

Deneyisel Sepsis Modelinde Glutatyon, Myeloperoksidaz, Plazma ve Doku Mda Düzeylerine N-Asetilsistein ve Erdosteine'in Etkilerinin Karşılaştırılması

Comparison of the Effects of Erdosteine and N-Acetylcysteine on the Levels of Glutathione, Myeloperoxidase (mpo), Plasma and Tissue Mda in Experimental Sepsis Model

¹Murat AYAN, ¹Mehmet GÜL, ²Ramazan KÖYLÜ
¹Abdüsselam SEYDANOĞLU, ³Sami ERDEM, ³Öznur KÖYLÜ, ¹Başar CANDER

¹Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Acil Tıp Kliniği

²Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Acil Tıp Kliniği

³Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Biyokimya, KONYA

SUMMARY

Objectives: To determine the effects of NAC and erdosteine as antioxidant agents on the free oxygen radicals and on their plasma levels. The role of NAC and erdosteine on protecting the organ function failure and lung tissue damage due to sepsis was researched.

Methods: In this study, 40 Sprague-Dawley rats were used. Rats were randomized to four equal groups. Sepsis was performed by the method of Caecum Ligation Perforation (CLP) on rats. Four groups were performed as sham group, sepsis group, sepsis+NAC (20mg/kg/day) and sepsis + erdosteine (20mg/kg/day) NAC was given on 0. , 8. and 16.hours after CLP in NAC group. Erdosteine was given on 0. and 12.hours after CLP. Blood samples were taken after 24 hours to determine the leukocyte, erythrocyte GSH, leukocyte MPO and plasma MDA levels. In addition, lung tissue samples were taken for histopathological studies and to determine the level of tissue MDA.

Results: Comparing of groups on the level of leukocyte, leukocyte MPO and lung tissue MDA we determined statistically meaningful results in group 3 according to the group 2. But there were no meaningful differences on erythrocyte GSH and plasma MDA in group3 according to group 2(P>0.05). Comparing of groups on the level of erythrocyte GSH, leukocyte MPO plasma MDA and lung tissue MDA we determined statistically meaningful results in group 4 according to the group 2(P<0.05). But there were no meaningful differences on leukocyte in group 4 according to group 2(P>0.05).

Conclusion: In this experimental sepsis model; it was determined that low dose NAC and erdosteine as antioxidant agents have positive effects on erythrocyte GSH, leukocyte MPO, plasma and tissue MDA levels and the function of lung. Although the treatment with low dose NAC and erdosteine has decreased the abnormality of organ function due to sepsis we couldn't show it histopathologically. We need more experimental studies to determine the effects of NAC and erdosteine on sepsis therapy.

Keywords: Sepsis, Erdosteine, NAC, MPO, MDA, GSH

İletişim Adresi ve Sorumlu Yazar:

Uzm. Dr. Murat Ayan,

Acil tıp uzmanı

muratayan4275@hotmail.com

Başvuru Tarihi: 21.08.2008

Kabul Tarihi: 24.11.2008

ÖZET

Amaç: Deneyisel sepsis modelinde antioksidan bir ajan olan N-asetilsistein ve Erdosteine'in serbest oksijen radikalleri üzerine olan etkileri ve sepsisin neden olduğu organ fonksiyon bozuklukları ve akciğer doku hasarını önlemedeki rolü araştırıldı.

Metod: Çalışmada Sprague-Dawley cinsi 40 adet rat kullanıldı. Ratlar randomize 10'arlı gruplara ayrıldılar. Ratlarda çekum ligasyon perforasyon yöntemiyle sepsis oluşturuldu. Sham grubu (grup 1), sepsis grubu (grup 2), sepsis + N-asetilsistein (grup 3) ve sepsis + Erdosteine (grup 4) şeklinde 4 grup oluşturuldu. N-asetilsistein grubunda ilaçlar (20mg/kg/gün), çekum perforasyonundan sonra, 0. 8. ve 16. saatlerde verildi. Erdosteine grubunda ise ilaçlar(20mg/kg/gün) 0.ve 12. saatlerde verildi. 24. saatte lökosit, eritrosit glutatyon, lökosit myeloperoksidaz ve plazma malonildialdehit değerlerinin tayini için kan örnekleri ve doku incelemeleri için deneklerin ölümünü takiben akciğerden doku örnekleri alındı.

Bulgular: Gruplar karşılaştırıldığında grup 3'te grup 2'ye göre; lökosit, lökosit myeloperoksidaz ve akciğer doku malonildialdehit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken (P<0.05), eritrosit glutatyon, plazma malonildialdehit değerleri açısından anlamlı fark saptanmadı (P>0.05). Grup 4'te grup 2'ye göre eritrosit glutatyon, lökosit myeloperoksidaz, plazma malonildialdehit ve akciğer doku malonildialdehit değerleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı tespit edilirken (P<0.05), lökosit değerleri açısından anlamlı tespit edilmedi (P>0.05).

Sonuç: Deneyisel sepsis modelinde antioksidan bir ajan olan N-asetilsistein ve Erdosteine'in düşük doz uygulanmasında eritrosit glutatyon, lökosit myeloperoksidaz düzeylerine, akciğer fonksiyonlarına, plazma ve doku malonildialdehit seviyelerine olumlu etkileri mevcuttur. Düşük doz N-asetilsistein ve Erdosteine tedavisinin, sepsise bağlı organ fonksiyon anormalliklerini azaltmasına rağmen, bu etki histopatolojik olarak akciğer dokusuna yansımamıştır.

Anahtar kelimeler: Sepsis, Erdosteine, N-asetilsistein, myeloperoksidaz, malonildialdehit, glutatyon

GİRİŞ

Sepsis; şok, organ yetmezliği ve ölüme kadar giden, acil tedavi edilmesi gereken sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Sepsis insidansı hızla artmakta olup Amerika Birleşik Devletlerinde(ABD), 1979-2000 yılları arasında sepsis vakalarında %8.7 lik bir artış olmuştur⁽¹⁾. Sepsis, ABD'de yılda yaklaşık olarak 5-10 milyar dolarlık mali yüke neden olmaktadır⁽²⁾.

Septik cevapta fizyopatolojik olaylar oldukça karmaşık olmasına rağmen moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, sepsiste oluşan patolojik olayların bir çoğunun anlaşılmasını mümkün kılmıştır. Sepsiste ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri DNA'da hasara, hücrel proteinlerde denaturasyona ve membran lipitlerinde peroksidasyona yol açarak doku hasarına neden olur^(3,4). Yapılan çalışmalarda sepsiste ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin etkilerini nötralize etmek için uygulanan antioksidan ajanların kullanımın sağ kalımı uzattığı gösterilmiştir⁽⁵⁾.

N Asetil Sistein (NAC), potent antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği olan tiol bileşiğidir. Aynı zamanda iyi bilinen bir glutatyon(GSH) prekürsörüdür⁽⁶⁾. Erdosteine hem antiinflamatuvar etkisi hem de antioksidan etkisi olan mukolitik bir ilaçtır^(7,8). Çalışmamızda, deneyisel sepsis modeli oluşturarak sentetik bir antioksidan ajan olan NAC ile antioksidan özelliğine ilaveten antibakteriyel özelliği bulunan Erdosteine'i, doku hasarına sebep olan veya şiddetini arttıran mekanizmalara karşı antioksidan tedavinin etkinlikleri açısından karşılaştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyisel Protokol

Bu deneyisel çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneyisel Araştırma ve Uygulama Merkezinde etik kurulun onayı ile yapıldı. Çalışmada her iki cinsten ve ağırlıkları ortalama 180-200 gr. arasında değişen 40 adet Sprague-Dawley rat kullanıldı.

Ratlara subkutan (sc) olarak Ketamin HCl (50mg/kg) ve Xylasin HCL (15 mg/kg) ile genel anestezi uygulandı. Sepsis oluşturmak için çekal ligasyon ve perforasyon (ÇLP) modeli seçildi⁽⁹⁾. Laparotomi sonrası çekum izole edilerek, çıkan kolon sıvazlanarak, çekum gaita ile doldurulduktan sonra ileoçekal valvin altından 3/0 ipek ile bağlanıp, çekum ön yüzü 18 numara intraket iğnesi ile iki defa delindi. Batın iki tabaka halinde 3/0 ipekle devamlı sütürle kapatıldı.

Tüm ratlar operasyondan 24 saat sonra sakrifiye edildi. Hematokrit ve lökosit ölçümleri yapıldıktan sonra akciğere ait doku örnekleri alındı. Santrifüjden elde edilen eritrosit hemolizatından uygun kitlerle eritrosit GSH tayini yapıldı. Akciğer doku örnekleri alındıktan sonra manuel metod kullanılarak lökosit myeloperoksidaz (MPO), plazma ve doku malonildialdehit(MDA) düzeyleri tayini yapıldı. Akciğerden 1 gr. ağırlığında doku örnekleri alınıp histopatolojik tetkik için %10'luk formol çözeltisi içerisinde patoloji laboratuvarına gönderildi. Parafin bloklar hazırlanıp 5 mikron kalınlıkta kesitler alınarak Hemotoksilen-Eosin ile boyandı. Işık mikroskobu altında 40x10 büyütmede incelendi.

Antioksidan tedavi hedeflerine göre denekler 4 (n=10) gruba ayrıldı.

1. Grup (Sham grubu): Deneklere anestezi ve operatif işlem uygulandı, fakat ÇLP yapılmadı.

2. Grup (Sepsis grubu): ÇLP metoduyla sepsis oluşturuldu.

3. Grup (Oral Erdosteine grubu): ÇLP metoduyla sepsis oluşturuldu. Ratlara feeding tüp ile oral yoldan Erdosteine süspansiyon (20 mg/kg/gün) iki eşit dozda operasyondan sonra 0. ve 12. saatlerde verildi.

4. Grup (Oral N-asetil sistein grubu) ÇLP metoduyla sepsis oluşturuldu. Ratlara feeding tüp ile oral yoldan N-asetil sistein (20 mg/kg/gün) üç eşit dozda operasyondan sonra 0. ,8. ve 16. saatlerde verildi.

Elde edilen veriler gruplar arasında karşılaştırılarak istatistiksel anlamlılığı değerlendirildi. Sepsisin şiddetinden dolayı 20. saatte sadece bir rat öldü. Diğer gruplarda ise ölüm olmadı.

Biyokimyasal protokoller:

Çalışmamızda serum MDA ölçümü için spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem Drapper ve Hadley yönteminin bir modifikasyonudur⁽¹⁰⁾.

Doku MDA ölçümü

Ratlardan alınan ve -80°C'de saklanan akciğer parçaları çözündükten sonra manuel olarak çalışılmıştır.

Lökosit MPO Ölçümü

Kandaki kırmızı hücreler hipotonik bir çözelti ile hemolize olduktan sonra santrifüj edilerek lökositler ayrıştırıldı. Elde edilen lökositler 3 ml Na-K fosfat tamponu (pH 7.4) ile homojenize edilerek lökosit süspansiyonu oluşturuldu. Sonuçlar U x 106 olarak hesaplandı⁽¹¹⁾.

3. 2. 5. GSH Ölçümü

CAYMAN marka elisa kitiyle test prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar mikromolar (µM) cinsinden hesaplandı.

3. 3. Dokuların histopatolojik olarak değerlendirilmesi

Ratlardan alınan akciğer dokusu hazırlanan parafin bloklarından 5 mikron (µ) kalınlıkta kesitler alındı. Bu kesitler Hemotoksilen-Eosin ile boyandıktan sonra ışık mikroskobu altında 40'luk büyütmede incelendiler. İncelemeler patoloji uzmanı tarafından yapıldı. Patolojik bulgular, Mrozek (1997) tarafından tanımlandığı gibi semikantitatif olarak skorlandı 0; normal, +1; hafif, +2; orta, +3; ağır, +4; aşırı olarak yorumlandı⁽¹²⁾. **Akciğer dokusunun histopatolojik kesitlerinde;** Alveolar septal kalınlaşma, konjesyon, hemoraji, pulmoner infiltrasyon varlığı ve şiddeti değerlendirildi.

İstatistiksel analizler

Grupların ortalama ve standard sapma değerleri hesaplanarak tablolar halinde verildi. İstatistiksel analizler SPSS for Windows 13.0 programı yardımıyla yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü varyans incelemesi (ANOVA) ile yapıldı; Post Hoc Test olarak Tukey HSD testi kullanıldı. Akciğer dokusu histopatolojik skor verilerinin incelemesinde Chi-Square ve Kruskal-Wallis Testi kullanılarak anlamlı çıkanlara Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U Testi uygulandı. P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Biyokimyasal Bulgular

Gruplar lökosit değerleri açısından karşılaştırıldığında; grup 3'te grup 2'ye göre lökosit değerlerinde artma anlamlı bulundu ($P<0.05$). Grup 4'de grup 2'ye göre artma ise, anlamlı bulunmadı ($P>0.05$). Gruplar eritrosit GSH değerleri açısından kıyaslandığında; grup 4'te grup 2'ye göre artma istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($P<0.05$). Grup 3'de grup 2'ye göre artma anlamlı saptanmadı ($P>0.05$). Gruplar lökosit MPO değerleri açısından incelendiğinde; grup 3 ve grup 4'de grup 2'ye göre düşme istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi ($P<0.05$). Grup 3 ve grup 4'ün, grup 2'ye göre lökosit MPO değerini azaltma yönünden birbirine karşı üstünlükleri istatistiksel olarak tespit edilmedi ($P>0.05$). Gruplar plazma MDA değerleri açısından değerlendirildiğinde; Grup 4'te grup 2'ye göre azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($P<0.05$), grup 3'de grup 2'ye göre azalma anlamlı bulunmadı ($P>0.05$). Gruplar akciğer doku MDA değerleri açısından karşılaştırıldığında; Grup 3 ve grup 4'de grup 2'ye göre düşme istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P<0.05$). Buna karşın grup 3 ve grup 4'ün, grup 2'ye göre akciğer doku MDA düzeyini azaltma yönünden birbirine karşı üstünlükleri istatistiksel olarak tespit edilmedi ($P>0.05$) (Tablo 1).

Histopatolojik Bulgular

Gruplar akciğer dokusundaki PMNL artışı yönünden değerlendirildiğinde; Grup 4'te grup 2'ye göre azalma görüldü ($P<0.05$). Grup 3'de grup 2'ye göre azalma anlamlı bulunmadı

($P>0.05$). Gruplar akciğer dokusundaki alveolar septal kalınlaşma, konjesyon, hemoraji yönünden incelendiğinde; Grup 3 ve grup 4'de, grup 2'ye göre azalma anlamlı değildi ($P>0.05$) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Sepsis sürecindeki immün yanıt son derece karmaşık olduğu için, sağ kalımı arttırmada sadece antimikrobik tedavinin yeterli olması mümkün değildir. Özellikle sepsis fizyopatolojisinde mekanizmaların aydınlatılmasıyla olayda rol alan mediyatörler ve sitokinlerin etki mekanizmaları ve vücutta oluşturdıkları değişimler ile ilgili çalışmalar sürerken, günümüzde oksidan ajanların rolünün her geçen gün biraz daha anlaşılmasıyla, antioksidan ajanların sepsis tedavisinde yer alabileceği düşünülmektedir ⁽¹³⁾.

Çalışmamızda ratlarda deneyisel sepsis modeli oluşturup, NAC ile yeni bir antioksidan ajan olan Erdosteine'in sepsis üzerine etkilerini karşılaştırdık.

Son zamanlarda sepsis tedavisinde NAC'ın etkinliği ile ilgili bir çok deneyisel çalışma yapılmaktadır. Literatürde Erdosteine'in sepsis tedavisindeki etkinliği ile ilgili çalışmalar son derece kısıtlıdır.

Erdosteine lipid peroksidasyonunu direkt serbest radikal temizleyici özelliği ile azaltmaktadır. Bu durum lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesinin Erdosteine verilerek azaltılmasıyla gösterilmiştir ⁽¹⁴⁾.

Oreste ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, NAC verilen erken sepsisli hastalarda plazma MDA seviyesi NAC tedavisi almayan

Tablo 1. Deneklerin lökosit, eritrosit GSH, , lökosit MPO, plazma ve akciğer doku MDA ortalama ve standart sapma değerleri.

	Lökosit (mm ³)	ER. GSH (İM)	LÖK. MPO (U x 10 ⁶)	PL. MDA (nmol/ml)	AC. MDA (mol/gprotein)
Grup 1 (n=9)	8320 ± 1603	156.14±35.35	0.000094±0.000058	5.47±2.64	2.50±0.64
Grup 2 (n=9)	1777 ±1142 a	92.13±21.16 a	0.000166±0.000056 a	11.48±5.82 a	9.29±3.25 a
Grup 3 (n=9)	3720±1987 b	116.27±22.52	0.000140±0.000061 b	7.36±3.18	3.77±1.59 b
Grup 4 (n=9)	2860±1359	147.98±53.65 b	0,000115±0.000068 b	6.80±1.09 b	3.15±0.87 b

ER; eritrosit LOK; lökosit PL; plazma AC; akciğer
a: Grup 1 ile kıyaslandığında p>0,05 b: Grup 2 ile kıyaslandığında p<0,05

Tablo 2. Deneklerin Akciğer dokusundaki PMNLartışı, konjesyon, alveolar septal kalınlaşma ve hemoraji skorlaması.

PUAN	PMNL ARTIŞ	ALVEO.SEPT.KALINL.	KONJESYON	HEMORAJİ
Grup 1(n=10)	0.40±0.51	0.90±0.73	0.30±0.48	0.50±0.70
Grup 2(n=9)	2.78 ±0.66 a	2.89±1.05 a	2.22±0.66 a	2.44±1.13 a
Grup 3(n=10)	1.50±0.52	1.80±0.63	1.50±0.52	1.30±0.48
Grup 4(n=10)	1.60±0.516 b	1.77 ±1.01	1.36±0.87	1.40±0.51

PMNL. ARTIŞ ; Polimorf nüveli lökosit artışı ALVEO.SEPT.KALIN.; Alveolar septal kalınlaşma
a: Grup 1 ile kıyaslandığında p>0,05 b: Grup 2 ile kıyaslandığında p<0,05

gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulundu ⁽¹⁵⁾. Çalışmamızda, NAC grubu plazma MDA değerleri açısından sepsis grubuyla karşılaştırıldığında plazma MDA seviyesinde düşme NAC grubunda anlamlı bulundu. Buna karşılık Erdosteine tedavisinin plazma MDA değerleri sepsis grubuna göre daha fazla düşürmekle birlikte bunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptandı. Erdosteine'in plazma MDA üzerine etkisinin yetersiz bulunması verilen doz ve Erdosteine tedavisinin kısa olmasına bağlandı. Yüksek doz ve uzun süreli tedavinin uygulandığı kapsamlı ileri çalışmalarla daha iyi sonuçlar alınabileceğini düşünmekteyiz.

Özdülger ve ark. apoptotik akciğer hasarında NAC'ın koruyucu etkisini araştırdıkları, ÇLP yöntemiyle oluşturulan deneyisel sepsis modelinde, kronik NAC kullanımının akciğerde MPO aktivitesi ve lipit peroksidasyonunu azalttığı ve apoptozis azalmasını engellediği görüldü ⁽¹⁶⁾. Bleomisine bağlı akciğer fibrozisi üzerine NAC ve Erdosteine'in etkilerinin ratlarda karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise, NAC ve Erdosteinein akciğer dokusundaki MPO aktivitesi ile NO ve MDA seviyelerindeki artmayı ve glutatyon peroksidazdaki azalmayı engellediği görüldü ⁽¹⁷⁾.

Çalışmamızda, akciğer doku MDA düzeyleri incelendiğinde, NAC ve Erdosteine'in sepsis tedavisinde etkili olduğu sonucuna varıldı. Buna karşılık akciğer doku MDA düzeyleri açısından NAC ve Erdosteine grupları arasında tedavideki etkinlik açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı.

Vassilev ve ark. yaptıkları deneyisel çalışmada, insanlarda sepsis tablosuna benzeyen bir durum olan endotokseide NAC'ın sistemik, pulmoner, ve hepatosplanknik alanda gaz değişimi ve metabolizmaya etkilerini araştırdı. Çalışma sonucunda NAC tedavisinin GSH konsantrasyonunda artışa sebep olduğu bulundu ⁽¹⁸⁾.

Çalışmamızdaki veriler incelendiğinde; sadece sepsis grubunda oksidatif strese bağlı olarak eritrosit GSH değerinde azalma olduğu görüldü. NAC tedavisi uygulanan grupta eritrosit GSH değerlerindeki artma tedavinin etkili olması bakımından anlamlı bulundu. Buna karşılık Erdosteine tedavisinin eritrosit GSH değerlerini sepsis grubuna göre artırması istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Erdosteine tedavisinin eritrosit GSH değerlerini artırmada etkisinin beklenildiğinden az olması, sepsisin şiddetine ve Erdosteine dozunun yetersiz olmasına bağlandı. Erdosteine'in farklı dozlarda uygulanacağı yeni çalışmalarla desteklenmesi daha olumlu sonuçlar doğurabilir. Vit.E, NAC ve Erdosteine'in bir başka deneyisel çalışmada, Nikotine bağlı akciğer hasarında, her üç antioksidan ajanın da akciğerde MPO aktivite ve TNF- α 'nın artışını önemli olarak azalttıkları saptandı. Akciğer MPO aktivite ve lokal TNF- α seviyelerindeki artışlar üzerinde Erdosteine'in NAC veya Vit.E'den daha zayıf etkili olduğu bildirildi ⁽¹⁹⁾.

Çalışmamızda, hem NAC hem de Erdosteine tedavisinin lökosit MPO değerleri üzerine olumlu yönde etkili olduğu saptandı. Fakat bu iki antioksidan ilaç birbirleriyle etkinlik açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Boyacı ve ark. ratlarda Bleomisine bağlı akciğer fibrozisinde Erdosteine'in etkilerini araştırdıkları çalışmada, Erdosteine'in BAL sıvısında nötrofil içeriği ve total hücre sayısında artışları

önlediği bulundu. Ayrıca antioksidan özelliği ile nötrofil toplanmasını engellediği görüldü ⁽²⁰⁾.

Çalışmamız lökosit değerleri açısından değerlendirildiğinde; sepsis grubunda sepsisin kötü prognoz göstergesi olan lökopeni saptandı. NAC ve Erdosteine gruplarında ise lökopeni düzeylerinde düzelme başladığı saptandı ve lökosit değerleri sham grubuna yakın bulundu.

Son birkaç çalışmada hem Erdosteine hem NAC'ın akciğer içine nötrofil göçünü azalttığı rapor edildi. Böylece oksijen radikallerinin üretimi sınırlandırılmış olup, hücrelerin oksijen radikallerine karşı koruma sağladığı öne sürüldü ⁽²¹⁾. Çalışmamızda, grupların akciğer histopatolojik incelemelerinde NAC grubunda gözlenen PMNL infiltrasyon artışı sepsis grubuna göre belirgin olarak azalmış bulundu. Erdosteine grubunda PMNL infiltrasyon artışı sepsis grubuna göre belirgin olarak azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Ratlarda endotoksin verilmesiyle oluşturulan deneyisel sepsis modelinde, yüksek doz NAC verilen gruplarda alveolar ve interstisyel hemoraji ile ödem ve lökosit infiltrasyonu gibi histopatolojik bulguların gerilediği gözlemlendi ⁽²²⁾. Demiralay ve ark. endotoksine bağlı akciğer yaralanmasında apoptozis regülasyonu üzerine NAC ve Erdosteine'in etkilerini araştırdı. Çalışmada 10 mg/kg dozunda uygulanan Erdosteine'in LPS'e bağlı akciğer toksisitesine karşı koruyucu bir etkinliği olmadığı, buna karşın daha yüksek dozlarda etkinliğinin ortaya çıktığı görüldü. 300-500 mg/kg dozlarda akciğer epitelyal hücrelerde apoptozis oranlarındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Çalışma sonucunda Erdosteine'in akut letal akciğer yaralanmasında terapotik bir ajan olarak kullanılabileceği öne sürüldü ⁽²³⁾.

Çalışmamızda, akciğerdeki konjesyon, hemoraji ve septal kalınlaşma gibi histolojik parametrelerde hem NAC hem de Erdosteine tedavisi ile düzelme gösterdiği tespit edildi. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşmadı.

NAC ve Erdosteine tedavisinin, akciğerdeki konjesyon, hemoraji ve septal kalınlaşma gibi histopatolojik incelemelerine olumlu etkisinin olmaması, her iki ilacında 20 mg/kg/gün dozlarının düşük olmasından kaynaklandığı düşünüldü.

Çalışmamızda, NAC ve Erdosteine'in sepsis tedavisi için doz hesaplamaları her iki ilacın prospektüs bilgileri ve literatürde yapılan bazı çalışmalardaki kullanım dozları göz önüne alınarak yapıldı.

6. SONUÇ

Deneyisel sepsis modelinde antioksidan ajan olan NAC ve Erdosteinein 20 mg/kg/gün doz uygulanmasının serbest oksijen radikallerinin plazma ve doku düzeylerini azaltmada olumlu etkileri görüldü. Sadece serbest oksijen radikalleri üzerine etkileri hedeflendiğinde verilen doz yeterlidir ve daha yüksek dozlar verilmesi gereksizdir. NAC ve Erdosteinein sepsisin neden olduğu organ fonksiyon anormalliklerini düzeltmede, akciğer doku hasarını önlemede etkili olduğu fakat bu etkinin histopatolojik düzeylere yansımadağı tespit edildi. Bundan dolayı NAC ve Erdosteinein daha yüksek dozlarda uygulanması önerilebilir. NAC ve Erdosteine'in organ fonksiyon ve doku

hasarlarını önlemedeki etkinliğini belirlemek için, yüksek dozlarda yapılacak yeni çalışmalar olası olumlu etkilerini daha da belirgin hale getirecektir. Böylece sepsis tedavisinde NAC ve Erdosteine'in önemi, etkinliği ve etkin dozu değerlendirilecektir.

7.KISITLAYICI FAKTÖRLER

Deneyisel sepsis modellerinde NAC'ın etkinliğini araştıran birçok çalışma olmasına rağmen literatürde Erdosteine'in sepsis tedavisindeki etkinliği ile ilgili çalışmalar son derece kısıtlıdır. Erdosteine lipid peroksidasyonunu direkt serbest radikal temizleyici özelliği ile azaltmaktadır ve bu durum lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyesinin Erdosteine verilerek azaltılmasıyla gösterilmiştir. Erdosteine tedavisinin plazma MDA değerleri sepsis grubuna göre daha fazla düşürmekle birlikte bunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptandı. Erdosteine'in plazma MDA üzerine etkisinin yetersiz bulunması verilen doz ve Erdosteine tedavisinin kısa olmasına bağlandı.

Deneyisel çalışma modelimizin sadece 40 rat kullanılması ve verilen erdosteine dozunun düşük tutulması çalışmamız açısından kısıtlayıcı faktörler olarak dikkat çekmektedir. İleride bu alanda yapılabilecek daha fazla denek ve yüksek doz erdosteine tedavisi ile kombine edilecek NAC tedavisinin deneyisel sepsis modellerinde daha aydınlatıcı ve yol gösterici olacağı kanaatindeyiz

KAYNAKLAR

1. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, et al. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546-54.
2. Bone R.J. The sepsis syndrome. Definition and General Approach to Management. *Clinics in Chest Medicine* 1996;17(2):175-81.
3. Otero-Anton E, Gonzalez-Quintela A, Lopez-Soto A, et al. Cecal ligation and puncture as a model of sepsis in the rat: influence of the puncture size on mortality, bacteremia, endotoxemia and tumor necrosis factor alpha levels. *Eur Surg Res* 2001;33(2):77-9.
4. Bone RC. Gram-negative sepsis: Background, clinical features and intervention. *Chest* 1991;100(3):802-8.
5. Powell RJ, Machiedo GW, Rush BF Jr, Dikdan GS. Effect of oxygen-free radical scavengers on survival in sepsis. *Am Surg* 1991; 57(2): 86-8.
6. Cotgreave IA. N-Acetylcysteine: pharmacological considerations and experimental and clinical applications. *Adv Pharmacol.* 1997;38:205-27.
7. G. Titti, A. Lizzio, C. Temrini, P. Negri, S. Fazzio and C. Mancini. A controlled multicenter pediatric study in the treatment of acute respiratory tract diseases with the aid of a new specific compound, erdosteine. *Int.J.Cl. Pharmacol. and Therapeutics* 2000;38(8):402-7.
8. Braga PC, Dal Sasso M, Sala MT, Gianelle V. Effects of erdosteine and its metabolites on bacterial adhesiveness. *Arzneimittelforschung* 1999 ;49(4):344-50
9. Otero-Anton E, Gonzalez-Quintela A, Lopez-Soto A, et al. Cecal

- ligation and puncture as a model of sepsis in the rat: influence of the puncture size on mortality, bacteremia, endotoxemia and tumor necrosis factor alpha levels. *Eur Surg Res* 2001;33(2):77-9.
10. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431.
11. Golowich SP, Kaplan SD. *Methods in enzymology*, vol II. New York, Aca. Press Inc 1955:769.
12. Mrozek JD, Smith KM, Bing DR, Meyers PA, Simonton SC, et al. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1058-65.
13. Del Sorbo L, Zhang H. Is there a place for N-acetylcysteine in the treatment of septic shock? *Crit Care* 2004 ;8(2):93-5.
14. Nadiger HA, Mathew CA, Sadasivudu B. Serum malondialdehyde levels in cigarette smokers. *Atherosclerosis* 1987;64(1):71-3.
15. Oreste O, Anna C, Angelo Raffaele De G, et al. The effects of Glutathione and NAC on Lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161(6): 1907-1911.
16. Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, ve ark. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *Shock* 2003;19(4):366-72.
17. Yildirim Z, Kotuk M, Iraz M, ve ark. Attenuation of bleomycin-induced lung fibrosis by oral sulfhydryl containing antioxidants in rats: erdosteine and N-acetylcysteine. *Pulm Pharmacol Ther* 2005;18(5):367-73.
18. Vassilev D, Hauser B, Bracht H, et al. Systemic, pulmonary, and hepatosplanchnic effects of N-acetylcysteine during long-term porcine endotoxemia. *Crit Care Med* 2004;32(2):525-32.
19. Rezan D, Nesrin G, Havva E. The effects of erdosteine, N-acetylcysteine, and vitamin E on nicotine-induced apoptosis of pulmonary cells. *Toxicology* 2005 ;219:197-207.
20. Boyaci H, Maral H, Turan G, ve ark. Effects of erdosteine on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Mol Cell Biochem* 2006;281(1-2):129-37.
21. Jang YY, Song JH, Shin YK, Han ES, Lee CS. Depressant effects of ambroxol and erdosteine synthesis, granule enzyme release, and free radical production in rat alveolar macrophages activated by lipopolysaccharide. *Pharmacol Toxicol* 2003;92(4):173-9.
22. Ali O, İsmail C, Oguz K, ve ark. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model *Shock* 2003;19(4): 366-372.
23. Demiralay R, Gursan N, Ozbilim G, Erdogan G, Demirci E. Comparison of the effects of erdosteine and N-acetylcysteine on apoptosis regulation in endotoxin-induced acute lung injury. *J Appl Toxicol* 2006;26(4):301-8.