg of 5% albumin infusion for 90 min and Group A25 received 3 ml/kg of 25% albumin infusion for 45 min. At the end of the 18th hour, bilateral nephrectomy was performed. Blood samples were taken to determine blood urea nitrogen, creatinine and albumin levels. Kidney tissue samples were dissected to measure the levels of free oxygen radicals and antioxidants.

Results: Better renal function, higher levels of glutathione and malondialdehyde with lower myeloperoxidase levels were obtained in septic rats following treatment with 2 different concentrations of albumin. In Group A25, blood urea nitrogen and renal glutathione levels were significantly higher than in Group A5.

Conclusion: We are of the opinion that the rapid infusion of 25% albumin may prevent or delay the occurrence of renal dysfunction in patients with sepsis.

Key words: Sepsis, Albumin, Oxygen radicals, Antioxidants

Özlem Kara, Tümay Umuroğlu, Tolga Gürsoy, Kemal Tolga Saraçoğlu (✉), Fevzi Yılmaz Göğüş

Anestezi ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Marmara Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Pendik, İstanbul, Türkiye
e-mail: tolga.saracoglu@marmara.edu.tr

Gönderilme/Submitted: 01.10.2013 Kabul/Accepted: 30.11.2013

Giriş

Günümüzde sepsis insidansı giderek artmakta ve mortalite oranı %30 ila %50 arasında değişmektedir [1]. Konağın enfeksiyona karşı gösterdiği kontrolsüz sistemik inflamatuvar yanıt olarak adlandırılan sepsis süregelen bir sendromdur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, sepsis sırasında oksidatif stresin olduğu saptanmıştır [2-4]. Sepsiste fazla miktarda üretilen serbest oksijen radikalleri endotel ve doku hasarına neden olmakta, bunun sonucunda membran lipid

peroksidasyonu ve DNA hasarı gelişerek birden fazla organ yetmezliği olur ve ölüm gelişebilmektedir [5]. Sepsiste prooksidan ve antioksidan dengesinin antioksidan lehine bozulmuş olması, araştırmacıları sepsis olgularında antioksidan ajanların denenmesi konusunda cesaretlendirmiştir [6,7]. İnsan vücudunda doğal olarak bulunan ve onkotik basıncın önemli bir bölümünü sağlayan albuminin de antioksidan özelliklerinin olduğu bilinmektedir [8,9]. Albumin demir iyonuna bağlanarak lipid peroksidasyonu gibi demir bağımlı oksidasyon olaylarını engeller [10]. In vivo çalışmalarda ve hücre kültürlerinde intraselüler ve doku glutatyon depolarını arttırdığı da gösterilmiştir [11]. Albumin reaktif oksijen türlerini tiol grubu sayesinde yok eder [12]. Sepsis sendromu olan hastalarda %20 albumin infüzyonunun plazma tiol konsantrasyonunu arttırdığı bildirilmiştir [13]. İlginç olarak yüksek konsantrasyonda ancak düşük volümde hızla infüze edilen albuminin akciğer dokusundaki antioksidan etkisinin düşük konsantrasyonda ancak geniş volümde yavaş infüzyonundan daha etkin olduğu saptanmıştır [14]. Bu durumda, albuminin antioksidan etkisini gösterebilmesi için bir eşik konsantrasyon değerine gereksinim duyduğu düşünülmektedir. Bu düşünceden hareketle çalışmamızda sepsis oluşturulan sıçanlarda farklı konsantrasyonlardaki albumin solüsyonlarının infüzyon hızlarının böbrek fonksiyonları, böbrek antioksidan ve serbest oksijen radikalleri düzeylerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Bu çalışmadaki hipotezimiz albumin konsantrasyonu arttıkça böbrek üzerine olan koruyucu etkilerin artabileceğidir.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanı Etik Kurulu (DHEK) onayı alınarak Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi hayvan laboratuvarından temin edilen 200-250 g ağırlığındaki sağlıklı Sprague-Dawley cinsi 28 sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Deney hayvanları çelik kafesler içinde barındırılarak herhangi bir vitamin ve besin kısıtlaması içermeyen yemle beslendi.

Çalışmada 21 adet sıçana 100 mg/kg dozda ketamin, 10 mg/kg xylazin ile birlikte intraperitoneal uygulandıktan sonra Wei ve ark. [15] tarafından tarif edilen intraabdominal sepsis modeli ile sepsis oluşturmak için %10 povidin iyoдин ile temizliği takiben orta hat kesisi ile batına girildi. Çekum eksplore edildi. 2/0 ipekle çekum bağlandıktan sonra 18 G iğneyle çekum 3 kez delinerek batına yerleştirildi. Orta hat 3/0 ipekle tam kat kapatıldı. Daha sonra sıçanlara intravenöz infüzyon uygulamak amacıyla sağ vena jugularis interna'dan 24 G anjiokater takıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı.

1. Grup: Kontrol grubu. Anestezi altında cerrahi işlem

uygulanmış ancak sepsis oluşturulmayan grup (n=7) (Grup K).

2. Grup: Anestezi altında sepsis oluşturulan ve 30 ml/kg/90dk dozda serum fizyolojik infüzyonu alan grup (n=7) (Grup S).

3. Grup: Anestezi altında sepsis oluşturulan ve 15 ml/kg/90dk dozda %5 albumin infüzyonu alan grup (n=7) (Grup A5).

4. Grup: Anestezi altında sepsis oluşturulan ve 3 ml/kg/45dk dozda %25 albumin infüzyonu alan grup (n=7) (Grup A25).

İşlem sonrasında sıçanlar anesteziden derlenme süresi boyunca gözlemlendi ve kafeslere konularak 18 saat boyunca gıda ve su alımları kısıtlanmadan gözlemlendi. 18. saatin sonunda kontrol grubu da dahil tüm sıçanlar intraperitoneal ketaminle uyutularak 2 böbrekleri de çıkartıldı ve kan üre nitrojeni, kreatinin ve albumin düzeylerini saptamak için böbrek venlerinden kan örnekleri alındı ve böbrek dokuları mikroskop altında diseke edildi. Sıçanlar işlem tamamlandıktan sonra yüksek doz intraperitoneal sodium tiopentalle öldürüldü. Diseke edilen böbrekler %0,9 luk serum fizyolojikle yıkandı.

Biyokimyasal parametreler

Malondialdehit ve Glutatyon

Lipid peroksidasyonun bir ürünü olan malondialdehit (MDA), ve glutatyon (GSH) düzeylerinin ölçümü için dokular 150 mM'luk soğuk KCl ile hemojenize edildi. GSH düzeyleri spektrofotometrik olarak Ellman's kimyasal maddesi kullanılarak belirlendi.

Myeloperoksidaz

Myeloperoksidaz (MPO) düzeyi ölçümü için doku örnekleri (0,2-0,3 g) hegzadesiltrimetil amonyum bromid (HETAB %0,5) içeren 10 cc'lik soğuk potasyum fosfat (K₂HPO₄) ile homojenize edildi. Bu dokular 12000 rpm 4 santigrad derecede 10 dk santrifüj edildi. Daha sonra %0,5'lik HETAB içeren K₂HPO₄ ve 10 mM lük eilendiaminotetraasetik asit (EDTA) ile tekrar homojenize edildi. MPO aktivitesi H₂O₂ bağımlı o-dianizidin 2 HCl oksidasyonu ölçülerek elde edildi [16,17].

İstatistiksel yöntemde alınan kan örneklerinden ve böbrek antioksidan düzeylerinden elde edilen verilerin değerlendirilmesinde gruplar arası farkı saptamak amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey Kramer çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \neq ss olarak belirlendi. P < 0,05 değeri istatistiksel farkı belirledi.

Bulgular

Vücut ağırlığı açısından gruplar arasında fark yoktu (p>0,05). Çalışmada elde edilen biyokimyasal parametreler

ve böbrek dokusu GSH düzeyleri Tablo I ve II’de gösterilmiştir.

Grup A25’in üre değerleri Grup S’ye göre belirgin düşüktü ($p<0,05$). Grup S’de üre değerlerinde artış olduğu halde anlamlı fark bulunmamaktaydı ($p>0,05$). Kreatinin değerleri açısından çalışma grupları arasında fark saptanmadı. Albumin düzeyleri, Grup A5 ve A25’de Grup S ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir yükseklik saptanmadı ($p=0,429$). Böbrek GSH düzeyleri, Grup A5 ve Grup A25’de, Grup K ve S’ye göre belirgin yüksekti ($p<0,01$). Grup A25’de ise Grup A5’e göre böbrek GSH düzeyleri belirgin yüksekti ($p<0,01$).

Böbrek dokusu MDH ve MPO düzeyleri Tablo III’de gösterilmiştir. Böbrek MDH düzeyleri tüm gruplarda Grup K’ya göre belirgin yüksekti ($p<0,01$), MPO düzeyleri de Grup K, A5 ve A25’de Grup S’ye göre belirgin düşüktü ($p<0,01$). Grup A5 ve Grup A25’deki MPO düzeyleri ile Grup K’daki düzeyler arasında istatistiksel fark saptanmadı.

Tartışma

Sepsis sırasında prooksidanlar lehine bozulmuş prooksidan-antioksidan etki dengesi sepsiste hastalarda antioksidan ajanların kullanımlarını gündeme getirmiştir [18]. Antioksidanlar ekstraselüler olarak toksik serbest oksijen türlerini temizleyerek ve intraselüler olarak da membrandaki lipid peroksidasyonunu engelleyerek koruma sağlarlar. Böylece endotoksinlerin ve inflamatuvar sitokinlerin sinyal iletimini modifiye veya bloke ederek inflamatuvar cevabın erken döneminde de etkili olabilirler [19].

Etkili bir intravasküler hacim genişletici olan albumin şok veya resüsitasyon sırasında tercih edilen bir ajandır. Son yıllarda albumin solusyonu antioksidan özelliklerinin ön plana çıkmasıyla yeniden popülerite kazanmıştır [20]. Akut akciğer hasarı modeli üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada albuminin antioksidan özelliğini gösterebilmesi için eşik bir konsantrasyon değerinin olduğu öne sürülmüştür [14]. Hipovolemik şok sonrası aynı miktarda ancak farklı sürede farklı konsantrasyonlarda infüze edilen insan albumini akciğer dokusunda farklı miktarlarda antioksidan madde oluşumuna neden olmuştur. Buna göre %25 albumin infüzyonu daha hafif şiddette akciğer hasarı oluşturmuştur. Sözü edilen bu çalışmada akut akciğer varlığında yüksek konsantrasyondaki albuminin akciğer dokusunda antioksidan etkisi olduğu kanıtlanmıştır.

Böbrekler hem intravasküler volüm değişiklikleri hem de endotel harabiyetine diğer organlardan daha hassas organlar olmaları nedeniyle sepsis sırasında olumsuz etkilenen organların başında gelirler [21]. Aynı zamanda infeksiyöz ajanlar lokal inflamatuvar medyatörler salarak, renal mikrosirkülasyonu değiştirerek ve/veya endothelial yapıyı hasarlayarak böbrek fonksiyonlarını bozarlar [22].

Tablo I: Serum üre, kreatinin ve albumin değerleri (ort±ss)

	Üre (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Albumin (g/dl)
Grup K (n=7)	37,14±2,61	0,5±0,9	3,52±0,12
Grup S (n=7)	74,0±39,4	1,88±0,5†	2,67±0,25¶
Grup A5 (n=7)	44,0±31,23	0,64±0,4†	3,01±0,12¶
Grup A25 (n=7)	22,0±11,9*	0,6±0,1†	3,08±0,2¶

* $p<0,05$, Grup S ile karşılaştırıldığında

† $p<0,05$, Grup K ile karşılaştırıldığında

¶ $p<0,05$, Grup K ile karşılaştırıldığında

Tablo II: Böbrek dokusu glutatyon düzeyleri ($\mu\text{mol/g}$) (ort±ss)

	Glutatyon
Grup K (n=7)	0,17±0,08
Grup S (n=7)	0,47±0,12
Grup A5 (n=7)	2,7±2,2*
Grup A25 (n=7)	4,7±0,5*¶

* $p<0,01$, Grup S ve Grup K ile karşılaştırıldığında

¶ $p<0,01$, Grup A5 ile karşılaştırıldığında

Tablo III: Böbrek dokusu lipid peroksidaz ve myeloperoksidaz düzeyleri (ort±ss)

	Malondialdehit	Myeloperoksidaz
Grup K (n=7)	5,4±3,7	0,9±0,5¶
Grup S (n=7)	16,8±3,8*	6,6±3,6
Grup A5 (n=7)	9,8±2,7*	2,3±1,3¶
Grup A25 (n=7)	9,8±4,2*	1,6±2,2¶

* $p<0,01$, Grup K ile karşılaştırıldığında

¶ $p<0,01$, Grup S ile karşılaştırıldığında

Serbest oksijen radikallerinin ortaya çıkmasının da böbrek hasarını çok hızlı arttırdığı gösterilmiştir [23]. Kritik hastalarda sepsise bağlı olarak gelişen akut böbrek yetmezliğinin mortalitesinin yüksek oluşu nedeniyle de sepsis sürecinde böbrek perfüzyonunu sağlamak ve bu organları hasarlanmaktan korumak gerekmektedir. Aynı miktarda ancak farklı konsantrasyonlardaki albumin solusyonlarının farklı sürelerde infüzyonlarının akciğer hasarını azaltıcı antioksidan etkilerinin farklı olarak saptandığı çalışmalardan hareket ederek çalışmamızda septik sıçanlarda, iki farklı konsantrasyondaki albuminin yavaş ve hızlı infüzyonunun, böbrek fonksiyonları, GSH, MDH ve MPO düzeyleri üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

Sıçanlarda sepsis tedavisinde denenen bazı antioksidan ajanların sepsisle tetiklenen renal vasküler rezistans artışını

baskıladığı ve serbest oksijen radikallerinin ortadan kaldırılması ve arasıdonik asit metabolizmasının bozulmasıyla böbrek kan akımını arttırdığı saptanmıştır [24]. Albuminin de antioksidan etkileri olan bir ajan olduğu bildirilmektedir. Ayrıca, böbrek perfüzyonunun düzeltici etkisi plazma onkotik basıncı arttırarak diürez sağlamasından kaynaklanır [25]. Antioksidan etkisi de sepsiste oluşan böbrek hasarının derecesini azaltabilir. Çalışmamız, literatürde albumin infüzyonunun böbrek fonksiyonları, böbrek serbest oksijen radikalleri ve antioksidan seviyeleri üzerindeki etkilerini araştıran tek çalışmadır.

MPO, nötrofil infiltrasyonunun MDA membran hasarı ilişkili lipid peroksidasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Lipid peroksidasyonu hücrel membran hasarı ile son organ hasarına sebep olur ve renal iskeminin bir göstergesidir. GSH indirgenmiş tiyol ajanlarından biridir ve membran lipid peroksidatlarını onarabilmektedir [26,27]. Çalışmamızda, serum fizyolojik uygulanan grupla karşılaştırıldığında her iki konsantrasyonda albumin uygulanan septik sıçanlarda böbrek fonksiyonlarının daha iyi, GSH düzeylerinin daha yüksek, MPO ve MDA düzeylerinin daha düşük olduğu saptandı. Ek olarak A25 grubunda kan üre ve böbrek GSH düzeyleri A5 grubuna göre belirgin yüksekti. Bu bulgulara göre aynı miktarlarda %25 albuminin hızlı infüzyonunun %5 albuminin yavaş infüzyonundan daha fazla böbrek koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır. %25 albuminin antioksidan özelliğinin %5 albumine göre daha kuvvetli olmasının hiperosmolar yapıda olmasından kaynaklanabileceği düşüncesi akla gelmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda antioksidan etkinin ajanın toplam dozundan çok konsantrasyonu ile ilişkili olduğu saptanmıştır [14]. Bir maddenin hiperosmolaritesinin antiinflamatuvar etki oluşturabilmesi için gerekli serum ozmolaritesinin 350 mOsm olduğu düşünülürse [28,29], aynı düzeyde serum ozmolaritesinin sağlanması, antioksidan etki için de geçerli olabilir. %25 albumin infüzyonuyla sağlanan serum ozmolaritesi 330-340 mOsm'dur [14]. Bu konsantrasyondaki albuminin hızlı infüzyonu serum ozmolaritesinin etkili bir şekilde ve kısa bir zamanda artmasını sağlıyor olabilir. Dolayısıyla %25 albuminin antioksidan etkisinin hiperosmolaritesinden ve hızlı infüzyonundan kaynaklandığını ifade etmek akılcı olabilir. Ancak osmolarite dışı faktörlerin de bu konuda etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Yayınlanan bazı derlemelerde kritik hastalarda albumin kullanımının mortaliteyi arttırdığı ifade edilse de bu konudaki tartışmalar halen sürmektedir [30]. Son yıllarda gerçekleştirilen randomize kontrollü çalışmalarda albumin infüzyonunun plazma onkotik basıncı arttırarak uzun süre hemodinamik stabilize oluşturduğu ve diürez sağlayarak kritik hasta grubunda olumlu etkileri olduğu, PaO₂/FiO₂

oranını arttırdığı, mekanik ventilasyon ve yoğun bakımda kalış sürelerini kısalttığı ön plana çıkmıştır [31].

Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri sıçanlarda böbrek fonksiyonunu ya da disfonksiyonunu belgeleyebilecek başka parametrelere ihtiyaç olmasıdır. Renal dokunun histopatolojik incelemesini de içeren ileri çalışmalara gereksinim olduğu kanısındayız.

Sonuç olarak, böbrek dokusunda antioksidan etkilerini saptadığımız %25 albuminin hızlı infüzyonunun sepsis olgularında kullanımının böbrek disfonksiyonu gelişmesini önleme veya geciktirme açısından yüz güldürücü olabileceği düşüncesine varılmıştır. Ancak, sepsis sürecinde albuminin böbrek fonksiyonları, serbest oksijen radikalleri ve antioksidan düzeyleri üzerindeki etkilerini araştırarak düzgün tasarlanmış, randomize insan çalışmalarına da gereksinim olduğu bir gerçektir.

Çıkar çatışması bildiri

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Kaynaklar

1. Chen YC, Chang SC, Pu C, Tang GJ. The impact of nationwide education program on clinical practice in sepsis care and mortality of severe sepsis: a population-based study in taiwan. PLoS One 2013;8:e77414. doi: 10.1371/journal.pone.0077414.
2. Trzeciak S, Cinel I, Phillip Dellinger R, et al. Resuscitating the microcirculation in sepsis: the central role of nitric oxide, emerging concepts for novel therapies, and challenges for clinical trials. Acad Emerg Med 2008;15:399-413. doi: 10.1111/j.1553-2712.2008.00109.x.
3. Bozza FA, D'Avila JC, Ritter C, Sonneviller R, Sharshar T, Dal-Pizzol F. Bioenergetics, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the pathophysiology of septic encephalopathy. Shock 2013;39:10-6. doi: 10.1097/SHK.0b013e31828fade1.
4. Wang Z, Holthoff JH, Seely KA, et al. Development of oxidative stress in the peritubular capillary microenvironment mediates sepsis-induced renal microcirculatory failure and acute kidney injury. Am J Pathol 2012;180:505-16. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.10.011.
5. Sakaguchi S, Furusawa S. Oxidative stress and septic shock: metabolic aspects of oxygen-derived free radicals generated in the liver during endotoxemia. FEMS Immunol Med Microbiol 2006;47:167-77.
6. Rocha M, Herance R, Rovira S, Hernández-Mijares A, Victor VM. Mitochondrial dysfunction and antioxidant therapy in sepsis. Infect Disord Drug Targets 2012;12:161-78.
7. Lowes DA, Webster NR, Murphy MP, Galley HF. Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis. Br J Anaesth 2013;110:472-80. doi: 10.1093/bja/aes577.
8. Rozga J, Piątek T, Małkowski P. Human albumin: old, new, and emerging applications. Ann Transplant 2013;18:205-17. doi: 10.12659/AOT.889188.
9. Anraku M, Chuang VT, Maruyama T, Otagiri M. Redox properties of serum albumin. Biochim Biophys Acta 2013;1830:5465-72. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.04.036.
10. Quinlan GJ, Martin GS, Evans TW. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. Hepatology 2005;41:1211-9.
11. Cantin AM, Paquette B, Richter M, Larivée P. Albumin-mediated regulation of cellular glutathione and nuclear factor kappa B activation. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:1539-46.

12. Garcovich M, Zocco MA, Gasbarrini A. Clinical use of albumin in hepatology. *Blood Transfus* 2009;7:268-77. doi: 10.2450/2008.0080-08.
13. Jacob M, Chappell D, Conzen P, Wilkes MM, Becker BF, Rehm M. Small-volume resuscitation with hyperoncotic albumin: a systematic review of randomized clinical trials. *Crit Care* 2008;12:R34. doi: 10.1186/cc6812.
14. Powers KA, Kapus A, Khadaroo RG, et al. Twenty-five percent albumin prevents lung injury following shock/resuscitation. *Crit Care Med* 2003;31:2355-63.
15. Wei CI, Gilliam MC, Cohen MD, Cornell JA, Moazam F. A preliminary study of age-related difference in resistance to sepsis in the rat model. *J Surg Res* 1987;43:460-7.
16. Saracoglu KT, Saracoglu A, Umuroglu T, Ugurlu MU, Deniz M, Gogus FY. The preventive effect of dopamine infusion in rats with abdominal compartment syndrome. *J Invest Surg* 2013;26:334-9.
17. Saracoglu A, Saracoglu KT, Deniz M, Ercan F, Yavuz Y, Göğüş FY. Dopamine – a preventive agent for mesenteric ischemia and reperfusion injury in abdominal compartment syndrome. *Adv Clin Exp Med* 2011;20:613-21.
18. Das UN. n-3 fatty acids, γ -linolenic acid, and antioxidants in sepsis. *Crit Care* 2013;17:312. [Epub ahead of print].
19. Victor VM, Rocha M, De la Fuente M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *Int Immunopharmacol* 2004;4:327-47.
20. Bae MJ, Ishii T, Minoda K, et al. Albumin stabilizes (-)-epigallocatechin gallate in human serum: binding capacity and antioxidant property. *Mol Nutr Food Res* 2009;53:709-15. doi: 10.1002/mnfr.200800274.
21. Schnell D, Camous L, Guyomarc'h S, et al. Renal perfusion assessment by renal Doppler during fluid challenge in sepsis. *Crit Care Med* 2013;41:1214-20. doi: 10.1097/CCM.0b013e31827c0a36.
22. Vanmassenhove J, Glorieux G, Hoste E, Dhondt A, Vanholder R, Van Biesen W. Urinary output and fractional excretion of sodium and urea as indicators of transient versus intrinsic acute kidney injury during early sepsis. *Crit Care* 2013; 13;17:R234. doi:10.1186/cc13057. [Epub ahead of print].
23. Wang Z, Holthoff JH, Seely KA, et al. Development of oxidative stress in the peritubular capillary microenvironment mediates sepsis-induced renal microcirculatory failure and acute kidney injury. *Am J Pathol* 2012;180:505-16. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.10.011.
24. Krysztolik RJ, Matheson PJ, Spain DA, Garrison RN, Wilson MA. Lazaroid and pentoxifylline suppress sepsis-induced increases in renal vascular resistance via altered arachidonic acid metabolism. *J Surg Res* 2000;93:75-81.
25. Phakdeekitcharoen B, Boonyawat K. The added-up albumin enhances the diuretic effect of furosemide in patients with hypoalbuminemic chronic kidney disease: a randomized controlled study. *BMC Nephrol* 2012;13:92. doi: 10.1186/1471-2369-13-92.
26. Sehirli O, Sener E, Cetinel S, et al. Alpha-lipoic acid protects against renal ischaemia-reperfusion injury in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35:249-55.
27. Sibilina V, Rindi G, Pagani F, et al. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology* 2003;144:353-9.
28. Gonzalez RJ, Moore EE, Ciesla DJ, Neto JR, Biffl WL, Silliman CC. Hyperosmolarity abrogates neutrophil cytotoxicity provoked by post-shock mesenteric lymph. *Shock* 2002;18:29-32.
29. Cuschieri J, Gourlay D, Garcia I, Jelacic S, Maier RV. Hypertonic preconditioning inhibits macrophage responsiveness to endotoxin. *J Immunol* 2002;168:1389-96.
30. Choi P. Review: albumin increases mortality in critically ill patients. *ACP J Club* 2002;137:51.
31. Martin GS, Moss M, Wheeler AP, Mealer M, Morris JA, Bernard GR. A randomized, controlled trial of furosemide with or without albumin in hypoproteinemic patients with acute lung injury. *Crit Care Med* 2005;33:1681-7.