

**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ MERAM TIP FAKÜLTESİ**  
**ACİL TIP ANABİLİM DALI**

**DOÇ.DR. BAŞAR CANDER**  
**ANABİLİM DALI BAŞKANI**

**DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE GLUTATYON, MYELOPEROKSİDAZ,  
PLAZMA VE DOKU MDA DÜZEYLERİNE N-ASETİLSİSTEİN VE ERDOSTEİN'İN  
ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. MURAT AYAN**

**Tez Danışmanı**  
**YRD.DOÇ.DR. MEHMET GÜL**  
**KONYA-2006**

| <b>İÇİNDEKİLER</b>  | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| <b>İ. KISALTMALAR</b>                                     | <b>4</b>     |
| <b>İİ. TABLO ŞEKİL VE RESİMLER</b>                        | <b>5</b>     |
| <b>1. GİRİŞ</b>   | <b>6</b>     |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                                  | <b>8</b>     |
| <b>2. 1. Sepsis</b>                                       | <b>8</b>     |
| <b>2. 1. 1. Tanım</b>                                     | <b>8</b>     |
| <b>2. 1. 2. Epidemiyoloji</b>                             | <b>9</b>     |
| <b>2. 1. 3. Etyoloji</b>                                  | <b>9</b>     |
| <b>2. 1. 4. Fizyopatoloji</b>                             | <b>10</b>    |
| <b>2. 1. 5. Klinik</b>                                    | <b>12</b>    |
| <b>2. 1. 6. Prognoz</b>                                   | <b>13</b>    |
| <b>2. 1. 7. Tedavi</b>                                    | <b>14</b>    |
| <b>2. 2. NAC</b>  | <b>15</b>    |
| <b>2. 3. Erdosteın</b>                                    | <b>15</b>    |
| <b>2. 4. Serbest Oksijen Radikalleri</b>                  | <b>16</b>    |
| <b>2. 4. 1. Süperoksid Radikali</b>                       | <b>16</b>    |
| <b>2. 4. 2. Hidrojen Peroksit</b>                         | <b>16</b>    |
| <b>2. 4. 3. Hidroksil Radikali</b>                        | <b>16</b>    |
| <b>2. 4. 4. Singlet Oksijen</b>                           | <b>17</b>    |
| <b>2. 5. Serbest Radikal Kaynakları</b>                   | <b>17</b>    |
| <b>2. 5. 1. Biyolojik Kaynaklar</b>                       | <b>17</b>    |
| <b>2. 5. 2. İntrasellüler Kaynakları</b>                  | <b>17</b>    |
| <b>2. 6. Antimikrobiyal Aktivitede Serbest Radikaller</b> | <b>18</b>    |
| <b>2. 7. Serbest Radikallerin Etkileri</b>                | <b>18</b>    |
| <b>2. 7. 1. Membran Lipitlerine Etkileri</b>              | <b>18</b>    |
| <b>2. 7. 2. Proteinlere Etkileri</b>                      | <b>19</b>    |
| <b>2. 7. 3. Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri</b>        | <b>19</b>    |
| <b>2. 7. 4. Karbonhidratlara Etkileri</b>                 | <b>19</b>    |
| <b>2. 8. Antioksidan Savunma Sistemleri</b>               | <b>19</b>    |
| <b>2. 8. 1. Endojen Antioksidanlar</b>                    | <b>20</b>    |
| <b>2. 8. 1. 1. Enzimler</b>                               | <b>20</b>    |
| <b>2. 8. 1. 2. Enzim Olmayanlar</b>                       | <b>20</b>    |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>3. MATERYAL VE METOD</b>                                    | <b>22</b> |
| <b>3. 1. Deneysel Protokol</b>                                 | <b>22</b> |
| <b>3. 2. Biyokimyasal Protokoller</b>                          | <b>24</b> |
| <b>3.2.1. Serum MDA ölçümü</b>                                 | <b>24</b> |
| <b>3.2.2. Dokuları Homojenizasyonu</b>                         | <b>25</b> |
| <b>3. 2. 3. Doku MDA Ölçümü</b>                                | <b>25</b> |
| <b>3. 2. 4. Lökosit MPO Ölçümü</b>                             | <b>25</b> |
| <b>3. 2. 5. GSH Ölçümü</b>                                     | <b>26</b> |
| <b>3. 3. Dokuların Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi</b> | <b>26</b> |
| <b>3. 4. İstatistiksel Analizler</b>                           | <b>27</b> |
| <b>4. BULGULAR</b>   | <b>28</b> |
| <b>4. 1. Biyokimyasal Bulgular</b>                             | <b>28</b> |
| <b>4. 2. Histopatolojik Bulgular</b>                           | <b>30</b> |
| <b>5. TARTIŞMA</b>   | <b>32</b> |
| <b>6. SONUÇ</b>  | <b>39</b> |
| <b>7. ÖZET</b>   | <b>40</b> |
| <b>8. SUMMARY</b>  | <b>42</b> |
| <b>9. KAYNAKLAR</b>  | <b>44</b> |
| <b>10. TEŞEKKÜR</b>  | <b>50</b> |

**KISALTMALAR**

**SOD:** Süperoksit Dismutaz

**SOR:** Serbest oksijen radikalleri

**CVP:** Santral venöz basınç

**DIC:** Dissemine intravasküler koagülasyon

**GSH-Px:** Glutasyon Peroksidaz

**İP:** İntraperitoneal

**MDA:** Malondialdehid

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** Süperoksit

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen Peroksit

**NO:** Nitrik Oksit

**OH<sup>.</sup>:** Hidroksil radikali

**PAF:** Trombosit Aktivatör Faktör

**NAC:** N-Asetilsistein

**GM-CSF:** Granülosit-Monosit Koloni Stimule Eden Faktör

**EF:** Ejeksiyon Fraksiyonu

**ARDS:** Akut Respiratuvar Distres Sendromu

**PCWP:** Pulmoner Kapiller Wedge Basıncı

**ÇLP:** Çekal Ligasyon Perforasyon

**TCA:** Trikloroasetik Asit

**MPO:** Myeloperoksidaz

**PMNL:** Polimorf Nüveli Lökosit

**TNF:** Tümör Nekroz faktör

**GSH:** Glutasyon

**BUN:** Kan Üre Azotu

**LDH:** Laktik Dehidrogenaz

**CPK:** Kreatin Fosfokinaz

**GPT:** Alanin Transferaz

**GOT:** Aspartat Transferaz

**TBA:** Thiobarbütürik Asit

**BAL:** Bronko Alveolar Lavaj

**I/R:** İskemi Reperfüzyon

**İV:** İntra Venöz

**Cre:** Kreatin

**NADPH:** Nikotinamid dinükleotid fosfat hidrojen

**IL:** İnterlökin 1

**PCO<sub>2</sub>:** Parsiyel karbondioksit basıncı

**PO<sub>2</sub>:** Parsiyel oksijen basıncı

**SIRS:** Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu

**ACCP:** American College of Chest Physicans

**SCCM:** Society for Critical Care Medicine

## **İİ. TABLO ŞEKİL VE RESİMLER**

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

**Tablo 2:** Deneklerin akciğer dokusundaki PMNL artışı, alveolar septal kalınlaşma, konjesyon ve hemoraji skorlaması görülmektedir.

**Resim 1:** Deney sırasında deneklere uygulanan ÇLP modeli

**Resim 2:** Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Sham grubu)

**Resim 3:** Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Sepsis grubu)

**Resim 4:** Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun histopatolojik görünümü (Erdostein grubu)

**Resim 5:** Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun histopatolojik görünümü (NAC grubu)

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sepsis; şok, organ yetmezliği ve ölüme kadar giden, acil tedavi edilmesi gereken sistemik bir enfeksiyon hastalığıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) ölüm nedenleri arasında 13. sırada, koroner yoğun bakım ünitesi (YBÜ) dışındaki YBÜ'lerinde ise ikinci sırada yer almaktadır.

Sepsise neden olan faktörler çok sayıda mediyatörün salınımı ve etkileşimi yoluyla dinamik bir süreci başlatmakta, bu salınan mediyatörlerde serbest radikal oluşumunu tetiklemektedir. Vücutta oluşan serbest radikaller arasında Süperoksit ( $O_2^-$ ), Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ), Nitrik Oksit (NO) ve Hidroksil radikallerinin (OH) özel bir yeri vardır. Serbest radikallerin faydalı etkileri yanında zararlı etkileri de mevcuttur. Oluşan bu serbest radikaller oksidatif strese yol açmaktadır. Oksidatif stres endotoksik şok gibi birkaç hastalıkla birlikte yüksek ölüm oranlarına sebep olmaktadır. Organizma serbest radikallerin zararlı etkilerini en aza indirmek için antioksidan savunma sistemlerini kullanır. Katalaz, Glutasyon Redüktaz gibi enzimler antioksidan savunma sistemleri içinde yer alır.

Sepsis tedavisinde uygun antibiyoterapi ve kaynağın ortadan kaldırılması hayati önem taşırken, sepsis kaskadının değişik bileşenlerine karşı tedaviler, gerek klinik gerekse deneysel çalışmalarla incelenmektedir. Tavşan ve farelerdeki prelinik çalışmalarda; Trombosit aktivatör faktör (PAF) reseptör antagonistleri, NOS inhibitörlerinden N-metil-argininin (L-NAME), Pentoksifilin, monoklonal anti-TNF antikorlar ve TNF reseptör füzyon proteinleri gibi değişik ajanlar son çalışmalarda kullanılmaktadır.

Görüldüğü gibi, bilimsel çalışmalar bu kompleks yanıtın ayrıntılarını ortaya koymak ve yeni tedavi olanaklarını değerlendirmek için yoğun bir şekilde devam etmektedir. Sepsis sürecindeki immün yanıt son derece karmaşık olduğu için, sağkalımı arttırmada tek bir ajanın etkili olması mümkün görünmemektedir. Özellikle immün sisteme yönelik yeni tedaviler konusunda çalışmalar sürerken, erken tanı, enfeksiyon odağının erken tanınması, doğru ve zamanında antimikrobiyal tedavi, solunumsal ve dolaşım sal destek tedavinin erken dönemde ve doğru uygulanması gibi temel tedavi yöntemlerinin sağkalımda etkili başta gelen faktörler olduğu unutulmamalıdır.

Henüz deneysel aşamada devam eden ve klinik uygulamaya girmeyen antioksidan ajanların tedavideki başarısı kanıtlanabilirse, sepsiste mortalite ve maliyetin azalacağı tahmin edilebilir. Son zamanlarda yapılan bazı hayvan ve insan çalışmalarda doğal veya sentetik antioksidan ajanların sepsiste oluşan serbest oksijen radikallerin etkilerini en aza indirdiği gösterilmiştir.

Biz de bu çalışmada, deneysel sepsis modeli oluşturarak sentetik bir antioksidan ajan olan N-Asetil Sistein (NAC) ile antioksidan özelliğine ilaveten antibakteriyel özelliği bulunan Erdostein'i, doku hasarına sebep olan veya şiddetini arttıran mekanizmalara karşı antioksidan tedavinin etkinlikleri açısından karşılaştırdık

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. Sepsis

#### 2. 1. 1. Tanım

Sepsis için son yıllara dek tanımlamada karışıklık yaşanmıştır. American College of Chest Physicians (ACCP) ve Society for Critical Care Medicine (SCCM) bu karmaşayı önlemek için, 1991 yılında konferans düzenleyip yeni tanımlamalar ortaya koymuşlardır (1). Buna göre;

**SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome=Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu):** Sepsis veya sepsis sendromu gibi infeksiyöz olabilen durumlardan başka, pankreatit, yanık, iskemi ve doku zedelenmesi gibi infeksiyöz olmayan nedenleri de içine alan geniş kapsamlı bir klinik durumdur. Bu durumda aşağıdakilerden iki ya da daha fazlasının bulunması gerekir:

- Hipotermi veya hipertermi varlığı (Ateş  $> 38^{\circ}\text{C}$  veya  $< 36^{\circ}\text{C}$ ),
- Taşikardi ( KTA  $> 90/\text{dk.}$ ),
- Taşipne (Solunum sayısı  $> 20/\text{dk.}$  veya  $\text{PaCO}_2 < 32 \text{ mmHg}$ ),
- Lökosit Sayısı (  $> 12.000 / \text{mm}^3$  veya  $< 4.000/\text{mm}^3$  veya  $> \%10$  çomak),

İnfeksiyöz olmayan durumlar da söz konusu olduğu için kan kültürü pozitifliği şart değildir.

**Sepsis:** SIRS ile birlikte klinik olarak veya mikrobiyolojik olarak kanıtlanmış bir enfeksiyon tablosudur.

**Septik Sendrom-Ciddi Sepsis:** Sepsis varlığında bir organ sisteminin perfüzyon ve fonksiyon bozukluğunun olduğu klinik tablodur. Tanı için sepsisle birlikte aşağıdaki bulgulardan birinin mevcudiyeti yeterli olacaktır:

- Mental durumda değişiklik,
- Açıklanamayan hipoksemi ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 280$ ),
- Plazma laktat seviyesinde artış,
- İdrar çıkışında azalma ( $< 0.5 \text{ ml/kg/saat}$ ),
- Açıklanamayan koagülopati,
- Uygun sıvı tedavisine rağmen hipotansiyon (Sistolik kan basıncı  $< 90 \text{ mmHg}$  veya tansiyonda başlangıç değerine göre  $40 \text{ mmHg}$  düşüş görülmesi).

**Septik Şok:** Sepsis tablosunda uygun sıvı replasmanına rağmen hipotansiyon, organ disfonksiyonu ve perfüzyon bozukluğunun (laktik asidoz, oligüri, hipoksemi, bilinç değişikliklerinin) bulunması durumudur.

**MODS (Multiple Organ Dysfunction Syndrome=Çoğul Organ İşlev Bozukluğu Sendromu):** Sepsisin ileri dönemlerinde karşımıza çıkan ve mortalitesi çok yüksek olan MODS, normal organ fonksiyonlarının sürdürülmesine imkan vermeyecek şekilde hemodinamik bozuklukların ortaya çıkması durumudur.

**Refrakter Septik Şok:** Bir saatten daha uzun süren, sıvı tedavisi ve farmakolojik tedavilere (inotropik veya vazopressör ajanlara) yanıt vermeyen septik şok tablosudur.

### 2. 1. 2 Epidemiyoloji

ABD’de yapılan 22 yıllık bir çalışmada, 750 milyon hastada yaklaşık 10.319.418 sepsis vakası tespit edilmiştir. İnsidans 1979 yılında 100.000’de 82.7 iken 2000 yılında 240.4’e yükselmiştir. Böylece sepsis insidansında % 8.7’lik artış olmuştur (2). Ciddi sepsis, koroner YBÜ’si dışındaki YBÜ’lerinde ölüm nedenleri arasında ikinci sırada, ABD’de tüm ölüm nedenleri arasında ise 13. sırada yer almaktadır (3). ABD’de yılda yaklaşık 5-10 milyar dolarlık mali yüke neden olmaktadır (4). Ülkemizde sepsise ait ilgili genel bir insidans ve ölüm oranı ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır (5).

Toplumda ileri yaş grubunun artması, kronik hastalığı olan hastaların yaşam sürelerinin uzaması, immünoşüpresif ilaçların sık kullanılması, teşhis veya tedavi amacı ile invaziv girişimlerin yaygın kullanılması, sepsis gelişimine zemin hazırlayıcı faktörlerin başında gelmektedir. Yatak kapasitesi fazla olan, YBÜ’leri bulunan ve invaziv işlemlerin fazla yapıldığı hastanelerde nozokomiyal sepsis gittikçe daha sık görülmektedir (6,7).

### 2. 1. 3. Etyoloji

1960’larda ve 1970’lerin başında sepsis nedeni olarak Gram (-) bakteriler ağırlıktaydı. Bu seyir 1980’lerin ortalarına kadar devam etti. 1980’lerin ortasında Gram (+) sepsis sıklığı Gram (-) sepsisle yaklaşık olarak aynı oranda idi. Son yıllarda ise Gram (+) bakterilere bağlı sepsis insidansında artış gözlenmektedir. Bu artışın nedenleri olarak; 3. kuşak sefalosporinler ve kinolonlar gibi Gram (-) bakterilere etkili yeni antibiyotiklerin kullanımının artması, daha uzun süre yaşama imkanı sağlanan kanser, kollajen doku hastalığı gibi hastalıkları olan kişilerde uzun süreli kateter uygulanmasının artması, vücut içi protez kullanımının artması ve kronik ambulatuvar periton diyalizi gibi yöntemlerin geliştirilmesi sayılabilir (8,9).

Gram (+) sepsiste etken sıklıkla *S. aureus*, koagülaz negatif stafilokoklar, enterokoklar ve streptokoklar iken, Gram (-) sepsiste etken sıklıkla *E.coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*dır. Ciddi sepsis ve septik şok vakalarının %5’inde etken mantarlardır. Fungal sepsislerde genellikle kandida türleri etkindir. Bu kandida türleri ABD’de

nozokomiyal enfeksiyonlarda en sık görülen 4. patojendir ve tüm patojenler arasında %40 ile en yüksek mortaliteye sahiptir. Fungal sepsisin insidansı 1979-2000 yılları arasında 3 kat artış göstermiştir (9).

#### **2. 1. 4. Fizyopatoloji**

Sepsisin patogenezi oldukça karmaşık bir olaydır. Hastalığın ortaya çıkmasını, konağın immün sistemi ve bakteriyel virulans faktörleri belirler. Genellikle sepsise neden olan bakteriler dolaşıma damar dışı bir enfeksiyon odağından yayılım sonucu girerler. Sepsis bazen de damar içi kateter, septik tromboflebit, bakteriyel endarterit, endokardit, mikotik anevrizmalar ve damar greftlerinden kaynaklanabilir. Sepsis oluşumunda, savunma mekanizmaları ile bakteriyel virulans faktörleri arasındaki dengenin bozulması büyük rol oynar.

Savunma mekanizmaları; deri ve mukoza, fagositik hücreler, kompleman sistemi, immünglobulinler ile T lenfositler gibi geniş bir tabloyu kapsar. Virulans faktörleri ise mikroorganizmanın adherans özelliği, antifagositik yüzey, patojenin hücre içinde canlılığını koruma, enzim ve toksinler gibi özellikleri kapsar. Sepsis ve sepsise bağlı olarak gelişen klinik tabloların oluşmasında, bakteriyel invazyon ile beraber bakteriyel hücre yapısının ve toksinlerin de önemli rolü vardır. Bu yapılar sepsisteki fizyopatolojik değişikliklerden sorumlu endojen mediyatörlerin açığa çıkmasını sağlarlar (10). Sepsis gelişimindeki ilk basamak bir mikroorganizma tarafından hastanın enfekte olmasıdır. Yalnızca mikroorganizmaların kan dolaşımındaki varlığı sepsisi tetiklemek için yeterli değildir. Gerekli olan, potansiyel endojen mediyatörlerin aktivasyonu ile inflamatuvar yanıtın başlatılmasıdır. İnfeksiyon veya bakteriyemi varlığında vücudun ilk savunması fagositik hücreler (makrofajlar, monositler, PMN granülositler) ve kompleman yoluyla sağlanır. Bu spesifik olmayan bir yanıttır. Hemen ardından immünglobulinler ve immünkompetan hücreler spesifik bir immün yanıtı başlatırlar. Bu yanıtın en önemli aktivatörleri bakteri hücre duvarı bileşenleridir. Bunlar Gram (-) bakteriler için Endotoksinler (lipid A) ve Gram (+) bakteriler için teikoik asittir. Lipopolisakkarit yapısında yer alan lipid A yapısı, bütün Gram (-) bakterilerde ortak olup, endotoksemiden sorumludur (11,12).

Septik cevapta fizyopatolojik olaylar oldukça karmaşık olmasına rağmen moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, sepsiste oluşan patolojik olayların bir çoğunun anlaşılmasını mümkün kılmıştır. Serbest oksijen radikalleri (SOR) DNA'da hasara, hücre proteinlerinde denatürasyona ve membran lipidlerinde peroksidasyona yol açarak doku hasarına neden olur (13,14). Sepsiste araşidonik asit metabolitleri de önemli rol

oyunar. Siklooksijenaz yoluyla prostoglandinler ve tromboksan A<sub>2</sub>, lipooksijenaz yoluyla ise lökotrienler açığa çıkar. Endotoksinler, TNF- $\alpha$  ve IL-1 gibi mediyatörler, araşidonik asit metabolitlerinin açığa çıkmasını ve sentezini aktive eder. Tromboksan A<sub>2</sub> kuvvetli vazokonstriktördür. Prostoglandinler ise vazodilatör etkiye sahiptir. Araşidonik asit metabolitleri; ateş, taşikardi, takipne, ventilasyon-perfüzyon bozukluğu ve laktik asidoz oluşumunda rol alırlar. IL-1 ve IL-6, T hücrelerini aktive ederler. Gama interferon (IFN- $\gamma$ ), IL-2, IL-4 ve granülosit-monosit koloni stimule eden faktör (GM-CSF) oluşumu esnasında koagülasyon kaskadı ve kompleman sistemi de aktive olur İnfeksiyona sistemik cevap, salınan bu mediyatörler tarafından oluşturulur. Bu mediyatörlerin bir kısmı proenflamatuvar (TNF, İL-1, IL-8) bir kısmı ise antienflamatuvar (IL-4, İL-10) özelliğe sahiptir (14,15).

Endotoksin, etkisi en iyi bilinen bakteriyel antijendir. Endotoksin; mononükleer fagositleri, endotel hücrelerini ve diğer hücreleri aktive eder. Bununla beraber koagülasyon kaskadı ve kompleman sistemi de aktive olur. Sepsiste hedef organ damar endotelidir ve hemen bütün mediyatörler damarlar üzerine etkilidir. Endotoksin, TNF- $\alpha$ , IL-1, PAF, Lökotrienler, Tromboksan A<sub>2</sub> ve Nitrik Oksit (NO) endotel permeabilitesini artırır. Kompleman sisteminin aktivasyonu da endotel hasarı yapar. Komplemanın aktivasyonu, damar permeabilitesini doğrudan veya nötrofilleri aktive etmek suretiyle bozar. Ayrıca degranülasyon esnasında nötrofillerden açığa çıkan toksik oksijen radikalleri ve lizozomal enzimler de endotel permeabilitesini artırır. Damar permeabilitesinin artması ve endotel hasarı, ekstrasvazasyon ve mikrotrombüslerin oluşumunu kolaylaştırır. Bir anatomik yerde yeterli endotel hasarı oluşunca, orada organ perfüzyonu bozulur ve organ yetmezliği gelişir. Eğer bir çok yerde endotel hasarı oluşur ise multiorgan yetmezliği ile sonuçlanır. Hasar kontrol edilemez ise metabolik düzensizlik gelişir. Sepsiste en sık karşılaştığımız organ yetmezliği, akciğer, böbrek, karaciğer ve kalp yetmezliğidir (11,13).

Sepsiste damar permeabilitesinin bozulması, trombosit ve nötrofil agregasyonu küçük damarlarda mikrotrombüslerin oluşumunu başlatır. Endotoksin, TNF- $\alpha$ , IL-1 ve diğer endojen mediyatörler doku faktörünü aktive eder. Hageman faktörünün aktivasyonu (faktör XII), plazminojeni plazmine çevirir ve intrinsek koagülasyonu başlatır. Fibrinojen fibrine dönüşür, bunu pıhtılaşma izler. Fibrinolitik aktivite artar. Genellikle şok ile beraber kontrol edilemeyen koagülasyonun aktivasyonu ile tromboz ortaya çıkar. Ayrıca trombositlerin ve pıhtılaşma faktörlerinin (faktör II, V ve VIII) tüketimi ile sonuçlanan yaygın damar içi pıhtılaşması (DIC) tablosu oluşur. Bu durum klinikte deri ve mukoza

kanamaları şeklinde görülür (16,17). DIC, sepsisli hastalarda prognozu kötü yönde etkileyen fizyopatolojik bir olaydır. DIC gelişen hastalarda mortalite oranı %77, DIC olmayanlarda %32 olarak bildirilmiştir (18).

Sepsiste gelişen en önemli fizyopatolojik olaylardan birisi de septik şoktur. Septik şok en fazla Gram (-) bakteriyel sepsislerde görülür. Benzer klinik sendrom Gram (+) bakteri, mantar, mikobakteri, riketsia ve protozoa infeksiyonlarında da görülebilir (11). Sepsiste açığa çıkan mediyatörlerin bir çoğu vazoregulatördür. Bunlar; PGI<sub>2</sub>, tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), histamin, serotonin ve NO'dir. Vazoaktif mediyatörlerin etkisi ile sistemik damar direnci azalır. Bu da dokulara giden kan akımının azalmasına neden olur. Ayrıca sepsiste miyokardı deprese eden bir madde "myocardial depressant substance" izole edilmiştir. Bu madde, ventriküler dilatasyona, miyokarda depresyona ve sol ventikül ejeksiyon fraksiyonunda (EF) azalmaya neden olur (19). Diğer mediyatörler de kalbi etkiler. TNF- $\alpha$  miyokardı deprese eder, PAF kalp üzerine negatif inotropik etkilidir ve arteriyel kan basıncını düşürür. Lökotrienler C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> ve E<sub>4</sub>, koroner ve miyokard kan akımını azaltır. IL-2'de kardiyovasküler fonksiyon bozukluğuna yol açar. Sepsiste salınan bu mediyatörlerin etkisi ile hipotansiyon ve şok gelişir (20).

Sepsiste bir çok organda patolojik değişiklikler görülebilir. Bu değişiklikler; bakteriyel invazyon, bakteriyel toksinler ve enzimlerin direkt etkisi, mediyatörler aracılığı ile oluşan etki, perfüzyon bozukluğu ve DIC sonucu gelişen patolojik değişikliklerdir. Histopatolojik değişiklikler; konjesyon, ödem, fibrin trombüsleri, hemoraji ve nekroza kadar giden lezyonlarla karakterizedir. Akciğerde hemorajik değişikliklere sık rastlanır ve ağır solunum yetmezliğine yol açar. Akciğerlerden sonra lezyonlar sıklıkla barsaklarda akut iskemik enterokolit ve karaciğerde zonal nekrozlar şeklinde gelişir (21).

### **2. 1. 5. Klinik**

Sepsisli hastaların büyük çoğunluğunda vücut ısısı yükselir. Ateş ile beraber titreme de gözlenir. Bazı hastalarda vücut ısısı normal sınırlarda olabileceği gibi, hipotermi de görülebilir. Hipotermi sepsiste kötü prognozun bir işareti olarak yorumlanmaktadır. Hipotansiyon, oligüri, trombositopeni ve kanamanın gözlenmesi, bu hastaların sepsis yönünden değerlendirilmesini gerektirir (22). Hiperventilasyon, sepsisin en erken belirtisi olabilir. Ateş, titreme ve diğer belirtiler daha sonra gelişebilir. Yoğun bakım ünitelerinde devamlı takip edilen hastalarda hiperventilasyon ve respiratuvar alkaloz gözlenmesi sepsisi ilk planda düşündürmelidir. Santral sinir sistemi tutulumu olmaksızın mental değişikliklerin olması sepsiste önemli bir bulgudur. Sepsis'te %9-71 oranında ensefalopati tablosu gelişebilmektedir. Oryantasyon bozukluğu, konfüzyon,

letarji, ajitasyon ve şuurda küntlük şeklinde klinik tablo ortaya çıkar (23,24). Sepsis'te değişik özellikte deri lezyonları görülür. Bu lezyonlar üç kategoride değerlendirilebilir.

1. Deri ve deri altı dokusunun bakteriyel infeksiyonu,

2. Sepsise bağlı şok ve/veya DIC tablosu sonucu bakteriyel invazyon olmadan gelişen deri lezyonları,

3. Mikroemboli ve immünkompleks vaskülitinin sonucu end-arteriyel obstrüksiyona bağlı gelişen deri lezyonları (infektif endokarditte görülen deri lezyonları buna örnektir).

Gram (-) bakteriyel sepsislerde ektima, hemorajik veziküller veya büllöz lezyonlar, selülit, diffüz eritematöz lezyonlar veya peteşiyel deri lezyonları görülebilir (23). Sepsisin erken döneminde kardiyak output artar, periferik damar direnci azalır, arteriyel kan basıncı düşer. Bu dönemi şok takip eder. Sepsisli hastalarda sistolik kan basıncının 90 mmHg'nın altına düşmesi, klinik olarak şok kabul edilmektedir. Hastalarda, hipotansiyon, taşikardi, takipne ve periferik vazodilatasyon gözlenir. Şokun uzaması ile periferik vazokonstrüksiyon gelişir. Organ perfüzyon bozuklukları belirtileri ortaya çıkar, anüri gelişir, deri soluk ve soğuktur. Tedavi edilmeyen veya tedaviye cevap vermeyen vakalarda organ yetmezliği ve ölüm gelişir (25).

Sepsiste akciğer komplikasyonları önemli yer tutar. Bunlar hiperventilasyon, akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) ve solunum adalelerinde yetersizliktir. Akciğer tutulumu klinik tabloyu ağırlaştırır. ARDS veya şok akciğeri, Gram (-) bakteriyel sepsislerde daha sık görülür. Hiperventilasyon, sepsisin en erken belirtisi olabilir. Respiratuvar alkaloz (arteriyel CO<sub>2</sub> basıncı < 30 mmHg) gelişir.

Sepsiste görülen en önemli komplikasyonlardan biri de organ yetmezlikleridir. Yetmezlik yönünden risk altında olan organlar; kardiyovasküler sistem, akciğerler, böbrekler, karaciğer, pankreas, gastrointestinal sistem ve santral sinir sistemidir. Bunların yanında metabolik bozukluklar, koagülasyon sistemi bozuklukları da görülebilir. Primer hepatobiliyer hastalık olmaksızın sarılık görülebilir. Direkt bilirübin artışı ile beraber hiperbilirübinemi, alkalin fosfataz ve transaminaz seviyelerinde artış görülür (26,27).

### **2. 1. 6. Prognoz**

Tıbbın artan olanaklarına rağmen sepsiste mortalite oranı hala yüksektir. Değişik çalışmalarda ölüm oranı %30-70 arasında bildirilmektedir. Mortalite oranlarının farklı bildirilmesi, çeşitli konakçı ve çevre faktörleri ile yapılan çalışmalardaki grupların heterojen olmasına bağlanmaktadır. Mortalite oranı, Gram (-) bakteriyel sepsislerde %45-50, Gram (+) bakteriyel sepsislerde %20-30 ve anaerob sepsislerde ise % 15-30'dur. Şok, DIC, ARDS ve

organ yetmezliğinin diğer komplikasyonları geliştiğinde ölüm oranı %70-90 arasında değişmektedir (5,12).

### 2. 1. 7. Tedavi

Tedavinin başarısı, erken tanı, etiolojinin ve altta yatan hastalığın belirlenmesi gibi nedenlere bağlıdır. Sepsiste tedavi prensipleri şu şekilde belirlenebilir:

1. Destek tedavisi,
2. İnfeksiyon odağının kaldırılması,
3. Altta yatan hastalığın tedavisi,
4. Antimikrobiyal tedavi,
5. Diğer tedavi girişimleri.

Volüm ve ventilasyon desteği yeterli doku perfüzyonu ile oksijenasyonu sağlamak için gereklidir. Bu amaçla yapılması gereken ilk şey yeterli sıvı tedavisi ve oksijen desteği sağlamaktır. Pulmoner kapiller wedge basıncının (PCWP) 15-18 mmHg arasında tutulması önerilmektedir. Septik şoktaki hastaların oksijen saturasyonunun %90-92 arasında tutulması önemlidir.

Hastada metabolik asidoz varsa sodyum bikarbonat, DIC gelişmiş ise taze donmuş plazma verilmelidir. Sıvı tedavisine rağmen kan basıncı yükselmez ise vazopressör ajanlar kullanılmalıdır. Bu amaçla Epinefrin, Norepinefrin, Dopamin, Dobutamin, Fenilefrin kullanılabilir. Anemisi olan hastalarda eritrosit süspansiyonu veya tam kan verilebilir. Hastalarda hemotokrit değerinin %30-35'in üzerinde tutulması gerekmektedir.

Sepsis tedavisinde steroid kullanımı tartışmalıdır. Adrenal yetmezlikli olgularda hidrokortizon kullanımının mortaliteyi %30 azalttığına dair yayınlar mevcuttur (28).

Septik şok tedavisinde Naloksan, Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (İndometazin, İbuprofen), antihistaminikler, Pentoksifilin denenmiş olup, henüz klinik kullanıma girmemiştir.

Doğal veya sentetik antioksidanlar; ksantin oksidaz inhibitörü (Allopürinol), Süperoksit Dismutaz, Katalaz, NADPH oksidaz inhibitörleri (Adenozin gibi), Desferroksamin, NAC, vitamin C ve E ile deneysel çalımlar halen devam etmektedir. Sepsis tedavisinin esasını antimikrobiyal tedavi oluşturur. Uygun antibiyotik seçiminde primer infeksiyon odağı, epidemiyolojik faktörler, altta yatan hastalık, infeksiyonun hastane veya toplumdan kazanılmış olması, sık izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılık durumları göz önünde bulundurulur. Başlangıç antibiyotik tedavisinde genellikle uygun iki antibiyotiğin kombinasyonu konusunda fikir

birliği vardır. Bu kombinasyondan amaç Gram (-), Gram (+) ve anaerob infeksiyonları içine alacak geniş spektrum elde etmek, polimikrobiyal infeksiyona etkili olmak, direnç gelişimini önlemek ve sinerjistik etki elde etmektir. Daha sonra ise kültür sonuçlarına göre antibiyotik seçimi yapılır (29).

Sepsis tedavisi ile ilgili çalışmaların çoğu negatif sonuç vermesine rağmen son yıllarda bazı olumlu gelişmelerde yaşanmaya başlanmıştır. Bu gelişmeler içinde en önemlisi rekombinant insan aktive protein C (APC) tedavisidir. Bir antikoagölan olan APC tedavisi ile sepsis hastalarında ölüm riskinde %6 oranında azaltılabilmıştır (30).

## **2. 2. N Asetil Sistein (NAC)**

Asetilsistein doğal bir aminoasit olan L-sisteinin N-asetillenmiş türevine verilen isimdir. Potent antioksidan ve antiinflamatuvar özelliği olan tiol bileşimidir. Aynı zamanda iyi bilinen bir GSH prekürsörüdür. Dokularda, özellikle akciğer dokusunda yüksek konsantrasyonda bulunur. Asetilsistein antioksidan bir maddedir. Asetilsistein akciğer ve karaciğerde glutatyon sentezine sistein vericisi olarak katılır ve glutatyon sentezini artırır. Plazma proteinlerine bağlanma oranı %50'dir. Eliminasyon yarı ömrü 6.25 saattir (31).

Asetilsistein ve glutatyon özellikle akciğerde enfeksiyonlar esnasında nötrofillerin oluşturduğu serbest radikallerin yanısıra sigara dumanı ve diğer zararlı maddelerin solunmasıyla ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini de bağlar. Böylece hücre hasarını önleyerek koruyucu etki gösterir. NAC verilmesi, deneysel sepsis modelinde plazma MDA düzeylerini düşürmüştür (32).

## **2. 3. Erdostein**

Erdostein, Metabolit I, II ve III olmak üzere üç aktif metaboliti vardır. Metabolit I; N-tiyoglikol homosistein, metabolit II; N-asetil homosistein, metabolit III; homosisteindir. Plazma proteinlerine %64,5 oranında bağlanır. Eliminasyon yarılanma ömrü 1.4 saattir. Erdostein, oral alım sonrası çabuk absorbe olur ve absorpsiyonu gıdalardan etkilenmez. Barsaklardan emilerek portal dolaşıma geçer. Karaciğerde aktif metabolitlerine dönüşür. Aktif metabolitlerinin üçü de mukolitik ve serbest radikal temizleyici aktivite göstermektedir. bronşiyal mukus salgısını seyreltici ve ekspektoran özelliği yanında, hem serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek, hem de elastaz enziminin aktivitesini inhibe ederek etki gösterir (33). Karaciğerde metabolize olduktan sonra serbestleşen sülfidril (tiyol = -SH) gruplarına sahiptir. Bu tiyol grupları sayesinde çok yönlü etki mekanizması vardır. Erdostein solunum sisteminde bakterinin mukozaya kolonize olmasında en önemli aşama olan adezyonu önler ve kullanılan antibiyotiğin balgamdaki konsantrasyonunda artış sağlayarak

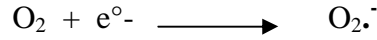
antibiyotikler ile sinerjik etki gösterir. Erdostein antiadeziv etkisini, bakteri fimbriasındaki disülfid bağlarını kırarak bakterinin hücre reseptörüne bağlanmasını sağlayan kimyasal yapıyı bozma suretiyle gösterir. Bu etkisi kanıtlanmış tek mukolitik ajandır (34).

## 2. 4. Serbest Oksijen Radikalleri

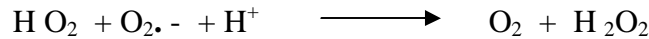
Serbest radikaller bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron taşıyan reaktif atom ya da moleküllerdir. Eşlenmemiş elektronlar oldukça reaktiftir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , geçiş metallere iyonları ve  $OH^-$  radikalidir. Moleküler oksijen güçlü bir oksidandır ve eşlenmemiş iki elektron taşır. Bu yüzden oksijen molekülü bazen biradikal olarak da değerlendirilir. Oksijen en son suya indirgenirken kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilir. Bunlar;  $O_2$  radikali,  $OH^-$  radikali ve  $H_2O_2$ 'dir. (35).

### 2. 4. 1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )

Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu aerobik hücrelerin tamamına yakınında serbest süperoksit radikal anyonu oluşur.



Süperoksit, serbest radikal olmakla birlikte kendisi direk olarak fazla zarar vermez. Bu radikalın zararlı etkileri  $H_2O_2$  için substrat olmasından kaynaklanır. Süperoksitin nitrik oksit ile birleşmesi sonucu peroksinitrit oluşur. Doğrudan proteinlere zararlı olan peroksinitrit azot dioksit ( $NO_2$ ),  $OH^-$  radikali ve nitronyum iyonu ( $NO_2^+$ ) gibi toksik ürünlere dönüşür. Süperoksit ile perhidroksil radikali birbirleriyle reaksiyona girince biri okside olur diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda oksijen ve hidrojen peroksit meydana gelir.

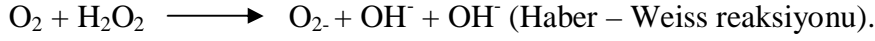


### 2. 4. 2- Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

$H_2O_2$ 'in üretimi süperoksit dismutaz enzimi ile olmaktadır.  $H_2O_2$  fazla reaktif bir radikal değildir. Süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir (36).

### 2. 4. 3 Hidroksil Radikali ( $OH^-$ )

Hidroksil radikali Haber–Weiss reaksiyonu, Fenton reaksiyonu ya da suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda oluşan son derece reaktif bir oksidandır. Yarılanma ömrü çok kısadır. Oluştugu yerde büyük hasara sebep olur. Tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikallerin oluşmasına sebep olur .



#### 2. 4. 4 Singlet Oksijen

Radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi, serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve  $\text{OH}^-$  kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (35).

### 2. 5. Serbest Radikal Kaynakları

#### 2. 5. 1. Biyolojik kaynakları

- Aktive olmuş fagositler (Respiratory Burst)
- Antineoplastik ajanlar : Nitrofurantoin, Bleomisin, Doksorobisin ve Adriamisin,
- Radyasyon,
- Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular
- Çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler; hiperoksi, pestisidler, sigara dumanı, solventler, anestezikler, aromatik hidrokarbonlar).
- Stres; Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır.

#### 2. 5. 2. İntrasellüler kaynakları

- Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidropterinler, antibiyotikler,
- Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz , triptofan dioksijenaz , hemoglobin,
- Mitokondrial elektron transportu,
- Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (sitokrom P-450, sitokrom B<sub>5</sub>),
- Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler,
- Plazma membranı: Lipoksijenaz, prostaglandin sentetaz, fagositlerde NADPH oksidaz, lipid peroksidasyonu,
- Oksidatif stress yapıcı durumlar: İskemi, travma, intoksikasyon.

Hücrelerde serbest radikal kaynağının büyük bir kısmı, elektron transport zincirinden elektron sızıntısıyla oluşur. Hücre membranına bağlı ve endoplazmik retikulumda bulunan

sitokrom B5 ve sitokrom P-450 enzimlerinin doymamış yağ asitlerini oksitlemesiyle süperoksit radikalleri oluşur (37).

Hücrelerin fagositoz yapması esnasında oksijen kullanımları artar. Bunun sonucu olarak hidrojen peroksit, hipokloroz asit, süperoksit radikali ve hidroksil radikali oluşur. Diğer bir serbest oksijen radikali kaynağı olarak enzimlerin katalitik sikluslarının ana ürünleri gösterilebilir. Aldehid oksidaz yapı itibariyle ksantin oksidaza benzer ve substratlarının çoğu aynı olup, superoksid radikali üretir. Benzer şekilde dihidroorotat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, amino asid oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimler de radikal oluşmasına sebep olurlar. Araşidonik asidin lipooksijenaz ve siklooksijenaz yolu ile enzimatik oksidasyonuna bağlı olarak serbest oksijen radikalleri ara ürün halinde ortaya çıkar (38).

## **2. 6. Antimikrobiyal Aktivitede Serbest Radikaller**

Fagositoz, bakteriyel enfeksiyonlarda önemli bir defans mekanizmasıdır. Nötrofiller ve monositler bakterilerin öldürülmesi için hem oksijen bağımlı hem de oksijenden bağımsız mekanizmalar içerirler. Oksijen bağımlı mekanizmalar myeloperoksidaz (MPO) sistemini ve oksijen türevi serbest radikallerin üretimini sağlayan başka bir sistemi kapsar. Oksijenden bağımsız sistem ise patojenlerin öldürülmesinde fagolizozomdaki pH değişikliklerini ve lizozomal enzimleri kullanır. Bu bakterisidal mekanizmaların en etkilisi MPO sistemidir. Fagositoz olduktan sonra, lökositin hücre membranında yerleşmiş olan NADPH oksidaz sistemi çevre dokulardaki moleküler oksijeni superokside dönüştürür. Süperoksit oluşumuna eşlik eden moleküler oksijenin hızlı tüketimi respiratuar patlama olarak adlandırılır. Amaç, mikroorganizmaların fagositler tarafından yok edilmesinde kullanılacak oksidan ajanlar sağlamaktır. Süperoksit, süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hidrojen perokside dönüştürülür. Fagolizozomda bulunan lizozomal bir enzim olan MPO'nun varlığında peroksit ve klorür iyonları bakteriyi öldüren hipokloroz aside dönüştürülür(39).

## **2. 7. Serbest Radikallerin Etkileri**

### **2. 7. 1. Membran lipitlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu)**

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Reaktif oksijen radikali ile hücre membran fosfolipidlerinin yapısını oluşturan poliansatüre yağ asitleri reaksiyona girerek lipid hidroperoksitlerini oluşturur. Bu olaya lipid peroksidasyonu denir. Lipid hidro peroksidasyonu sonucu aldehit, pentan, etan gibi ürünler oluşur. Bunlardan en toksik olanı aldehitlerdir. Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda

tiobarbütirik asitle ölçülebilen MDA meydana gelir. Dokudaki ve kandaki MDA seviyesi lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. MDA, hücre için çok toksik bir molekül olup aynı zamanda mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşik olarak kabul edilir.

### **2. 7. 2. Proteinlere etkileri**

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asid kompozisyonlarına bağlıdır. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, methionin, sistein gibi sülfür bağına sahip amino asitler daha fazla olmak üzere amino asit türü ve dizilimine göre serbest radikallerden etkilenirler ve yeni serbest radikaller oluştururlar (40).

### **2. 7. 3. Nükleik Asitler ve DNA'ya etkileri**

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek tek ya da çift dal kırıklarına neden olurlar. DNA üzerinde etki ile hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir .

### **2. 7. 4. Karbonhidratlara etkileri**

Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu  $H_2O_2$ , peroksidler ve okzoaldehidler meydana gelir. Okzoaldehidler DNA, RNA, proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterir. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynar.

Serbest radikaller, bu tür etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogenezinde önemli rol oynar. Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının gelişimi, KAH, HT, Psöriyazis, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri, kas ve göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz olduğu gösterilmiştir (41).

## **2. 8. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Serbest radikaller vücutta hassas bir dengeyle kontrol edilmektedir. Bu denge prooksidan ve antioksidanlar arasında olmaktadır. Patolojik durumlarda iskemi, travma ya da sepsis gibi durumlarda bu denge bozulur. Antioksidan savunma sistemleri yetersiz kalır. Organizmada metabolik fonksiyonlar sırasında serbest radikal oluşturan bazı kimyasal moleküller vardır. Bunlara prooksidanlar denir. Serbest radikallerin yaptığı hasarı önlemek için etki gösteren moleküllere ise antioksidan adı verilir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir

reaksiyonunu engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Antioksidanlar, doğal (endojen kaynaklı) ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılır (42).

## 2. 8. 1. Endojen Antioksidanlar

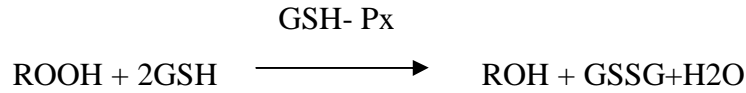
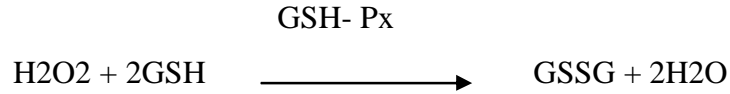
### 2. 8. 1. 1 Enzimler

**Sitokrom Oksidaz:** Mitokondride moleküler oksijeni kullanarak serbest radikal oluşumunu önler .

**Süperoksit Dismutaz:** Oksijen potansiyel olarak toksik bir maddedir. Oksijenin toksisitesi süperoksit dönüşümüne bağlanmaktadır. SOD ise süperoksit radikalinin toksik etkilerine karşı koruyucu bir enzimdir SOD, süperoksit anyonu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikali oluşumunu engeller .

**Katalaz:** Hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar. Peroksidaz aktivitesine sahiptir. Peroksizomlarda lokalizedir. Hidroksil radikali gibi bazı toksik metabolitlerin oluşumunu önler (43).

**Glutasyon peroksidaz:** Hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Lipid peroksitlerini toksik olmayan alkole çevirir. Hidrojen peroksiti kimyasal olarak detoksifiye eder. GSH-Px aşağıdaki reaksiyonları katalizler



Redükte glutasyon (GSH) memeli hücrelerde milimolar konsantrasyonda mevcuttur ve en önemli endojen antioksidanlardan birisidir. Detoksifikasyon, aminoasit transportu, koenzimlerin üretimi gibi hücrel fonksiyonlarda rol alır. Hücrel çevre için GSG indirgeyici bir tampondur. Azalmış glutasyon seviyeleri kanser, viral enfeksiyonlar, bağışıklık sistem bozuklukları, sepsis gibi ciddi hastalıklarla birlikte bulunmaktadır. NAC glutasyon öncülüdür. Hem glutasyon seviyelerini artırır hem de serbest radikalleri yok edici gibi davranır (44).

**Glutasyon -S-transferaz:** Başta araşidonik asid ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı defans mekanizması oluştururlar.

**2. 8. 1. 2. Enzim olmayanlar**

**Lipid fazda bulunanlar:**  $\alpha$ -tokoferol (E-vitamini),  $\beta$ - karoten.

**Sıvı fazda (hücre sitozolünde veya kan plazmasında) bulunanlar:** Askorbik asid, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, miyoglobin, hemoglobin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutatyon (45).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3. 1. Deneysel Protokol

Bu deneysel çalışma Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deneysel 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. Çalışma öncesi ratlar standart laboratuvar koşullarında, kısıtsız rat yemi ve su ile beslendi. Operasyon öncesi ve sonrası 12 saat boyunca sadece su almalarına izin verildi.

Ratlara subkutan (sc) olarak Ketamin HCl (50mg/kg) ve Xylasin HCL (15 mg/kg) ile genel anestezi uygulandı ve spontan solunum deney boyunca korunacak şekilde ilave dozlar gerektiği kadar verildi. Deneklere anesteziden hemen sonra solunum ve nabız takipleri yapıldı.

Operasyon masasına alınan denekler prone pozisyonunda sabitlendikten sonra karın cildi tamamen traş edilip, aseptik koşullara uyularak 2 cm'lik orta hat kesisi ile laparotomi yapıldı. Sepsis oluşturmak için çekal ligasyon ve perforasyon (ÇLP) modeli seçildi (13). 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. Sham grubunda ÇLP uygulanmayıp sadece çekum explore edildi. Deneklere postoperatif solunum ve nabız takipleri yapıldı. Ratlar 22 °C'de nemi, ışığı ve ısıyı kontrol altında tutulan odalarda takip edilerek ilaçları belirlenen saatlerde verildi.

Postoperatif 12. saatten sonra deneklerin standart rat yemi ve içme suyu almalarına izin verildi. Tüm ratlar operasyondan 24 saat sonra sakrifiye edildi. Kardiyak ponksiyonla alınan kan örnekleri buz banyosu içinde Selçuk Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarı'na nakledildi.

Hematokrit ve lökosit ölçümleri yapıldıktan sonra önceden hazırlanmış soğutmalı santrifüjde 3000 devir /dk da 5 dakika santrifüje edilip plazma ve serum örnekleri ayrıldı. Örnekler farklı zamanlarda çalışılacağı düşünülerek, 3 ayrı eppendorf tüpüne konuldu ve çalışma süresine dek -70 °C' de saklandı.

Akciğere ait doku örnekleri aynı şekilde eppendorflara konarak deneysel araştırma merkezinde -80°C'de saklandı. Doku örnekleri ayrıca histopatolojik inceleme için %10 formol çözeltisi içine kondu. Santrifüjden elde edilen eritrosit hemolizatından uygun kitlerle eritrosit GSH tayini yapıldı. Akciğer doku örnekleri alındıktan sonra manuel metod kullanılarak plazma ve doku MDA ve lökosit myeloperoksidaz (MPO) 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 mikroskopu altında 40X 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 anlamlılığını değerlendirildi. Sepsisin şiddetinden dolayı 20. saatte sadece bir rat exitus oldu. Diğer gruplarda ise exitus gözlenmedi. Gruplardaki her bir rat, operasyondan 24 saat sonra sakrifiye edildi. Kardiyak ponksiyonla kan örnekleri elde edildi. Akciğer doku örnekleri alınarak %10 formol çözeltisinde saklanıp, daha sonra histopatolojik olarak incelendi. Ayrıca akciğer doku örneği alındı, derin dondurucuda -80 °C de saklanıp doku MDA çalışıldı.



**Resim 1. Deney sırasında deneklere uygulanan ÇLP modeli**

### **3. 2. Biyokimyasal protokoller:**

#### **3. 2. 1. Serum MDA Ölçümü**

Drapper ve Hadley yöntemleri ile, TBA ile MDA'nın sıcak ve asidik ortamda oluşturduğu renkli kompleksin 532 nm'deki absorbansı okunup, molar absorpsiyon katsayısından faydalanılarak MDA konsantrasyonu hesaplanmıştır (46). Çalışmamızda spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem Drapper ve Hadley yönteminin bir modifikasyonu olup, çift kaynatma esasına dayanır. Birinci ısıtmada bağlı olan MDA proteinlerden serbestleştirilerek proteinler çöktürülür, ikinci ısıtmada ise total MDA, TBA ile reaksiyona girer. TBA-MDA'nın oluşturduğu renkli kompleksin absorbansı 532 nm'de ölçülüp, MDA'nın molar absorpsiyon katsayısından yararlanılarak konsantrasyonu hesap edilir. Bu yöntemde de oluşabilecek hatalar ve etkileşimler en aza indirilmiştir.

### 3. 2. 2. Dokuların Homojenizasyonu

Kontrol ve numune olmak üzere iki deney tüpü hazırlandı. Her iki tüpe 2.5 ml %10'luk Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi kondu. Numune tüpüne 0.5 ml plazma, kontrol tüpüne ise 0,5 ml distile su eklendi. Tüpün ağzı kapatılıp 90 °C deki su banyosunda 15 dk. bekletildi. Sonra her iki tüpe çıkartılarak soğuk su altında soğutuldu ve 3000 devir/dk' da 10 dk. santrifüj edildi. Üstteki süpernatant'dan 2'şer ml başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine %0.675 lik TBA çözeltisinden 1 ml eklenerek ağızları sıkıca kapatıldıktan sonra 90°C de su banyosuna konuldu ve 15 dk bekletildikten sonra soğuk su altında soğutuldu. Spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı numunenin absorbansı ölçüldü. altında soğutuldu. Spektrofotometrede 532 nm'de köre karşı numunenin absorbansı ölçüldü. MDA-TBA kompleksinin 532 nm'deki ekstinksiyon katsayısından ( $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) yararlanılarak nmol/ml cinsinden MDA değeri aşağıda belirtilen formülle hesaplanarak bulundu.

Dilüsyon faktörü =9.09

$A = a \times b \times c$  (A=absorbans, a=molar ekstinksiyon katsayısı, b=ışık yolu, c =konsantrasyon

$c = A / a \times b$   $c = [A / (1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1} \times 1 \text{ cm})] \times \text{dilüsyon faktörü}$   $c = (A / 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}) \times 9.09$   
 $C \text{ (nmol/ml)} = A \times 58.27$

### 3. 2. 3. Doku MDA ölçümü

Ratlardan alınan ve -80 °C de saklanan akciğer parçaları çözündükten sonra 0.5 gr doku tartıldı, 150 mM soğuk KCL kullanılarak, %10'luk homojenat oluşacak şekilde homojenize edildi. Homojenizasyonda Misonix XL 2007 Ultrasonic Cell Disruptor kullanıldı. Oluşan homojen karışım Hettich Universal 30 RF soğutmalı santrifüjde 10000 devir/dak'da 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki çözeltiden mikroprotein çalışıldı. Aynı zamanda oluşan homojenattan tüpe 0.1 ml alındı, üzerine 0.2 ml %8.1 sodyum dodesilsülfat (SDS) solüsyonu, 1.5 ml %20 asetik asit solüsyonu (pH > 3 olacak şekilde NaOH ilave edildi) ve 1.5 ml %0.8 TBA sıvı solüsyonu konuldu, vortekste karıştırıldı. Oluşan karışım distile su içinde 95<sup>0</sup> Cde 60 dk. kaynatıldı. Daha sonra su altında soğutuldu, 1 ml distile su ve 5 ml n-butanol ve piridin (15:1, v/v) eklendi ve karışım çalkalandı. Oluşan karışım 4000 devir /dk'da 10 dk. çevrildi, üst tabakadaki karışımdan örnek alınarak 532 nm'de kör numune yerine homojenat ilave edilmemiş karışımdan konularak köre karşı absorbansı ölçüldü. Sonuçta MDA konsantrasyonu şu formülle elde edildi:

$C = \text{Ölçülen absorbans} \times 320.5 \times \text{dilüsyon faktörü} / \text{homojenat mikroproteini} = \text{nmol/mg doku}$   
 MDA miktarı nmol/mgram protein yaş doku olarak belirlendi.

### 3. 2. 4. Lökosit MPO Ölçümü

#### Kan Örneklerinden Lökosit Ayrışımı

Kandaki kırmızı hücreler hipotonik bir çözelti ile hemolize olduktan sonra santrifüj edilerek lökositler ayrıştırıldı.

#### Ayırıcılar

**Retikulosit Salın Çözeltisi:** NaCl 0.90 gr, KCL 1.85 gr, MgCl<sub>2</sub>, 6 H<sub>2</sub>O 7.10 gr kimyasalla bir litrelik balon jöjeye alınarak distile su ile 1 litreye tamamlanarak hazırlandı.

**Hemoliz Solüsyonu:** 131 mM NH<sub>4</sub>Cl 7.14 gr ve 0.9 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 7.10 gr tartıldıktan sonra bir balon jöjeye alınarak distile su ile 1 litreye tamamlanarak hazırlandı. EDTA'lı tüplere alınan 2 ml tam kan soğutmalı santrifüjde (24<sup>0</sup>C) 10 dk. hücreleri 2500 rpm'de döndürülerek plazma atıldı. Çökelen kan hücreleri üzerine 1x retikülosit salın çözeltisi konularak karıştırıldı. 10 dk 2500 rpm'de santrifüj edildikten sonra üst faz atıldı. Bu işlem üç kez tekrarlandı. Çöken hücreler üzerine hemoliz solüsyonu (taze hazırlanır) konularak eritrositlerin parçalanması için 10 dk beklendi ve üzerindeki hemolizat atıldı. Tüpün dibindeki lökositler içinde kırmızı hücreler kalmış ise işlem tekrarlandı. Elde edilen lökositler 3 ml Na-K fosfat tamponu (pH 7.4) ile homojenize edilerek lökosit süspansiyonu oluşturuldu. Pipetleme yapıldıktan sonra tüpler 37 °C 30 dk. inkübe edildi. İnkübasyondan sonra her tüpe 0.2 ml 3 M HCl pipetlendikten sonra spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda absorpsanları okundu. Sonuçlar  $U \times 10^6$  olarak hesaplandı (47).

### 3. 2. 5. GSH Ölçümü

CAYMAN marka elisa kitiyle test prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Sonuçlar mikromolar ( $\mu$ M) cinsinden hesaplandı.

### 3. 3. Dokuların histopatolojik olarak değerlendirilmesi

Ratlardan alınan akciğer dokusu hazırlanan parafin bloklarından 5 mikron ( $\mu$ ) 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 (48).

**Akciğer dokusunun histopatolojik kesitlerinde;** Alveolar septal kalınlaşma, konjesyon, hemoraji, pulmoner infiltrasyon varlığı ve şiddeti değerlendirildi.

### 3. 4. 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.

## 4. BULGULAR

### 4. 1. Biyokimyasal Bulgular

Deneklerin lökosit, eritrosit GSH, lökosit MPO, plazma ve akciğer doku MDA ortalama ve standart sapma değerleri tablo 1’de görülmektedir.

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

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

ER; eritrosit LOK; lökosit PL; plazma AC; akciğer

<sup>a</sup>: Grup 1 ile kıyaslandığında p<0,05 <sup>b</sup>: Grup 2 ile kıyaslandığında p<0,05

Buna göre, grupların ortalama lökosit değerleri şu şekilde bulundu: Grup 1 (sham); 8320/ mm<sup>3</sup>, grup 2 (sepsis );1777 /mm<sup>3</sup>, grup 3 (Erdostein); 3720/ mm<sup>3</sup>, grup 4 (NAC); 2860 /mm<sup>3</sup> olarak ölçüldü.

Gruplar lökosit değerleri açısından karşılaştırıldığında; grup 2’de grup 1’e göre düşme, grup 3’te grup 2’ye göre artma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (P<0.05), grup 4’de grup 2’ye göre artma anlamlı bulunmadı (P>0.05).

Grupların ortalama eritrosit GSH değerleri şu şekilde idi: Grup 1; 156,14 µM, grup 2; 92,13 µM, grup 3; 116,27 µM, grup 4; 147,98 µM olarak ölçüldü.

Gruplar eritrosit GSH değerleri açısından kıyaslandığında; grup 2’de grup 1’e göre azalma, grup 4’te grup 2’ye göre artma istatistiksel olarak anlamlı bulunurken (P<0.05), grup 3’de grup 2’ye göre artma anlamlı bulunmadı (P>0.05).

Grupların ortalama lokosit MPO değerleri ise şu şekilde ölçüldü: Grup 1; 0,000094 U x 10<sup>6</sup>, grup 2; 0,000166 U x 10<sup>6</sup>, grup 3; 0,000140 U x 10<sup>6</sup>, grup 4; 0,000115 U x 10<sup>6</sup> olarak ölçüldü.

Gruplar lökosit MPO değerleri açısından incelendiğinde; Grup 2’de grup 1’e göre yükselme, grup 3 ve grup 4’de grup 2’ye göre düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $P<0.05$ ), grup 3 ve grup 4’ün, grup 2’ye göre lökosit MPO değerini azaltma yönünden birbirine karşı üstünlükleri istatistiksel olarak tespit edilmedi ( $P>0.05$ ).

Grupların ortalama plazma MDA değerleri şu şekilde bulundu: Grup 1; 5.47 nmol/ml, grup 2; 11.48 nmol/ml, grup 3; 7,36 nmol/ml, grup 4; 6. 80 nmol/ml olarak ölçüldü.

Gruplar plazma MDA değerleri açısından değerlendirildiğinde; Grup 2’de grup 1’e göre artma, 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 ( $P>0.05$ ).

Grupların ortalama akciğer doku MDA değerleri ise şu şekilde ölçüldü: Grup 1; 2,50 nmol/g protein, grup 2; 9,29 nmol/g protein, grup 3; 3.77 nmol/g protein, grup 4; 3,15 nmol/g protein olarak ölçüldü.

Gruplar akciğer doku MDA değerleri açısından karşılaştırıldığında; Grup 2’de grup 1’e göre yükselme, 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 etkinlikleri istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmedi ( $P>0.05$ ).

#### 4. 2. Histopatolojik Bulgular

Tablo 2’de deneklerin akciğer dokusundaki PMNL artışı, alveolar septal kalınlaşma, konjesyon ve hemoraji skorlaması görülmektedir.

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

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

**PMNL. ARTIŞ** ; Polimorf nüveli lökosit artışı

**ALVEO.SEPT.KALIN.;** Alveolar septal kalınlaşma

<sup>a</sup>: Grup 1 ile kıyaslandığında  $p<0,05$

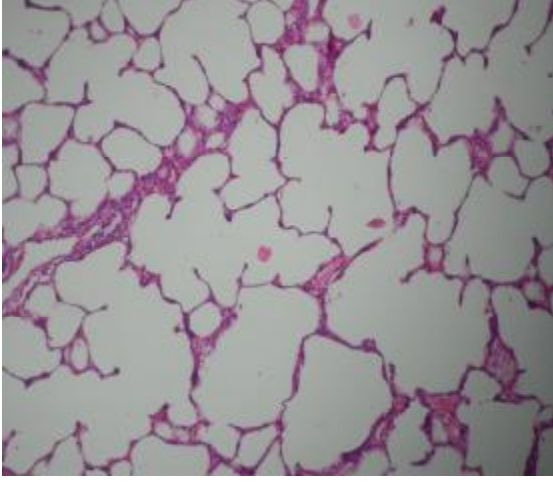
<sup>b</sup>: Grup 2 ile kıyaslandığında  $p<0,05$

Gruplar akciğer dokusundaki PMNL artışı yönünden değerlendirildiğinde; grup 2'de grup 1'e göre artma, 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 ( $P>0.05$ ).

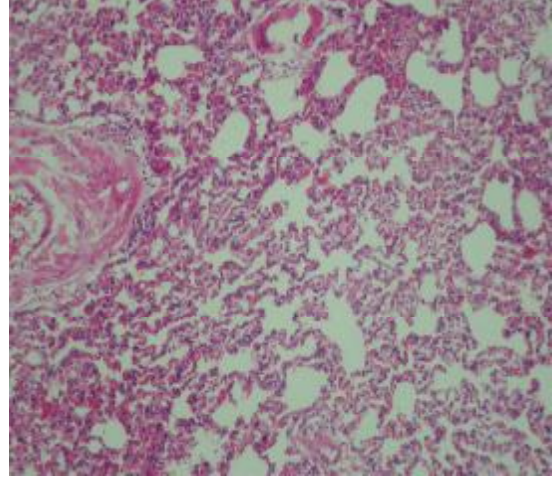
Gruplar akciğer dokusundaki alveolar septal kalınlaşma yönünden incelendiğinde; grup 2'de grup 1'e göre artma, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $P<0.05$ ), grup 3 ve grup 4'de, grup 2'ye göre azalma anlamlı bulunmadı ( $P>0.05$ ).

Gruplar akciğer dokusundaki konjesyon yönünden kıyaslandığında; grup 2'de grup 1'e göre artma, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $P<0.05$ ), grup 3 ve grup 4'de, grup 2'ye göre azalma anlamlı bulunmadı ( $P>0.05$ ).

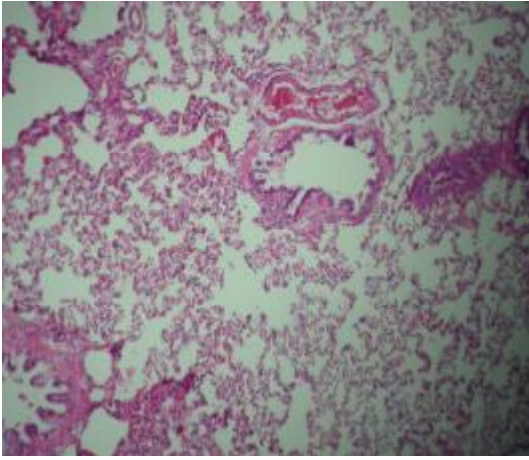
Gruplar akciğer hemorajisi yönünden karşılaştırıldığında; grup 2'de grup 1'e göre artma, istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ( $P<0.05$ ), grup 3 ve grup 4'de, grup 2'ye göre azalma anlamlı bulunmadı ( $P>0.05$ ).



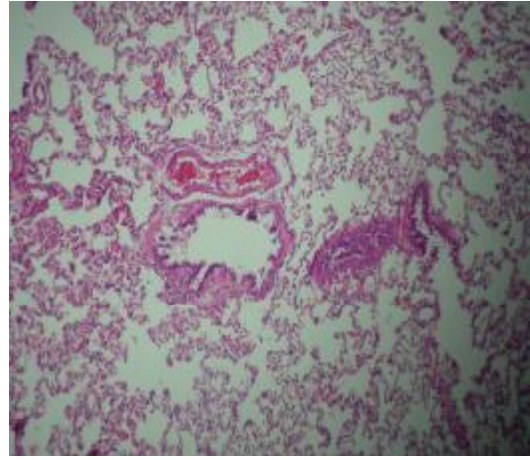
**Resim 2 . Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun 40X histopatolojik görünümü (sham grubu)**



**Resim 3. Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun 40X histopatolojik görünümü (sepsis grubu)**



**Resim 4. Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun 40X histopatolojik görünümü (Erdostein grubu)**



**Resim 5. Deneğin sakrifiye edilmesinden hemen sonra alınan akciğer dokusunun 40X histopatolojik görünümü (NAC grubu)**

## 5. TARTIŞMA

Sepsiste erken tanı ve etkin bir tedavi, mortalite ve morbiditenin azaltılması açısından önemlidir. Sepsiste bakteriyel toksinlerin sitokin salınımına neden olduğu ve mediyatör sistemleri aktive ettiği gösterilmiştir. Özellikle Gram (-) bakterilerden salınan endotoksin, koagülasyon ve kompleman kaskadını aktive ederek TNF, IL-1, IL-6, IL-8 ve trombosit aktivatör faktör (PAF) gibi sepsisin klinik tablosunu oluşturan mediyatörlerin serbestleşmesine neden olmaktadır. Bu sitokinlerin en önemlilerini TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 oluşturur (49).

Tavşan ve farelerdeki prelinik çalışmalarda endotoksemi öncesi veya hemen sonrası uygulanan IL-1 reseptör antagonistlerinin mortaliteyi azalttığı gösterilmiştir. Endotoksemik veya bakteriyemik hayvanlarda TNF nötralizasyonu için monoklonal anti-TNF antikolar ve TNF reseptör füzyon proteinleri kullanılarak organ yetmezliğinde düzelme ve mortalitede azalma bildiren çalışmalar mevcuttur (50).

Serbest radikaller, sitokinlerin sentezini tetikleyerek sepsiste rol alırlar. Yapılan çalışmalarda sepsiste ortaya çıkan serbest oksijen radikallerinin etkilerini nötralize etmek için uygulanan antioksidan ajanlardan alfa tokoferol analoglarının sepsiste sağ kalımı uzattığı gösterilmiştir (51). 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 oluşturdukları değişimler ile ilgili çalışmalar sürerken, günümüzde oksidan ajanların rolünün her geçen gün biraz daha anlaşılmasıyla, antioksidan ajanların sepsis tedavisinde yer alabileceği düşünülmektedir.

Septik şokta dokudaki mikrosirkülatuar dolaşım bozukluğu nedeniyle oksijen kullanımını azalır ve aşırı inflamatuvar yanıt oluşur. Son çalışmalarda septik şokun tedavisinde antiinflamatuvar özellikleri de olan birkaç vazodilatör ajanın faydalı etkileri bildirilmiştir. Özellikle antioksidan bir ajan olan NAC'ın septik şoklu hastalarda kardiyak performansı düzelttiği ve hepatosplanknik perfüzyonu düzelterek karaciğer fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (52). Hsu ve ark. ratlarda yaptıkları çalışmada, endotoksin şokuna bağlı organ yetmezliğinde NAC tedavisinin inflamasyon belirteçlerinden plazma TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-10 salınımını baskıladığı, organ yaralanması belirteçlerinden kan üre azotu (BUN), kreatin (Cre), laktik dehidrogenaz (LDH), kreatin fosfokinaz (CPK), alanin transferaz (GPT), aspartat transferaz (GOT) düzeyini düşürdüğü sonucuna vardı. NAC'ın bu faydalı etkisi ile karaciğer, kalp ve böbrek hasarını en aza indirdiği iddia edildi (53).

Çalışmamızda ratlarda deneysel 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 deneysel 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 (54). Hayashi ve ark. yaptıkları çalışmada Erdosteine'in, intratrekeal lipopolisakkaritle tedavi edilen farelerde nötrofil infiltrasyonunu önleyerek, oksidatif patlamayı baskılayarak antioksidan etki gösterdiğini bildirmişlerdir (55). Vagliasindi ve ark. yaptıkları çalışmada, Erdosteine'in akciğer dokusunda antioksidan etkiye sahip olan alfa-1 antitripsin düzeyinde artışa neden olduğunu göstermiştir (56). Fadillioglu ve ark. tarafından yapılan bir başka deneysel çalışmada ise, ratlarda eritrosit ve plazmada, oksidan (NO) ve antioksidan durum (SOD, Katalaz, GSH-Px) ile Doksurobisin toksisitesine karşı Erdosteine tedavisinin etkinliği araştırıldı. Bu çalışmada, Erdosteine 10 mg/kg/gün dozunda uygulandı. Sonuç olarak Doksurobisin uygulanmasının eritrositlere ilave olarak plazmada lipid peroksidasyonunun artışına neden olduğu, Erdosteine tedavisinin bilhassa SOD, GSH-Px, Katalaz, gibi antioksidan enzimlerin oksidatif hasarlanmasının önlenmesine yardım ettiği tespit edildi (57).

Hücrel antioksidan bir ajan olan NAC'ın sepsis ve SIRS'lı hastalarda kullanımı insan, hayvan ve laboratuvar çalışmalarında (sitopatojenik serbest oksijen radikallerine glutatyon ile birlikte olumlu etkisi) gösterilmiştir (58).

Ortolani ve ark. yaptığı bir çalışmada septik şokun erken fazında serbest radikal hasarının önlenmesinde GSH ve NAC kullandı. Çalışmada GSH ilave edilen yüksek doz NAC tedavisinin, erken septik şoklu hastaların peroksidatif stresini anlamlı bir şekilde azalttığı bulundu (59). Yapılan başka bir klinik çalışmada, erken septik şokta serbest oksijen radikallerinin yaptığı hasara karşı antioksidanların (NAC, GSH), koruyucu bir role sahip olup olmadıkları septik şoklu 30 hastada araştırıldı. Bu hastaların hepsine antibiyotik, parantral nutrisyon, sıvı desteği uygulandı. Sonuçta GSH'na eklenen yüksek doz NAC uygulamasının septik şoklu hastalarda peroksidatif stresi anlamlı oranda azalttığı görüldü (60).

Heller ve ark. sepsis ve SIRS tanısı almış konak defansı zayıf olan 30 hastada yaptıkları klinik çalışmada, BAL sıvısındaki nötrofildeki oksidatif patlama aktivitesini inceledi. Çalışmada yüksek doz (1.gün 6 gr, 2.gün 12 gr, 3 ve 4.gün 18 gr) NAC verilmesinden sonra fagositotik aktivitede belirgin artma izlenirken, PMNL'deki respiratuvar

patlama aktivitesinde düşme görüldü. Bu bulgular ışığında yüksek doz NAC tedavisinin sepsis gibi konak savunması bozulmuş kritik hastalarda granülosit fonksiyonunu olumlu etkilediği ileri sürüldü (61). Oreste ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, NAC verilen erken sepsisli hastalarda plazma MDA seviyesi NAC tedavisi almayan gruba göre anlamlı düzeyde düşük bulundu (62). Ratlarda yapılan bir başka deneysel çalışmada, antioksidan ajan vermekle plazma MDA düzeylerinde anlamlı ölçüde düşme saptandı (63).

Alkan ve ark. hemorajik şokun neden olduğu akut akciğer yaralanmasında NAC ve Erdoste'in koruyucu etkilerini araştırdığı deneysel hayvan modelinde, akciğer dokusundaki MDA ve L-gamma-glutamyl-L-cysteinyl-glycine düzeyleri ile BAL sıvısındaki alveolar makrofaj ve nötrofil sayıları değerlendirildi. Erdoste'in tedavisi alan grupta, hemorajik şok ve NAC grubuna göre serum ve doku MDA düzeylerinde belirgin düşme saptandı. Bu sonuçlar ışığında hemorajik şokun indüklediği akciğer hasarında Erdoste'in koruyucu etkisi olduğu ileri sürüldü (64).

Çalışmamızda, NAC grubu plazma MDA değerleri açısından sepsis grubuyla karşılaştırıldığında plazma MDA seviyesinde düşme NAC grubunda anlamlı bulundu. Buna karşılık Erdoste'in tedavisinin plazma MDA değerleri sepsis grubuna göre daha fazla düşürmekle birlikte bunun istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptandı. Erdoste'in plazma MDA üzerine etkisinin yetersiz bulunması verilen doz ve Erdoste'in 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 deneysel sepsis modelinde, kronik NAC kullanımının akciğerde MPO aktivitesi ve lipit peroksidasyonunu azalttığı ve apoptozis azalmasını engellediği görüldü (65). Bleomisine bağlı akciğer fibrozisi üzerine NAC ve Erdoste'in etkilerinin ratlarda karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise, NAC ve Erdoste'in akciğer dokusundaki MPO aktivitesi ile NO ve MDA seviyelerindeki artmayı ve glutatyon peroksidazdaki azalmayı engellediği görüldü. Bu deneysel çalışmada NAC ve Erdoste'in Bleomisine bağlı akciğer fibrosisini önlemedeki antioksidan etkileri birbirlerine benzer olarak bulundu (66). Deneysel olarak ratlarda Bleomisin'in neden olduğu akciğer fibrozisi üzerine Erdoste'in etkisi ile ilgili başka çalışmada ise, Erdoste'in akciğerdeki inflamatuvar sürecin gerilemesinde etkili olduğu tespit edildi (67).

Çalışmamızda, akciğer doku MDA düzeyleri incelendiğinde, NAC ve Erdoste'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 deneysel çalışmada, insanlarda sepsis tablosuna benzeyen bir durum olan endotoksemide NAC'ın sistemik, pulmoner, ve hepatosplanknik alanda gaz değişimi ve metabolizmaya etkilerini araştırdı. Çalışma sonucunda NAC tedavisinin GSH konsantrasyonunda artışa sebep olduğu bulundu. Buna karşılık NAC'ın sistemik, pulmoner ve hepatosplanknik alanda oksijen değişimi ve metabolizma üzerine etkisiz olduğu saptandı (68).

Yapılan bazı çalışmalarda ekstraselüler GSH eksikliği ile oksidatif stresin akciğer dokusunda fibrozise neden olabileceği ve bu durumun yüksek doz NAC tedavisiyle engellenebileceği bildirilmiştir. NAC bu durumda etkisini oksidatif stresi kısmen azaltarak ve beraberinde ekstraselüler GSH düzeyindeki azalmayı engelleyerek gösterir. Fakat intraselüler GSH düzeyine yüksek doz NAC'ın etkisi bilinmemektedir (69).

Behr ve ark. akciğer fibrozisine bağlı BAL sıvısındaki intraselüler glutatyon NAC'ın etkinliğini klinik çalışma ile araştırdı. Çalışmada günde 3 kez 600 mg oral NAC tedavisi uygulanan hastalarla sigara içicisi olmayan sağlıklı insanlar karşılaştırıldığında, NAC'ın BAL sıvısındaki intraselüler glutatyon miktarında az bir miktarda artış ve oksidatif strese ılımlı bir azalma yaptığı bildirildi (69).

Victor ve ark. deneysel olarak farelerde oluşturulan ölümcül endotoksik şok modelinde peritoneal makrofaj ve lenfositlerin indirgeyici durumuna antioksidan olarak NAC'ın etkilerini araştırdı. Çalışmada farelere LPS uygulamasından 30 dk. sonra verilen 150 mg/kg i.p NAC tedavisinin, ROS, TNF- $\alpha$ , MDA düzeyi, ve okside redükte glutatyon oranını azalttığı saptandı. Çalışmada, NAC'ın farelerin hayatta kalma sürelerini artırdığı gösterildi (70). Çetinkaya ve ark.'nın yaptığı Methotrexat'a bağlı oksidatif karaciğer hasarında NAC tedavisinin etkinliğinin araştırıldığı çalışmada, NAC tedavisinin glutatyon seviyelerinde artma, MDA ve MPO seviyelerinde ise azalma yaptığı görüldü. Bu veriler ışığında NAC'ın Methotrexat tedavisi alan hastalarda hepatotoksisteyi önlemede terapötik ajan olarak kullanılabileceği öne sürüldü (71).

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 daha fazla düşürmesi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı. Erdosteine tedavisinin eritrosit GSH değerlerini düşürmede etkisinin beklenildiğinden az olması, sepsisin şiddetine ve Erdosteine

dozunun yetersiz olmasına bağlandı. Erdostein'in farklı dozlarda uygulanacağı yeni çalışmalarla desteklenmesi daha olumlu sonuçlar doğurabilir.

Demiralay ve ark.'nın yaptığı deneysel çalışmada ise nikotine bağlı akciğer hasarında inflamasyon belirteçlerinden olan MPO ve TNF- $\alpha$ 'nın rolü araştırıldı. Bu amaçla i.p nikotin enjeksiyonu sonrası ratların pulmoner epitelyal hücrelerinde apoptozis sıklığı, nikotine bağlı akciğer toksisitesi üzerine NAC, Erdostein, Vit.E gibi bilinen 3 antioksidan ajanın koruyucu etkinliği araştırıldı. Bu çalışmada dişi Wistar cinsi ratlar 7 gruba ayrılarak incelendi. Çalışmada Vit.E'nin akciğer histolojisi üzerine koruyucu etkisi NAC ve Erdostein'den daha üstün bulundu. Vit.E, NAC ve Erdostein ile tedavinin nikotine bağlı pulmoner epitelyal hücre apoptozis oranını azalttığı saptandı. Bu 3 antioksidan ajan arasında apoptozis oranlarında hiçbir anlamlı farklılık gözlenmedi. Her 3 antioksidan ajan da akciğer MPO aktivitesi ve TNF- $\alpha$  düzeyindeki artışlarda azalma yaptı. Erdostein'in Lokal TNF- $\alpha$  seviyesi ve akciğer MPO aktivitesi artışları üzerine etkileri NAC ve Vit. E'den daha zayıf tespit edildi. Çalışma sonucunda elde edilen bu bulgular ışığında NAC ve Erdostein'nin nikotine bağlı pulmoner hücre apoptosisinde Vit. E kadar etkili olabileceği öne sürüldü.(72)

ÇLP yöntemi ile yapılan deneysel sepsis modelinde apoptotik akciğer yaralanmasında NAC tedavisinin rolünün araştırıldığı çalışmada artmış MPO düzeylerin NAC tedavisi sonrası azaldığı tespit edildi. (73).

Gürel ve ark. renal I/R modelinde nötrofil infiltrasyonu ve lipid peroksidasyonunda Erdostein'in etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, MDA düzeyi ile MPO, XO, Katalaz (CAT) ve SOD aktiviteleri değerlendirildi. Erdostein tedavisi ile doku MPO ve XO aktivitelerinde düşme görüldü. Bu veriler Erdostein'in I/R injurisinin neden olduğu renal doku harabiyetini XO aktivitesi ve nötrofil sekestrasyonunun inhibisyonu yolu ile en aza indirdiğini gösterdi (74). Deneysel I/R modelinde glutatyondaki düşme, MDA ve MPO'daki artmanın, NAC tedavisi ile azaldığı bildirildi (75). Vit.E, NAC ve Erdostein'in bir başka deneysel çalışmada, Nikotine bağlı akciğer hasarında, her üç antioksidan ajanın da akciğerde MPO aktivite ve TNF- $\alpha$ 'nın artışını önemli olarak azalttıkları saptandı. Akciğer MPO aktivite ve lokal TNF- $\alpha$  seviyelerindeki artışlar üzerinde Erdostein'in NAC veya Vit.E 'den daha zayıf etkili olduğu bildirildi (76).

Çalışmamızda, hem NAC hem de Erdostein 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 Erdostein'in etkilerini araştırdıkları çalışmada, BAL sıvısı analizi, histolojisi, akciğer dokusu, SOD biyokimyasal

ölçümleri ile birlikte antioksidan ajan olarak GSH, lipid peroksidasyonu için MDA, Nitrat ve Nitrit düzeyleri incelendi. Çalışma sonucunda, Erdosteine'in BAL sıvısında nötrofil içeriği ve total hücre sayısında artışları önlediği bulundu. Ayrıca antioksidan özelliği ile nötrofil toplanmasını engellediği görüldü (77).

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.

Hipobarik-hipoksiye bağlı pulmoner hipertansiyonda Erdosteine'in etkilerinin araştırıldığı deneysel çalışmada, Erdosteine'in hipoksiye maruz kalmış ratların pulmoner endotelyumunu ve akciğer parankimini koruduğu, bunu da inflamasyonu engelleyerek yaptığı saptandı. Çalışmada ratlara 2 hafta boyunca 20 mg/kg/gün Erdosteine oral olarak verildi (78).

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 (79).

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 deneysel sepsis modelinde, yüksek doz NAC verilen gruplarda alveolar ve interstisyel hemoraji ile ödem ve lökosit infiltrasyonu gibi histopatolojik bulguların gerilediği gözlemlendi (73).

Demiralay ve ark. endotoksine bağlı akciğer yaralanmasında apoptozis regülasyonu üzerine NAC ve Erdosteine'in etkilerini araştırdı. Çalışmada ayrıca akciğerdeki apoptozis üzerine TNF- $\alpha$ 'nın ve LPS endotoksininin ratlara intratrakeal uygulamasından sonra akciğer epitelyal hücrelerindeki apoptozis sıklığına etkileri karşılaştırılmalı olarak araştırıldı. Dişi Wistar cinsi ratlara oral yoldan Erdosteine 10-500 mg/kg ve NAC 10-500 mg/kg 3 gün süreyle günde tek doz verildi. Ratlar LPS uygulanmasından 24 saat sonra sakrifiye edildi. 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. Buna karşılık NAC'ın 500 mg/kg dozunda apoptozis regülasyonu üzerine herhangi bir anlamlı etki görülmedi. TNF- $\alpha$ 'nın lokal üretim düzeyine her iki antioksidan ajanın da anlamlı bir etkisi saptanmadı. Çalışma sonucunda Erdosteine'in akut letal akciğer yaralanmasında terapötik bir ajan olarak kullanılabilmesi öne sürüldü (80).

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. Benzer bir çalışmada akciğer toksisitesine karşı 10 mg/kg/gün dozda uygulanan Erdosteine'in koruyucu etkisi bulunmadı. Aynı çalışmada 300-500 mg/kg dozlarda uygulanan Erdosteine'in akciğer epitelyal hücrelerde apoptozis oranlarındaki azalma yaptığı öne sürüldü (79). 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

Deneysel sepsis modelinde antioksidan ajan olan NAC ve Erdosteinin 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 Erdosteinin 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 Erdosteinin daha yüksek dozlarda uygulanması önerilebilir. NAC ve Erdostein'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 Erdostein'in önemi, etkinliğı ve etkin dozu değerlendirilecektir.

Gelecekte sepsise bağılı ölümlerin azaltılması, sepsise neden olan etkenin öncelikle ortadan kaldırılması yanında fizyopatolojinin iyi anlaşılması ve bu süreçte etkili ilaçların geliştirilmesiyle mümkün olacaktır. Yakın zamanda bu konuda kapsamlı çalışmaların yapılması ve yeni antioksidan tedavilerin klinik uygulamaya girmesiyle sepsis tedavisinde daha ileri adımlar atılacağı ümit edilmektedir.

## 7. ÖZET

### **Deneyisel Sepsis Modelinde Glutasyon, Myeloperoksidaz, Plazma Ve Doku MDA Düzeylerine N-Asetilsistein Ve Erdosteine'in Etkilerinin Karşılaştırılması**

**Amaç:** Deneyisel sepsis modelinde antioksidan bir ajan olan NAC ve Erdosteine'in serbest oksijen radikalleri ve plazma düzeylerine olan etkilerini belirlemektir. NAC ve Erdosteine'in sepsisin neden olduğu organ fonksiyon bozuklukları ve akciğer doku hasarını önlemedeki rolü araştırıldı.

**Materyal ve metod:** Çalışmada Sprague-Dawley cinsi 40 adet rat kullanıldı. Ratlar randomize 10'arlı gruplara ayrıldılar. Ratlarda çekum ligasyon perforasyon (ÇLP) yöntemiyle sepsis oluşturuldu. Sham grubu, sepsis grubu, sepsis + NAC (20 mg/kg/gün) ve sepsis + Erdosteine (20 mg/kg/gün) şeklinde gruplar oluşturuldu. NAC rubunda ilaçlar, ÇLP'den sonra, 0. 8. ve 16. saatte verildi. Erdosteine grubunda ise, 0.ve 12. saatte verildi. 24. saatte , lökosit, eritrosit GSH, lökosit MPO ve plazma MDA değerlerinin tayini için kan örnekleri alındı. Ayrıca histopatolojik inceleme ve doku MDA tayini için, deneklerin ölümünü takiben akciğerden doku örnekleri alındı.

**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 lokosit 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 ( $P>0.05$ ). 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 3ve grup 4'de, grup 2'ye göre azalma anlamlı değildi ( $P>0.05$ ).

**Sonuç:** Deneysel sepsis modelinde antioksidan bir ajan olan NAC' ve Erdosteine'in düşük doz uygulanmasında eritrosit GSH, lökosit MPO düzeylerine, akciğer fonksiyonlarına, plazma ve doku MDA seviyelerine olumlu etkileri mevcuttur. Düşük doz NAC ve Erdosteine tedavisinin, sepsise bağlı organ fonksiyon anormalliklerini azaltmasına rağmen, bu etki histopatolojik olarak akciğer dokusuna yansımamıştır. Daha kapsamlı ve yeni çalışmalarla değişik dozlarda uygulanan NAC ve Erdosteine'in sepsis tedavisinde önemi daha iyi anlaşılacaktır.

## 8. SUMMARY

### COMPARISON OF THE EFFECTS OF ERDOSTEINE AND N-ACETYLCYSTEINE ON THE LEVELS OF GLUTATHIONE, MYELOPEROXIDASE (MPO), PLASMA AND TISSUE MDA IN EXPERIMENTAL SEPSIS MODEL.

**Objectives:** This study was designed to determine the effects of NAC and erdosteine as antioxidant agents on the free oxygen radicals and their plasma levels.

**Materials and methods:** In this study, 40 Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups as sham (n = 10), sepsis (n = 10), sepsis + NAC (20 mg/kg/24 h, n = 10) and sepsis + erdosteine (20 mg/kg/24 h, n = 10) groups. Experimental sepsis model were performed by a cecal ligation and perforation (CLP). NAC was administered at 0, 8 and 16. hours after CLP. Erdosteine was administered at 0. and 12. hours after CLP. The blood samples were taken at the 24. hours to determine the levels of leucocyte and erythrocyte GSH, leucocyte MPO and plasma MDA. And the lung tissue samples were taken also to determine tissue injury and MDA and histopathological investigation after decapitation.

**Findings:** The leucocyte levels were significantly increased in group 3 according to the second group ( $P < 0.05$ ). In the 4. group, leucocyte levels were increased according to the second group, but not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

The erythrocyte GSH levels significantly increased in group 4 according to the second group ( $P < 0.05$ ). In the 3. group, erythrocyte GSH levels were increased according to the second group, but not statistically significant ( $P > 0.05$ )

The leucocyte MPO levels significantly decreased in group 4 according to the second group ( $P < 0.05$ ) but not statistically differences between together ( $P > 0.05$ ).

The Plasma MDA levels significantly decreased in group 4 according to the second group ( $P < 0.05$ ). In the 3. group, plasma MDA levels decreased according to the second group but not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

The lung tissue MDA levels significantly decreased in groups 3 and 4 according to the second group ( $P < 0.05$ ) but not statistically differences between together ( $P > 0.05$ ).

The lung tissue PMNL levels significantly decreased in group 4 according to the second group ( $P < 0.05$ ). In the 3. group, PMNL levels were decreased according to the second group, but not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

In the histopathological investigation of lung tissue there was no statistically significant differences between groups 3 and 4 according to the second group about alveolar septal hypertrophy, congestion, haemorrhage)

**Results:** In experimental sepsis model, by the administration of NAC and erdosteine as antioxidant agents at lower doses many meaningful positive effects were detected on the levels of erythrocyte GSH, leucocyte MPO, respiration function, plasma and tissue MDA. In spite of the low dose NAC and erdosteine therapies decrease the organ function abnormalities, these effects were not reflected to the histopathological investigations. These findings suggest that NAC and Erdosteine could be a possible therapeutic agent for sepsis and its mortality. However, further studies are needed to elucidate the effects of these drugs at higher doses.

## 9. KAYNAKLAR

1. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International sepsis definitions conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-56.
2. 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.
3. Vincent JL, Abraham E, Anane D, et al. Reducing mortality in sepsis: New directions. *Crit Care* 2002;6(3) 1-18.
4. Bone R. J. The sepsis syndrome. Definition and General Approach to Management. *Clinics in Chest Medicine* 1996;17(2):175-81.
5. Uzun Ö, Akalın HE, Hayran M, Ünal S. Factors influencing prognosis in gram-negative bacteremia organism: Evaluation of 448 episodes In a Turkish University Hospital. *Clin Infect Dis* 1992;15:866-73.
6. Pittet DL, Woolson N, Wenzel RP. Microbiological factors influencing the outcome of nosocomial bloodstream infections: a 6-year validated, population-based model. *Clin Infect Dis* 1997; 24:1068-72.
7. Doğanay M. Nozokomiyal sepsisin önemi ve tanımlar. *Hastane infeksiyonları Dergisi* 1998; 2:179-181-83.
8. Abraham E, Effect of high-dose glucocorticoid therapy on mortality in patients with clinical signs of systemic sepsis. The veterans administration systemic sepsis cooperative study Group. *N Engl J Med* 1987; 317(11):659-65.
9. Bochud PY, Bonten M, Marchetti O, Calandra T. Antimicrobial therapy for patients with severe sepsis and septic shock: An evidence-based review. *Crit Care Med* 2004 ;32(11):495-512.
10. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003;348(2):138-50.
11. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest* 1997;112(1):235-43.
12. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29(7):1303-10.
13. Otero-Anton E, Gonzalez-Quintela A, Lopez-Soto A, Lopez-Ben S, Llovo J, Perez LF. 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.
14. Bone RC. Gram-negative sepsis: Background, clinical features and intervention. *Chest* 1991;100(3):802-8.

**15.**Wheeler AP, Bernard GR. Treating patients with severe sepsis. *N Engl J Med* 1999;340(3):207-14.

**16.**Wang JE, Jorgensen PF, Almlof M, et al. Peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* induce tumor necrosis factor alpha, interleukin 6 (IL-6) and IL-10 production in both T cells and monocytes in human whole blood model. *Infect Immun* 2000;68:3965-70.

**17.**Van Gorp EC, Suharti C, ten Cate H, Dolmans WM, van der Meer JW, ten Cate JW, et al. Infectious diseases and coagulation disorders. *J Infect Dis* 1999;180(1):176-86.

**18.**Fourrier F, Chopin C, Goudemand J, Hendrycx S, Caron C, Rime A, et al. Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. *Chest* 1992 ;101(3):816-23.

**19.**Wenzel RP, Pinsky MR, Ulevitc RJ, Young L. Current understanding of sepsis. *Clin Infect Dis* 1996; 22(3): 407-12.

**20.**Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. Septic shock: pathogenesis. *Lancet* 1991;338(8769):732-36.

**21.**Levi M, ten Cate H, Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999 ;341(8):586-92

**22.**Harris RL, Musher DM, Bloom K, Gathe J, Rice L, Sugarman B, et al. Manifestations of Sepsis 1987 ;147(11):1895-906.

**23.**Young LS. Sepsis syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 4<sup>th</sup> ed. New York: Churchill Livingstone, 1995; 690-705

**24.**Orlikowski D, Sharshar T, Anane D. The brain in sepsis. *Advances in Sepsis* 2003;3:8-14.

**25.**Young LS. Sepsis syndrome. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, (eds). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5<sup>th</sup> ed. Pennsylvania : Churchill Livingstone, 2000; 806-19.

**26.**Martin MA, Silverman HJ. Gram-negative sepsis and the adult respiratory distress syndrome. *Clin Infect Dis* 1992; 14(6):1213-28.

**27.**Franson TR, Hierholzer WJ, LaBrecque DR. Frequency and characteristic of hyperbilirubinemia associated with bacteremia. *Rev infect Dis* 1985;7(1):1-9.

**28.**Bellissant E, Annane D. Effect of hydrocortisone on phenylephrine mean arterial pressure dose-response relationship in septic shock. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68(3):293-303.

**29.**Akova M, Sungur C, Uzun Ö, Hayran M, Gür D, Akalın HE. Hastane infeksiyonu etkeni oportunist gram-negatif çomaklar. 1. Türk Hastane İnfeksiyonu Kongresi Kitabı 1992:32-6.

- 30.** Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, Larosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Eng J Med* 2001;344(10):699-709.
- 31.** Cotgreave IA. N-Acetylcysteine: pharmacological considerations and experimental and clinical applications. *Adv Pharmacol.* 1997;38:205-27.
- 32.** Van Surell C, Boczkowski J, Pasquier C, Du Y, Franzini E, Aubier M. Effects of N-acetylcysteine on diaphragmatic function and malondialdehyde content in Escherichia coli endotoxemic rats. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146(3):730-734.
- 33.** G. Titti, A. Lizzio, C. Temrini, P. Negri, S. Fazio 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. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 2000;38(8):402-7.
- 34.** Braga PC, Dal Sasso M, Sala MT, Gianelle V. Effects of erdosteine and its metabolites on bacterial adhesiveness. *Arzneimittelforschung* 1999 ;49(4):344-50
- 35.** Marzatico M, Cafe C. Oxygen radicals and other toxic metabolites as key mediators of the central nervous system tissue injury. *Funct Neurol* 1993;8(1):51-66.
- 36.** Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and toxic properties of phagocytes. *Ann Int Med* 1980; 93(3): 480-9.
- 37.** Sauthard JH, Marsh DC, McAnulty JF, Belzer FO. Oxygen- derived free radical damage in organ preservation: Activity of superoxidase dismutase and xantine oxidase. *Surgery.* 1987; 101(5): 566-70.
- 38.** Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. 1991; 161(4): 488-503.
- 39.** Champe PC, Harvey RA. Eds. Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E. *Biyokimya. Nobel Tıp kitabevleri.* İstanbul. 1997;2:115-17
- 40.** Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Konya. Mimoza* 1995; 1:32-43.
- 41.** Freeman BA, Cropo JD. Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982;47(5): 412-26.
- 42.** Halliwell Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994;344(8924):721-4.
- 43.** Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM, Thevenin M. Age-correlated modifications of copper-zinc superoxide dismutase and glutathione-related enzyme activities in human erythrocytes. *Clin Chem* 1992;38(1):66-70.

- 44.**Fraternale A, Paoletti MF, Casabianca A, Oiry J, Clayette P, Vogel JU, et al. Antiviral and immunomodulatory properties of new pro-glutathione (GSH) molecules. *Curr Med Chem* 2006;13(15):1749-55.
- 45.**Halliwell B, Gutteridge JM. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. *Lancet* 1984;1(8391):1396-7.
- 46.**Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421-431.
- 47.**Golowich SP, Kaplan SD. *Methods in enzymology, vol II.* New York, Aca. Press Inc 1955:769.
- 48.**Mrozek JD, Smith KM, Bing DR, Meyers PA, Simonton SC, et al. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1058-65
- 49.**Kansu E. Sepsis fizyopatolojisinde güncel kavramlar. Yoğun bakım enfeksiyonları (Eds. Köksal İ, Çakar N, Arman D). *Bilimsel Tıp yaynevi.* Ankara. 2005;381-393.
- 50.**Esen F. Sepsiste antimikrobik dışı tedavi yaklaşımları (Eds. Köksal İ, Çakar N, Arman D). *Bilimsel Tıp yaynevi.* Ankara. 2005;453-466.
- 51.**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.
- 52.**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.
- 53.**Hsu BG, Lee RP, Yang FL, Harn HJ, Chen HI. Post-treatment with N-acetylcysteine ameliorates endotoxin shock-induced organ damage in conscious rats. *Life Sci.* 2006; **79**(21):2010-6
- 54.**Nadiger HA, Mathew CA, Sadasivudu B. Serum malondialdehyde levels in cigarette smokers. *Atherosclerosis* 1987;64(1):71-3.
- 55.**Hayashi K, Hosoe H, Kaise T, Ohmori K. Protective effect of erdosteine against hypochlorous acid-induced acute lung injury and lipopolysaccharide-induced neutrophilic lung inflammation in mice. *J Pharm Pharmacol* 2000;52(11): 1411-16.
- 56.**Vagliasindi M, Fregnan GB. Erdosteine protection against cigarette smoking-induced functional antiprotease deficiency in human bronchiolo-alveolar structures. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1989;27(5):238-41.
- 57.**Fadillioglu E, Erdogan H. Effects of erdosteine treatment against doxorubicin-induced toxicity through erythrocyte and plasma oxidant/antioxidant status in rats . *Pharmacol Res* 2003;47(4):317-22.
- 58.**Henderson A, Hayes P. Acetylcysteine as a cytoprotective antioxidant in patients with severe sepsis: Potential new use for an old drug. *Australia Ann Pharmacother* 1994; 28(9): 1086-88.

- 59.**Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR, Moraldi E, Novelli GP. Glutathione and N-acetylcysteine in the prevention of free-radical damage in the initial phase of septic shock. *Recenti Prog Med* 2002;93(2):125-9.
- 60.**Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR, Moraldi E, Cantini Q, Novelli G. The effect of glutathione and N-acetylcysteine on lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(6):1907-11.
- 61.**Heller AR, Groth G, Heller SC, Breikreutz R, Nebe T, Quintel M, et al. N-acetylcysteine reduces respiratory burst but augments neutrophil phagocytosis in intensive care unit patients. *Crit Care Med* 2001 ;29(2):272-6.
- 62.**Oreste O, Anna C, Angelo Raffaele De G, Elisa M, Qirina C, Gianpaolo N. The effects of Glutathione and NAC on Lipoperoxidative damage in patients with early septic shock. *Am J Respire Crit Care Med* 2000; 161(6): 1907-1911.
- 63.**Giyasettin B, Okkes Y, Sait C, Abdullah Y, Ferit M. G. Effects of certain micronutrients and melatonin on plasma lipid, lipid peroxidation and homocysteine levels in rats. *Archives of Medical Research* 2002; 33:515-519.
- 64.**Alkan A, Eroglu F, Eroglu E, Ergin C, Cerci C, Alsancak G. Protective effects of N-acetylcysteine and erdosteine on hemorrhagic shock-induced acute lung injury. *Eur J Emerg Med* 2006;13(5):281-5.
- 65.**Ozdulger A, Cinel I, Koksel O, Cinel L, Avlan D, Unlu A, et al. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model. *Shock* 2003;19(4):366-72.
- 66.**Yildirim Z, Kotuk M, Iraz M, Kuku I, Ulu R, Armutcu F, et al. 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.
- 67.**Sogut S, Ozyurt H, Armutcu F, Kart L, Iraz M, Akyol O, et al. Erdosteine prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *Eur J Pharmacol* 2004;494(2-3):213-20.
- 68.**Vassilev D, Hauser B, Bracht H, Ivanyi Z, Schoaff M, Asfar P, et al. Systemic, pulmonary, and hepatosplanchnic effects of N-acetylcysteine during long-term porcine endotoxemia. *Crit Care Med* 2004;32(2):525-32.
- 69.**Behr J, Degenkolb B, Krombach F, Vogelmeier C. Intracellular glutathione and bronchoalveolar cells in fibrosing alveolitis: effects of N-acetylcysteine. *Eur Respir J* 2002;19(5):906-11.
- 70.**Victor VM, Rocha M, De la Fuente M. N-acetylcysteine protects mice from lethal endotoxemia by regulating the redox state of immune cells. *Free Radic Res* 2003;37(9):919-29.
- 71.**Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Kantarceken B. N-acetylcysteine ameliorates methotrexate-induced oxidative liver damage in rats . *Med Sci Monit* 2006;12(8):BR274-8.

**72.**Demiralay R, Gursan N, Erdem H. The effects of erdosteine, N-acetylcysteine, and vitamin E on nicotine-induced apoptosis of pulmonary cells. *Toxicology* 2006 ;219(1-3):197-207.

**73.**Ali O, İsmail C, Oguz K, Leyla C, Dincer H, Ali U et al. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture- induced sepsis model *Shock* 2003;19(4): 366-372.

**74.**Gurel A, Armutcu F, Cihan A, Numanoglu KV, Unalacak M. Erdosteine improves oxidative damage in a rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Eur Surg Res* 2004 ;36(4):206-9.

**75.**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.

**76.**Rezan D, Nesrin G, Havva E. The effects of erdosteine, N-acetylcysteine, and vitamin E on nicotine-induced apoptosis of pulmonary cells. *Toxicology* 2005 ;219:197-20731

**77.**Boyaci H, Maral H, Turan G, Basyigit I, Dillioglugil MO, Yildiz F, et al. Effects of erdosteine on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *Mol Cell Biochem* 2006;281(1-2):129-37.

**78.**Uzun O, Balbay O, Comunoglu NU, Yavuz O, Nihat Annakkaya A, Guler S, et al. Hypobaric-hypoxia-induced pulmonary damage in rats ameliorated by antioxidant erdosteine. *Acta Histochem* 2006;108(1):59-68.

**79.**Jang YY, Song JH, Shin YK, Han ES, Lee CS. Depresant effects of ambroxol and erdosteine synthesis, granule anzyme release, and free radical production in rat alveolar macrophages activated by lipopolysaccharide. *Pharmacol Toxicol* 2003;92(4):173-9.

**80.**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.

## 10. TEŞEKKÜR

“Deneyisel Sepsis Modelinde Glutasyon, Myeloperoksidaz, Plazma Ve Doku MDA Üzerine N-Asetilsistein Ve Erdosteine’in Etkilerinin Karşılaştırılması” adlı uzmanlık tezimi hazırlamamda emeği geçen başta tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. Mehmet Gül’e, desteklerini hiç esirgemeyen ve yetişmemize vesile olan bölüm başkanımız Doç. Dr. Başer Cander’e ve hocalarım Doç. Dr. Adil Gökcalp, Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul Kafalı, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Ak, Yrd. Doç. Dr. Sadık Girişgin, Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Bayır, Uzm. Dr. Sedat Koçak, Uzm, Dr. Fahrettin Acar’a Acil Tıp Anabilim Dalı’nda çalışan, araştırma görevlisi arkadaşlarıma, acil servis personeline, istatistiksel analizlerde büyük yardımları olan Prof.Dr. Sait Bodur’a biyokimyasal çalışmalarımız için araştırma laboratuvarını kullanımımıza sunan Prof. Dr. Ali Ünlü’ye, Prof. Dr. İdris Akkuş’a ve biyokimyasal parametreleri manuel olarak çalışan Dr. Sami Erdem’e tez çalışmasını birlikte yürüttüğüm Dr.Abdüsselam Seydanoğlu’na, yardımlarından dolayı Dr. Ramazan Köylü, Dr. Halil Kaya’ya, bugünlere gelmem için hiçbir fedakarlıktan çekinmeyen anne ve babama, tez çalışmam sırasında desteğinden dolayı eşim Safiye’ye ve kızım K. Zülal Ayan’a teşekkür eder, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Murat Ayan