

## **Sıçanlarda Böbrek İskemi/Reperfüzyon Hasarında N-Asetilsisteinin Etkileri**

Nurettin AYDOĞDU<sup>a1</sup>, Kadir KAYMAK<sup>1</sup>, Ömer YALÇIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı,

<sup>2</sup>Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

### **ÖZET**

**Amaç:** Serbest radikaller, böbrek iskemi/reperfüzyon hasarı gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde önemli rol oynarlar. Çalışmamızda, antioksidan ve glutatyonun öncüsü olan N-asetilsisteinin iskemi/reperfüzyonun böbreklerde oluşturduğu hasara karşı iyileştirici etkisinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve Yöntem:** 24 adet dişi Sprague Dawley sıçan, 1. grup kontrol grubu, 2. grup İ/R grubu, 3. grup İ/R+NAC grubu olmak üzere, eşit sayıda 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna intraperitoneal serum fizyolojik verildi. İ/R ve İ/R+NAC gruplarında, ksilazin-ketamin anestezisi altında her iki böbrek damarları klemp aracılığı ile kapatılarak, 60 dakika (dk) iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulandı. İskemiden 30 dk önce İ/R grubuna fizyolojik serum, İ/R+NAC grubuna 300 mg/kg N-asetilsistein intraperitoneal verildi. Kontrol grubunun fizyolojik serum enjeksiyonundan 24 saat sonra, İ/R ve İ/R+NAC gruplarının reperfüzyon döneminden sonra ksilazin-ketamin anestezisi altında kan örneği ve böbrek dokuları alındı. Böbrek dokusu süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri ile glutatyon ve malondialdehit düzeyleri; plazma üre, kreatinin, glutatyon ve malondialdehit düzeyleri belirlendi. Ayrıca böbrek dokusu histopatolojik olarak incelendi.

**Bulgular:** İskemi/reperfüzyon grubunda; üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı ( $p<0.001$ ), süperoksit dismutaz ( $p<0.01$ ), katalaz ve glutatyon peroksidaz ( $p<0.001$ ) aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. Hem böbreklerde hem de plazmada malondialdehit düzeyinin arttığı, glutatyon düzeyinin azaldığı, histopatolojik incelemede ise nekroz ve kast bulgularında artma izlenmiştir. N-asetilsistein uygulanan grupta, hem plazma hem de böbrek malondialdehit düzeyinde azalma ( $p<0.001$ ) ve glutatyon (plazma  $p<0.001$ ; böbrek  $p<0.01$ ) düzeyinde artış elde edilmiştir. Böbreklerin histopatolojik incelenmesinde nekroz ( $p<0.05$ ) ve kast ( $p<0.01$ ) bulgularında azalma tespit edilmiştir.

**Sonuç:** Böbrek İ/R hasarında oksidatif stresin önemli rol oynadığı ve bu hasara karşı N-asetilsistein verilmesinin koruyucu rol oynadığı görüldü. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Anahtar kelimeler:** İskemi/reperfüzyon, böbrek, serbest radikaller, N-asetilsistein

### **ABSTRACT**

#### **Effects of N-Acetylcysteine in Renal Ischemia/Reperfusion Injury in the Rats.**

**Objectives:** Free radicals have played an important role in the pathophysiology of several disease including renal ischemia/reperfusion injury. The aim of this study was to estimate any protective effects of N-acetylcysteine, an antioxidant and the precursor of glutathione synthesis on the tissue damage during ischemia/reperfusion injury of kidney.

**Materials and Methods:** Twenty four female Sprague Dawley rats divided into three groups: Group 1; was given saline intraperitoneally. Group 2; subjected to bilateral renal ischemia followed by reperfusion and saline injected ip 30 min before induction of ischemia. Group 3; is also subjected to bilateral renal ischemia followed by reperfusion and N-acetylcysteine (300 mg/kg) injected intraperitoneally 30 min before induction of ischemia. At the end of the reperfusion period, the rats were sacrificed. Kidney superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase activities, malondialdehyde and glutathione levels, plasma urea, creatinine, glutathione and malondialdehyde levels were determined. Kidney was also histopathologically examined.

**Results:** Ischemia/reperfusion application was increased urea and creatinin levels ( $p<0.001$ ), it decreased "superoxide dismutase ( $p<0.01$ ), catalase". Both plasma and kidney malondialdehyde levels were increased and glutathione levels were decreased. In this group, necrosis and cast formation were also increased. N-acetylcysteine application was decreased malondialdehyde levels in both plasma and kidney tissue ( $p<0.001$ ), and increased glutathione levels. Histopathological findings has shown a significant decrease in necrosis ( $p<0.05$ ) and cast formation ( $p<0.01$ ).

**Conclusion:** In the kidney ischemia/reperfusion injury, the oxidative stress may play an important role and application of N-acetylcysteine may improve tissue damage. ©2005, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi

**Key words:** Ischemia/reperfusion, kidney, free radicals, N-acetylcysteine

**B**öbrek iskemisi; böbrek transplantasyonu, kısmi nefrektomi, kardiyopulmoner bypass, sepsis, çeşitli ürolojik girişimler ve hidronefrozis gibi çeşitli klinik durumlarda görülür. İskemiden sonra gelişen akut böbrek yetmezliği, glomerüler filtrasyon hızında azalma, tübüler nekroz ve böbrek damarlarında direnç

artışıyla karakterizedir (1).

İskemi ve reperfüzyon sırasında; mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun değişmesi, ATP'nin azalması, hücre içi  $Ca^{+2}$  artışı ve hücre iskeleti ile membran fosfolipitlerinin bozulmasına öncülük eden proteaz ve fosfatazların aktive

<sup>a</sup> Yazışma Adresi: Dr. Nurettin Aydoğdu, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, EDİRNE

\* Bu çalışmanın bir bölümü 28. Ulusal Fizyoloji Kongresi'nde (İzmir, Eylül 2002) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Tel: 0 284 2357641

Fax: 0 284 2357652

e-mail: naydogdu@hotmail.com

olması sonucu aşırı miktarda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşarak, oksidatif strese neden olur (2-4). İskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarının fizyopatolojisinde, SOR'nin önemli bir rol oynadıkları bildirilmektedir (3, 4). Serbest radikaller nükleik asitler, serbest amino asitler, proteinler, lipitler, lipoproteinler, karbonhidratlar ve bağ dokusu makromolekülleri de dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki hemen hemen tüm biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunlar üzerinde geriye dönüşlü veya dönüşsüz etkiler meydana getirebilmektedirler (2-4). İskemi sırasında küçük oranda serbest radikal oluşmaktaysa da, reperfüzyon döneminde dokunun yeniden oksijenlenmesinin ardından çok daha büyük miktarda serbest radikal oluşmakta ve bunlar da lipit peroksidasyona yol açarak hasarı artırırlar (5).

Dokularda, oksidatif hasara karşı enzimatik ve non-enzimatik antioksidan mekanizmalar vardır. Antioksidan enzim sistemleri; iki süperoksit dismutaz (CuZnSOD ve MnSOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir (6). Non-enzimatik endojen antioksidanların en önemlilerinden biri glutatyon (GSH)'dur (7, 8). N-asetilsistein (NAC)'in serbest radikaller tarafından oluşturulan doku hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu ve bu etkisini GSH düzeyini artırarak, direkt "scavenger" olarak etki göstererek veya stabil nitrozotil türevleri oluşturarak gerçekleştirdiği bildirilmektedir (1, 9, 10). NAC'ın, böbrek İ/R hasarının da içinde olduğu birçok deneysel böbrek yetmezliği modeline karşı koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (1, 8, 9, 11-16).

Çalışmamızda güçlü bir antioksidan ve glutatyon sentezinin öncülü olarak rol oynayan NAC'ın böbrek İ/R hasarında böbrek fonksiyonları, antioksidan enzimler, glutatyon ve lipit peroksidasyon düzeyleri ile böbrekte histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerinin olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamızda Yerel Etik Kurulu onayı (2003/11) alındıktan sonra, ağırlıkları 210-260 gram, 24 adet dişi Sprague Dawley türü sıçan eşit sayıda 3 gruba ayrıldı. Kontrol grubundaki sıçanlar hariç diğer gruplardaki sıçanlar intramüsküler (im) 10 mg/kg ksilazin (Rompun, Bayer, Türkiye) ve 70 mg/kg ketamin (Ketalar, Eczacıbaşı, Türkiye) anestezisi altında deney masasına alındı. Karın ön duvarı median hattın insizyonla açıldı. Her iki böbrek damarları kör diseksiyon ile

ayrıldı ve travmatik vasküler klemplere aracılığı ile kan akımı kesildi. 60 dk iskemi sonunda klempler çıkarılarak kan akımı sağlandı (klemplere alınıncaya kadar 2 dk süreyle böbreklerdeki renk değişimi gözlemlendi). İnsizyon kapatıldı ve %10 povidon iyodun ile dezenfeksiyon yapıldı. Batın açıldıktan sonra zorunlu kaybedilen sıvıyı yerine koymak amacıyla vücut ağırlığının % 5'i oranında steril serum fizyolojik (SF) verildi. Kontrol grubundaki sıçanlara SF, diğer gruplara iskemi yapılmadan 30 dk. önce; İ/R grubundaki sıçanlara SF, İ/R+NAC grubundaki sıçanlara 300 mg/kg dozunda NAC (Asist®, Bilim İlaç San.) i.p. verildi. Reperfüzyonun 24. saatinde sıçanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin anestezisi altında kan örneği ve böbrekleri alındı. Böbrek kapsülü sıyrıldıktan sonra bisturi yardımıyla longitudinal kesikle ikiye ayrıldı, bir parçası histopatolojik inceleme için % 10' luk formalin solüsyonuna konuldu ve diğer parçalar ile plazma örnekleri biyokimyasal analizler yapılmaya kadar -70 °C'de saklandı.

Plazma örneklerinde üre ve kreatinin ölçümleri otoanalizörde (MEGA 600, Merck, Almanya) Diasis (Almanya) marka kitlerle spektrofotometrik olarak saptandı. Böbrek dokusu MDA ve GSH için 0.15 M KCl solüsyonu; SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri için 50 mM fosfat tamponu (pH 7.4) ile % 10'luk (w:v) olacak şekilde hazırlandı. Böbrek dokusunda SOD (17), CAT (18), GPx (19) enzim aktiviteleri ve protein miktarı belirtilimi Lowry (20) metoduna göre yapıldı. Böbrek homojenatlarında ve plazma örneklerinde lipit peroksidasyonun son ürünü olan malondialdehit (MDA) düzeyleri thiobarbitürik asit kullanılarak Ohkawa ve ark. (21) tarif ettiği yöntemle ve glutatyon (22) düzeyleri Elman ayırıcı [5, 5-dithiobis-(2-nitrobenzoik acid)] kullanılarak ölçüldü. Histopatolojik incelemeler için doku örnekleri % 10'luk formalin ile tespit edilerek parafine gömüldü ve hazırlanan kesitler, Hematoksilen-Eozin (HE) boyası ile boyandı. Binoküler mikroskopta özel işaretli oküllerle nekroz ve kast bulguları açısından incelendi.

Verilerin istatistiksel analizleri, iki grup arasındaki farkın anlamlılık derecesi Mann Whitney U testi ile değerlendirildi ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar ort. ± SD olarak verildi.

## BULGULAR

Çalışma gruplarına ait plazma ve böbrek dokusunda saptanan parametreler Tablo 1'de gösterildi.

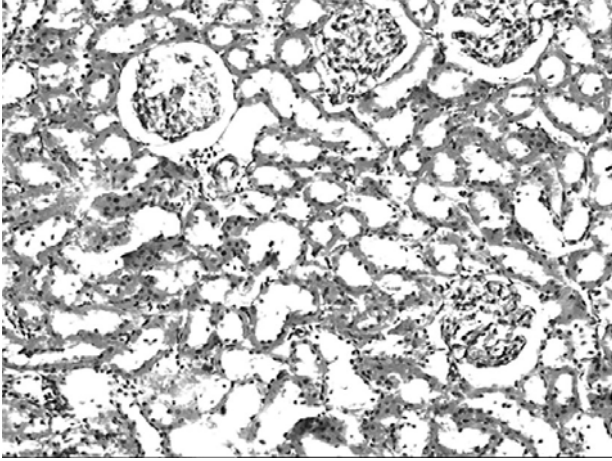
**Tablo 1.** Deneysel böbrek İ/R modelinde NAC uygulamasının plazma ve böbrek parametrelerine etkileri.

	Kontrol (n=8)	İ/R (n=8)	İ/R+NAC (n=8)
Plazma			
Üre (mg/dl)	41, 63 ± 10, 11	208, 88 ± 61, 36 <sup>b</sup>	142, 51 ± 31, 67
Kreatinin (mg/dl)	0, 53 ± 0, 20	1, 34 ± 0, 35 <sup>b</sup>	1, 09 ± 0, 36
MDA (nmol/ml)	2, 50 ± 0, 47	4, 70 ± 0, 73 <sup>b</sup>	2, 54 ± 0, 53 <sup>e</sup>
GSH (nmol/L)	169, 90 ± 13, 70	118, 10 ± 24, 59 <sup>b</sup>	187, 90 ± 25, 14 <sup>e</sup>
Böbrek			
SOD (U/mg prot)	7, 36 ± 0, 74	5, 21 ± 1, 00 <sup>a</sup>	5, 96 ± 0, 67
CAT (U/mg prot)	0, 20 ± 0, 04	0, 07 ± 0, 01 <sup>b</sup>	0, 07 ± 0, 01
GPx (U/mg prot)	0, 16 ± 0, 01	0, 12 ± 0, 02 <sup>b</sup>	0, 12 ± 0, 01
MDA (nmol/mg prot)	0, 87 ± 0, 06	1, 55 ± 0, 18 <sup>b</sup>	0, 94 ± 0, 10 <sup>e</sup>
GSH (µmol/mg prot)	0, 98 ± 0, 12	0, 52 ± 0, 13 <sup>b</sup>	0, 86 ± 0, 15 <sup>d</sup>

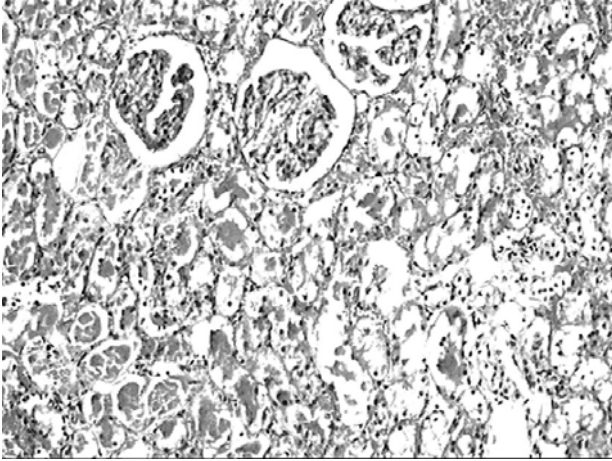
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Kontrol: İ/R yapılmayan grup; İ/R: iskemi/reperfüzyon grubu; İ/R+NAC: N-asetilsistein (300 mg/kg) uygulanan iskemi/reperfüzyon grubu. NO: Nitrik oksit; MDA: Malondialdehit; SOD: Süperoksit dismutaz, CAT: Katalaz; GPx: Glutatyon peroksidaz; GSH: glutatyon. Karşılaştırmalar: Kontrol ile İ/R; a: p<0.01, b: p<0.001, İ/R ile İ/R+NAC; d: p<0.01, e: p<0.001.

İ/R grubunda, kontrol grubuna göre plazma üre ve kreatinin düzeylerinin anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı (her ikisinde:  $p<0.001$ ).

Plazma ve böbrek MDA düzeylerinin arttığı (her ikisinde:  $p<0.001$ ), GSH düzeylerinin ise azaldığı görüldü (her ikisinde:  $p<0.001$ ). Böbrek SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinin (sırasıyla;  $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ) azaldığı görüldü. İ/R+NAC grubu, İ/R grubu ile karşılaştırıldığında üre ve kreatinin düzeyinde anlamlı olmayan bir azalma; plazma ve böbrek MDA düzeyinde anlamlı azalma (her ikisinde:  $p<0.001$ ), GSH düzeyi plazma ( $p<0.001$ ) ve böbreklerde ( $p<0.01$ ) anlamlı artma elde edildi. Antioksidan enzim aktivitelerinde ise anlamlı farklılık gözlenmedi.



**Şekil 1a.** Böbreklerin histolojik analizi. Tüm histolojik kesitler hematoxilen-eozin ile boyandı (HE x 100). Kontrol, İ/R yapılmayan grubun tübüllerinde nekroz ve tübül içlerinde hücre kastle (debris) önemsiz derecede izlendi.



**Şekil 1b.** Böbreklerin histolojik analizi. Tüm histolojik kesitler hematoxilen-eozin ile boyandı (HE x 100). İ/R: iskemi/reperfüzyon grubu; İ/R grubunda belirgin tübül hücre nekrozu ve tübül içi hücre kast birikimi dikkati çekti. Kontrol grubuna göre anlamlı artma (her ikisinde:  $p<0.001$ ) olduğu gözlemlendi.

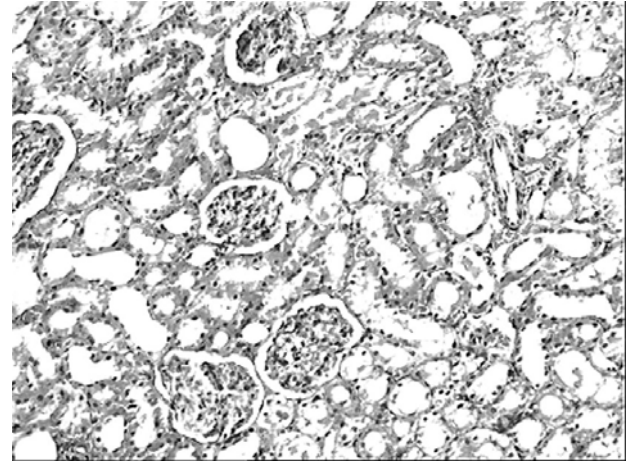
Çalışmamızda böbrek dokularının histopatolojik incelenmesinde; 100 alanda nekroz ve kast miktarı her bir sıçan için hesaplandı ve % nekroz ve % kast değerleri için her bir grubun ortalamaları hesaplanarak Tablo 2'de verildi. Kontrol grubundaki sıçanların HE boyalı böbrek kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; tübüllerde nekroz (ortalama %

1, 5) ve tübül içlerinde hücre kastle (debris) (ortalama % 2, 5) önemsiz derecede izlendi (Şekil 1A). İ/R grubunda belirgin tübül hücre nekrozu (ortalama % 9, 62) ve tübül içi hücre kast birikimi (ortalama % 21, 12) dikkati çekti, kontrol grubuna göre anlamlı artma (her ikisinde:  $p<0.001$ ) olduğu gözlemlendi (Şekil 1B). İ/R + NAC grubunda, İ/R grubuna göre, tübül hücrelerde nekrozun (ortalama % 4, 25) azaldığı ( $p<0.01$ ) ve tübül içi kast birikiminde (ortalama % 10, 37) ise anlamlı bir azalma ( $p<0.05$ ) olduğu görüldü (Şekil 1C).

**Tablo 2.** Deneysel böbrek İ/R modelinde NAC uygulamasının böbrek nekroz ve kast bulgularına etkileri.

	Kontrol (n=8)	İ/R (n=8)	İ/R+NAC (n=8)
Nekroz (%)	1, 50 ± 0, 75	9, 62 ± 3, 66 <sup>a</sup>	4, 25 ± 1, 75 <sup>c</sup>
Kast (%)	2, 50 ± 1, 09	21, 12 ± 8, 37 <sup>a</sup>	10, 37 ± 6, 11 <sup>b</sup>

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verildi. Kontrol: İ/R yapılmayan grup; İ/R: iskemi/reperfüzyon grubu; İ/R+NAC: N-asetilsistein (300 mg/kg) uygulanan iskemi/reperfüzyon grubu. Karşılaştırmalar: Kontrol ile İ/R; a:  $p<0.001$ , İ/R ile İ/R+NAC; b:  $p<0.05$ , c:  $p<0.01$ .



**Şekil 1c.** Böbreklerin histolojik analizi. Tüm histolojik kesitler hematoxilen-eozin ile boyandı (HE x 100). İ/R+NAC: N-asetilsistein (300 mg/kg) uygulanan iskemi/reperfüzyon grubu; tübül hücrelerde nekroz İ/R grubuna göre  $p<0.01$  düzeyinde azaldığı ve tübül içi kast birikiminin ise  $p<0.05$  düzeyinde anlamlı bir düşüş olduğu görüldü.

## TARTIŞMA

Böbrek kan akımındaki azalma veya kesilme ve sonradan oluşan reperfüzyon ile birlikte çeşitli derecelerde doku hasarı oluşturmaktadır (3, 4). Böbrek İ/R hasarında, iskemi sonrası böbrek fonksiyon bozukluklarında SOR en önemli rolü oynamaktadır (3, 4). Ayrıca reperfüzyonu takiben SOR'da hızla yükselme olduğu ve bunun sonucu olarak lipid peroksidasyon düzeyinde artış olduğu bildirilmektedir (5, 23). Hücreler oksidatif hasarı önleyen ya da kısmen azaltan mekanizmalara sahiptir. Doku hasarının tetiklemesi ile gelişen biyokimyasal olaylarda antioksidan sistem yetersiz kalmaktadır. İskemik dokuda oksidanlara bağlı olarak iskemi süresince glutatyon miktarının azaldığı ve SOD, CAT ve GPx gibi enzimlerin inaktivasyonunun hızlandığı ve buna bağlı olarak hücrelerin reperfüzyon sırasında hızla oluşan oksijen radikallerinin etkisine daha duyarlı hale geldiği rapor

edilmektedir (3). İskemi/reperfüzyon hasarının geriye dönebilmesi, böbrek tübül hücrelerinin nefron boyunca hasarlı epitel hücrelerinin yerini alma ve yenilenme yeteneğine bağlıdır (3-5).

Çalışmamızda; 60 dk iskemi ve 24 saat reperfüzyon uygulayarak oluşturduğumuz modelde, İ/R grubunda; böbrek glomerüler fonksiyon bozukluğunun bir göstergesi olan plazma üre ve kreatinin seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığı, serbest radikallerin neden olduğu hasarın bir göstergesi olan lipit peroksidasyonun son ürünü MDA seviyesinin hem böbreklerde hem de plazmada anlamlı düzeyde arttığı, glutatyon düzeyinin ise azaldığı gözlemlendi. Böbrek antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı düzeyde azalma ve histopatolojik olarak nekroz ve kast bulgularında artma gözlemlendi. Dobashi ve ark. (6) sol böbrekte iskemi (30, 60, 90 dk) ve reperfüzyonu (2, 24, 72, 120 saat) farklı sürelerde yaptıkları çalışmada; 60 dk iskemi 24 saat reperfüzyon uyguladıkları grupta, SOD, CAT ve GPx aktivitelerinde anlamlı azalma ve lipit peroksidasyon düzeyinde artma olduğu bildirilmiştir. Ayrıca böbreklerde iskemi ve reperfüzyonun farklı sürelerinde yapıldığı çalışmalarda; glutatyon düzeyinin azaldığı, lipit peroksidasyon ve plazma üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Bulgularımız daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (1, 6, 9, 15, 16, 24).

NAC'ın farklı doz, verilme zamanı ve verilme sürelerinde; birçok deneysel böbrek yetmezliği modelinde koruyucu rol oynadığı bildirilmektedir (1, 8, 9, 11-16). Çalışmamızda NAC uygulamasının plazma üre ve kreatinin düzeylerinde anlamlı olmayan bir azalmaya ve böbrek antioksidan enzim aktivitelerinde anlamlı değişiklik olmamasına rağmen; plazma ve böbreklerde MDA düzeyinde de azalmaya yol açtığı saptandı. Ayrıca GSH düzeyinin ise arttığı ve histopatolojik olarak nekroz ve kast bulgularının azaldığı gözlemlendi. NAC verilerek farklı iskemi ve reperfüzyon süreleri uygulanan çalışmalarda (1, 8, 9, 15, 16, 25), SOD, CAT ve GPx enzim aktiviteleri üzerinde etkisinin daha önce incelenmediğini saptadık ve bilgilerimize göre ilk defa bu çalışmamızda böbrek İ/R hasarında NAC'ın antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri araştırıldı.

Glutatyon, oksidatif hasara karşı hücre savunmasında önemli role sahiptir. GSH'nin, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil ( $OH$ ), süperoksit ( $O_2^-$ ), alkoksil ( $RO$ ) radikalleri ile direkt olarak etkileşime girerek hücreyi serbest radikallere

karşı koruduğu bildirilmektedir (7). GSH redükte ve okside olmak üzere iki şekilde bulunur. GSH'nin redükte formu oksidatif hasara karşı korumada çok önemli rol oynar. Oksidan aracılı doku hasarı okside GSH (GSSG) miktarında artmayla sonuçlanabilir ve GSH/GSSG oranı değişebilir (7). Bazı deneysel böbrek yetmezliği modellerinde redükte GSH'nin azaldığı ve okside GSH'nin arttığı bildirilmektedir (26). Önceki çalışmalar iskemi sonrası reperfüzyon döneminde böbreklerde glutatyon düzeyinin azaldığı ve İ/R süresince bu azalmanın muhtemelen yoğun oksidatif stres yüzünden olduğu bildirilmektedir (27). Bu çalışmamızda İ/R grubundaki düşük GSH düzeyinin NAC uygulaması ile artması önceki çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (8, 9, 15). Direkt SOR süpürücü ve indirekt antioksidan olan GSH'nin düzeyinin artması reperfüzyon hasarına karşı koruyucu etkinin görülmesinde başrolü oynamış olabilir. Bulgularımızda NAC'ın MDA düzeyi üzerindeki azaltıcı etkisi daha önce yapılan çalışmaların sonuçları ile uyumludur (9, 14, 28). NAC'ın bu etkisinin, SOR'a karşı direkt süpürücü etkisine ve bir sülfidril grubu kaynağı olmasına bağlı olabilir (28).

Çalışmamızda histopatolojik olarak İ/R grubunda artan nekroz ve tübül içi kast birikiminin NAC uygulaması ile azaldığı görüldü. Bu bulgularımız daha önce deneysel böbrek yetmezliği modellerinde görülen, NAC'ın iyileştirici etkisiyle benzerlik göstermektedir (8, 11, 14, 16).

N-asetilsisteinin antioksidan enzim aktiviteleri üzerinde etkisinin olmaması yarı ömrünün kısa olmasına veya çalışmamızda reperfüzyon süresinin uzun olmasına bağlı olabilir (10). Bu nedenle; farklı iskemi ve reperfüzyon sürelerinde NAC'ın dozu, verilme zamanı ve verilme sürelerinde yapılacak düzenlemeler ile daha kapsamlı çalışmalar yapılarak, antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkisinin ayrıntılı olarak araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Uyguladığımız deney prosedüründe NAC'ın lipit peroksidasyonunun bir indikatörü olan MDA düzeyini ve böbrek doku hasarını azaltması, GSH düzeyini arttırması bu modelde NAC'nin yararlı etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; böbrek İ/R hasarında oksidatif stresin önemli rol oynadığı ve buna karşı NAC uygulamasının bu hasara karşı yararlı olabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Conesa LE, Valero F, Nadal JC ve ark.. N-acetyl-L-cysteine improves renal medullary hypoperfusion in acute renal failure. *Am J Physiol* 2001; 281: R730-R737.
2. Laurent B, Ardaillou R. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *Am J Physiol* 1986; 251: F765-F776.
3. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 655-678.
4. Paller MS, Hoidal JR, Ferris TF. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1984; 74: 1156-1164.
5. Paller MS. The cell biology of reperfusion injury in the kidney. *J Invest Med* 1994; 42: 632-639.
6. Dobashi K, Ghosh B, Orak JK, Singh I, Singh AK. Kidney ischemia-reperfusion: Modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000; 205: 1-11.
7. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 711-760.
8. Slusser SO, Grotyohann LW, Martin LF, Scaduto RC. Glutathione catabolism by the ischemic rat kidney. *Am J Physiol* 1990; 258(6): F1546-F1553.
9. Sehirli AO, Sener G, Satiroglu H, Ayanoglu-Dulger G. Protective effect of N-acetylcysteine on renal ischemia/reperfusion injury in the rat. *J Nephrol* 2003; 16(1): 75-80.
10. Abbasođlu SD, Balkan J, Kanbağlı Ö ve ark.. Aminoguanidin ve N-asetilsisteinin endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer hasarı, oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2004; 5(1): 27-32.
11. Tariq M, Morais C, Sobki S ve ark.. N-acetylcysteine attenuates cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 923-929.
12. Ishizuka S, Nagashima Y, Numata M ve ark.. Regulation and immunohistochemical analysis of stress protein heme oxygenase-

- 1 in rat kidney with myoglobinuric acute renal failure. *Bioc Biop Res Com*1997; 240: 93-98.
13. Shaikh ZA, Zaman K, Tang W, Vu T. Treatment of chronic cadmium nephrotoxicity by N-acetylcysteine. *Toxicology Lett* 1999; 104: 137-142.
  14. Erdem A, Gündođan GÜ, Usubüttin A ve ark. The antioxidant action of N-acetylcysteine on gentamicin-induced acute tubuler necrosis in rats. *Gazi Medical Journal* 1999; 10: 21-28.
  15. Pincemail J, Defraigne JO, Detry O ve ark.. Ischemia-reperfusion injury of rabbit kidney: comparative effects of desferrioxamine and N-acetylcysteine as antioxidants. *Transplant Proc* 2000; 32: 475-476.
  16. Dimari J, Megyesi J, Udvarhelyi N ve ark.. N-acetyl cysteine ameliorates ischemic renal failure. *Am J Physiol* 1997; 272:F292-98.
  17. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
  18. Aebi H. Catalase invitro assay methods. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126.
  19. Lawrance RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Com* 1976; 71: 952-958.
  20. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RI. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
  21. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbutiric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358.
  22. Elman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82: 70-77.
  23. Weinberg JM, Nissim I, Roeser NF ve ark.. Relationships between intracellular amino acid levels and protection against injury to isolated proximal tubules. *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol* 1991; 260: F410-F419.
  24. Scaduto RC, Martin VH. Elevation of renal glutathione enhances ischemic injury. *Renal Physiol Biochem* 1991; 14: 59-70.
  25. Erbas H, Aydogdu N, Kaymak K. Effects of N-acetylcysteine on arginase, ornithine and nitric oxide in renal ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Res* 2004; 50: 523-527.
  26. Mandel LJ, Schnellmann RG, William RJ. Intracellular glutathione in the protection from anoxic injury in renal proximal tubules. *J Clin Invest* 1989; 85: 316-324.
  27. Paller MS. Renal work, glutathione and susceptibility to free radical-mediated postischemic injury. *Kidney Int* 1988; 33: 843-849.
  28. Cuzzocrea S, Mazzon E, Costantino G ve ark.. Effects of N-acetylcysteine in a rat model of ischemia and reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 537-548.

*Kabul Tarihi: 13.10.2005*