

## DeneySEL Septik Şok Modeli Oluşturulan Ratlarda Eritropoetin'in Karaciğer Dokusu Üzerine Etkisi

The Effects Of Erythropoietin On Liver Tissue In An Experimental Rat Model Of Septic Shock

Serdar ÖTER<sup>1</sup>, Adnan ŞAHİN<sup>1</sup>, Dilek BURUKOĞLU<sup>2</sup>, Emine SUTKEN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD, Eskişehir, Türkiye

<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji AD, Eskişehir, Türkiye

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Eskişehir, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 01.10.2014

Kabul Tarihi / Accepted: 20.11.2014

### ÖZET

**Giriş:** Sepsis, inflamasyon ve enfeksiyon tablolarına karşı verilen sistemik bir yanıttır. Yoğun bakım ünitelerindeki en önemli ölüm sebeplerindedir.

**Materyal-Metot:** Bu çalışmada ratlarda çekal ligasyon ve perforasyon modeli ile oluşturulan deneysel septik şok modeli kullanarak eritropoetin'in hepatik fonksiyonlar ve histolojik bulguları üzerindeki etkilerini araştırdık.

**Bulgular:** Eritropoetin uygulanan tedavi grubuna ait sıçanlarda tedavi sonrası AST ve ALT değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düzelme saptadık. Ayrıca eritropoetin ile tedavi edilen sıçanlardan karaciğerin histolojik yapısında istatistiksel olarak anlamlı düzelme saptadık.

**Sonuç:** Bu çalışmada septik şoktaki iskemi-perfüzyon hasarı ve inflamasyon tedavisinde eritropoetin kullandık. Veriler, septik şokun tedavisinde ve septik şoktan kaynaklanan karaciğer hasarında eritropoetin kullanımını önermektedir. Bu çalışmanın sonuçları, gelecekteki klinik çalışmaları teşvik edecektir. Eritropoetin, sepsis kaynaklı oksidatif hasardan organları korur gibi görünmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Eritropoetin, sepsis, fare, karaciğer

### ABSTRACT

**Background:** Sepsis is a systemic response that develops against infection and inflammation. These disorders remain the most important cause of mortality in intensive care units.

**Material-Methods:** In the present study, we used an experimental model of sepsis and septic shock by cecal ligation and perforation in rats to investigate the effects of erythropoietin on hepatic functions and liver histology.

**Findings:** After treatment, we found statistically significant improvement in AST and ALT values at Erythropoietin treatment group. Also statistically significant improvements were observed in histological findings of liver in rats treated with erythropoietin.

**Results:** In this study, we used erythropoietin to treat the septic shock and ischemia-perfusion injury and inflammation. Data suggest that erythropoietin for the treatment of septic shock, as well as the liver damage resulting from the septic shock. Results of this study should prompt future clinical studies. It seems likely that erythropoietin protects the organs against sepsis-induced oxidative organ injury.

**Key words:** erythropoietin, sepsis, rat, liver

## GİRİŞ

Sepsis, inflamasyon ve enfeksiyon tablolarına karşı verilen sistemik bir yanıttır. Yoğun bakım ünitelerindeki en önemli ölüm sebeplerinden- dir (1). Şok bulguları da bu tabloya eşlik ettiği durumlarda mortalite oranı artmaktadır (2). Sepsis ve septik şokta mortalite % 30-70 arasın- da değişmektedir (3).

Eritropoietin (EPO) 30,4 kDA moleküler ağırlığa sahip glikoprotein yapıda esas olarak böbrek- lerden salgılanan bir hormon olup, memelilerde eritropoezi düzenlediği uzun yıllardır bilinmek- tedir (4,5). EPO, renal peritübüler interstisyel hücreler, hepatositler ve kupffer hücreleri tara- fından sentezlenmektedir (4,6). Kemik iliği içe- risinde eritroid progenitör hücreleri uyararak eritrositlerin farklılaşmasını sağlar ve oksijen ta- şıma kapasitesini artırır. Ancak son yıllarda yapı- lan çalışmalarda anti-apoptotik ve anti-iskemik özelliklerinden dolayı genel olarak doku koru- yucu bir ajan olarak değerlendirilmektedir (7). EPO progenitör kök hücre gelişmesinde, hü- resel integritenin devamında ve angiogeneziste de etkilidir. Birçok çalışma eritrosit üretiminden öte beyin, böbrek, karaciğer ve kalp gibi doku- ları iskemi reperfüzyona bağlı oluşan hasarlarda korumada etkili olduğunu göstermiştir (8).

Bu çalışmada ratlarda çekal ligasyon ve perfo- rasyon modeli ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde rekombinant DNA teknolojisiyle geliştirilen bir hormon olan eritropoietinin he- patik fonksiyonlar üzerine septik şokun klinik, laboratuvar ve histolojik bulguları üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu deneysel çalışma Eskisehir Osmangazi Üni- versitesi etik kurul komitesinden onay alınarak Eskisehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya bölümü araştırma laboratuvarı, Fiz- yoloji bölümü araştırma laboratuvarı, ve Tıbbi Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Laboratu- varında "Guide for the Care and Use of Labora- tory Animals" prensipleri doğrultusunda hay- van hakları korunarak yapıldı.

**Hayvanlar ve Diyet:** Çalışmada; Eskişehir Os-

mangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alınarak TİCAM laboratuvarından elde edi- len ve ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen 24 adet Spraque- Dawley cinsi rat kullanıldı. Ratlar-da cinsiyet ayrımı gözetilmedi. Hayvanlar deney süresince standart laboratuvar koşullarında, oda sıcaklığında korundular, standart rat yemi ve musluk suyu ile beslendiler.

**Deneysel Protokol:** Tüm ratlara 12 saatlik aç- lığı takiben intraperitoneal 60mg/kg Ketamin Hidroklorür (parke Davis) ve 5mg/kg Xylazin (Bayer) anestezisi uygulandı. Anestezi derinli- ği; intraperitoneal enjeksiyondan 5 dk sonra bir dişli pensetle karın cildi sıkıştırılıp ağırlı uyarana verdiği yanıt kontrol edilerek tespit edildi.

Steril koşullarda steril malzemeler kullanılarak %10 luk povidon İyodin (Drog-san) temizliğini takiben 24 adet rat'a sol inguinal bölge derisine uygulanan insizyonla femoral arter ve femoral venleri izole edilerek pig tail 60 (polietilen) ka- teter vasıtası ile kateterize edildi. Femoral ven kateteri vena kavaya kadar ilerletilerek tespit edildi. Kanülasyon işlemi yapılmadan önce ve sonra, kanüller 100 İÜ/ ml heparin içeren fizyo- lojik serum solüsyonları ile yıkanarak tıkanma- ları önleildi. Kateterlerin ucu kapatılarak subku- tan tünel vasıtasıyla enseden çıkartıldı. Cerrahi prosedür ve takip esnasında hipotermiden ka- çınmak için bütün hayvanlar 36, 6 derecede ısı- tılmış cerrahi masada opere edildiler. Ratlarda deney sırasında mortalite gözlenmedi.

Ratlar randomize olarak üç gruba ayrıldıktan sonra kateterizasyon işleminden en geç 24 sa- atte olmak üzere;

**Grup 1 (Kontrol grubu):** Bu gruptaki 8 adet rat' a anesteziyi takiben mesane kanülasyonu uygu- landı. Postoperatif idrar takibi ile birlikte 14. sa- atten itibaren invaziv tansiyon ve EKG kayıtları alındı 5 dakika aralıklarla vital bulguları kayde- dildi. Kateterizasyon işleminden önce ve deney sonunda biyokimyasal ölçümler (işlem öncesi: Aspartat aminotransferaz 1 (AST1), Alanin ami- notransferaz 1 (ALT1), işlem sonrası: AST2, ALT2) için kan örnekleri alındı. Kanda ve karaciğer do- kusunda Melandialdehit (MDA) ölçümü için kan ve doku örnekleri alındı. Ratlar 24. saat sonun-

da aşırı ketamin anestezisi ile sakrifiye edildikten sonra histopatolojik inceleme için karaciğer dokusundan örnekler alındı.

*Grup 2 (Sepsis grubu):* Bu gruptaki 8 rat' a anesteziyi takiben laparotomi ve çekal ligasyon perforasyon (ÇLP) uygulandı. Mesane kanülasyonu uygulandı. Kan örnekleri birinci gruptakine benzer şekilde alındı. Postoperatif, 14. saatten itibaren invaziv TA takiplerinde 90 mmHg' nın altına tansiyon değerlerinin düşmesi veya ilk ölçülen tansiyon değerlerinden 40 mmHg ve daha fazla tansiyon düşmesi septik şok için anlamlı kabul edildi. 10 µgr/dk Salin infüzyonu başlandı. Ratlara 24 saatin sonunda 1. Gruptaki gibi kan ve doku örnekleri alınarak aşırı doz ketamin anestezisi altında sakrifiye edildi.

*Grup 3 (Tedavi grubu):* Bu gruptaki 8 rat'a 2. gruptaki gibi laparotomi çekal ligasyon perforasyon ve septik şok oluşturulduktan sonra kan örnekleri alındı. Çekal ligasyon perforasyon işleminden 60 dakika sonra 4000 IU/kg Eritropoetin subkutan yolla tek doz bolus verilerek hemodinamik yanıtları kaydedildi. Arter basınçları basınç transdüseri (Transpac IV, USA) ile ölçüldü.

Ratların invaziv arter basınçları ve kalp atım hızları Data Equationsystem (MP 100 Biopac USA) aracılığı ile monitörize edildi.

Başlangıç ve sonuç, hemogram ve biyokimyasal ölçümleri üniversitemizin hematoloji ve biyokimya bilim dallarında standart yöntemlerle uygulandı. Karaciğer dokusunda ve kanda MDA ölçümleri hastanemiz biyokimya anabilim dalında, karaciğer dokusundan alınan örneklerin histopatolojik incelemesi hastanemiz histoloji anabilim dalında değerlendirildi.

Ratların vücut ısıları rektal prop yardımıyla ölçülerek başlangıç ve sonuç değerleri kaydedildi.

### **Serum ve Dokuda Melandialdehit (MDA) Ölçümü**

Doku örneklerinin her biri hassas terazile tartılarak 0,15 Mol KCL solüsyonu içinde 1:10 homojenize edilmiştir. Homojenizatlar 4000 rpm'de 10 dk., +4°C'de santrifüj edilerek supernatantlarda MDA ölçümü gerçekleştirildi. 0,4 ml superna-

tant başına 1,5 ml TBA (%0,08' lik ph:5,5), 1,5 ml asetik asit (%20'lik ph:3.5) ve 0,2 ml %8.1' lik sodyum dodesil sülfat eklenerek karıştırılmıştır. MDA standartları stok MDA standartlarından taze olarak hazırlanmıştır. Tüm örnekler ve standartlar karıştırıldıktan sonra 100 °C'de 1 saat kaynatılmıştır. Süre sonunda örnekler ve standartlar soğuk su ile soğutulup 5 ml n- butanol her birine eklenmiştir. Her bir tüp 4000 rpm' de 10 dk santrifüj edildi. Üzerlerindeki berrak sıvı alınıp örnek ve standartların absorbanları 532 nm' de kendi körüne karşı spektrofotometrede okutulmuştur. "Plazma MDA ölçümünde de süpernatant elde edildikten sonra yapılan tüm işlemler plazma için de uygulanmıştır".

### **Histolojik Yöntemler**

Alınan karaciğer örneklerinin % 10'luk formalin fiksasyonu içinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70' lik, %80' lik, %90'lık ve %96' lık alkol serilerinde 45'er dakika bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'şer dakika ksilolde bekletildi. Karaciğer örnekleri şeffaflanmalarının ardından etüv içinde 65oC' de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dakika süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er mikrometre kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45oC'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında Hematoksilin- Eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dakika süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler Hematoksilin ile 2 dakika ve Eosin ile 10 dakika boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dakika tutularak şeffaflaştırıldı.

dı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirilmeleri yapıldı ve karaciğer ve böbrek örneklerini içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

### İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme hastanemiz Biyo-istatistik Anabilim dalı laboratuvarında yapıldı. Çalışmada SPSS 13.0 ve Sigma Stat 3.1 paket programlar kullanılmıştır. Üç gruba ait normal dağılım gösteren Ölçümsel değişkenlerimizin değerlendirilmesinde One Way Analysis of Variance Testi yapılmış olup bu testin çoklu karşılaştırmalarında (Fisher LSD Method, Tukey Test) metodundan yararlanılmıştır. Öncesi – sonrası değişkenlerin ikili karşılaştırmalarında eşleştirilmiş t testi (Pairt Samples Statistics). Normal dağılım göstermeyen 3 gruba ait değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks, öncesi – sonrası değişkenlerin ikili karşılaştırmalarında Wilcoxon Signet Rank Testlerinden yararlanılmıştır.

### BULGULAR

Ratların ağırlıkları kontrol grubunda (grup1) ortalama 252,134 ( $\pm 14$ ) gr, çekal ligasyon perforasyon (sepsis) grubunda (grup2) 258,3734 ( $\pm 13$ ) gr ve çekal ligasyon perforasyon + eritropoetin (tedavi) grubunda (grup3) 261,165 ( $\pm 16$ ) gr olarak bulundu. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır ( $P \geq 0,05$ ).

### Hepatik Fonksiyonlar, Doku ve Serum MDA Düzeyleri

AST1 ve ALT1 düzeyleri deney başlangıcında AST2 ve ALT2 düzeyleri deney sonunda tüm gruplarda çalışıldı ve tablo 1'de sunuldu. Deneyin sonunda karaciğer dokusundan alınan örneklerden ve serum örneklerinden çalışılan MDA düzeyleri; MDADOKU ve MDAPL olarak isimlendirilerek çalışıldı ve tablo 1 de sunuldu. MDAPL değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup1 ile grup2, grup2 ile grup3 ve grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). MDADOKU değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup1 ile grup2, grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup1 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $P \geq 0,05$ ). AST1 ve ALT1 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $P \geq 0,05$ ). ALT2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup1 ve grup2 ve grup1 ile grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $P \geq 0,05$ ). AST2 değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup1 ve grup2 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık mevcuttu ( $P \leq 0,001$ ). Grup1 ile grup 3 ve grup2 ile grup3 arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $P \geq 0,05$ ) (**Tablo-1**).

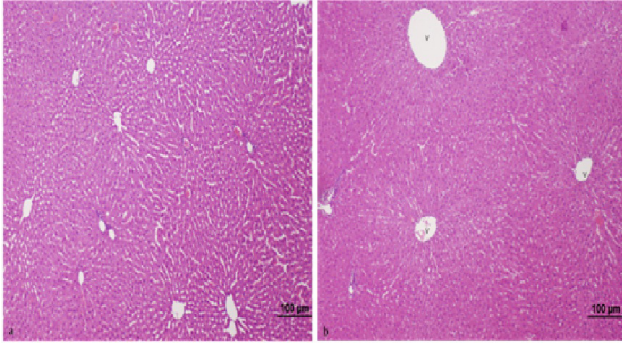
**Tablo 1:** Gruplardaki hepatik fonksiyonların ve Gruplar arasında doku ve plazma MDA değerlerinin seyri.

(Grup-1: Kontrol grubu, Grup-2: Sepsis grubu, Grup-3: Tedavi grubunu göstermektedir. MDADOKU: Deney sonunda dokudaki MDA düzeyi, MDAPL: Deney sonunda plazmadaki MDA düzeyi, AST: Aspartat amino transferaz, ALT: Alanin amino transferaz), (AST1 ve ALT1: deney başlangıcındaki değerler; AST2 ve ALT2 deneyin sonundaki değerleri göstermektedir). İstatistiksel olarak anlamlı değer :  $P \leq 0,01$

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	P
AST1	37,5 $\pm$ 5,63	35,12 $\pm$ 6,87	35,37 $\pm$ 5,9	$P \geq 0,05$
AST2	50,37 $\pm$ 9,55	383,87 $\pm$ 17,56	230,62 $\pm$ 12,6	$P \leq 0,001$
ALT1	21,5 $\pm$ 4,1	20,37 $\pm$ 6,25	21,5 $\pm$ 7,01	$P \geq 0,05$
ALT2	35,37 $\pm$ 5,97	168,5 $\pm$ 52,05	127 $\pm$ 44,62	$P \leq 0,001$
MDADOKU	11,45 $\pm$ 1,64	20,23 $\pm$ 1,94	13,4 $\pm$ 1,08	$P \leq 0,001$
MDAPL	2,41 $\pm$ 0,66	7,78 $\pm$ 1,42	4,2 $\pm$ 0,63	$P \leq 0,001$

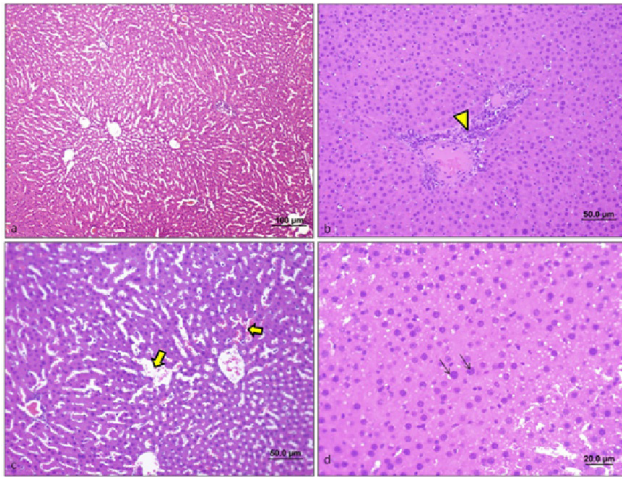
## Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait sıçan karaciğerleri üzerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde karaciğer hepatosit hücreleri, vena sentralis yapısı, portal alan ve sinüzoidal kapiller yapıları normal histolojik yapıda gözlemlendi. (**Şekil-1**)



**Şekil 1:** Kontrol grubu karaciğer dokusu; ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde karaciğer normal histolojik yapıda gözlemlendi (a) (x4, HE).

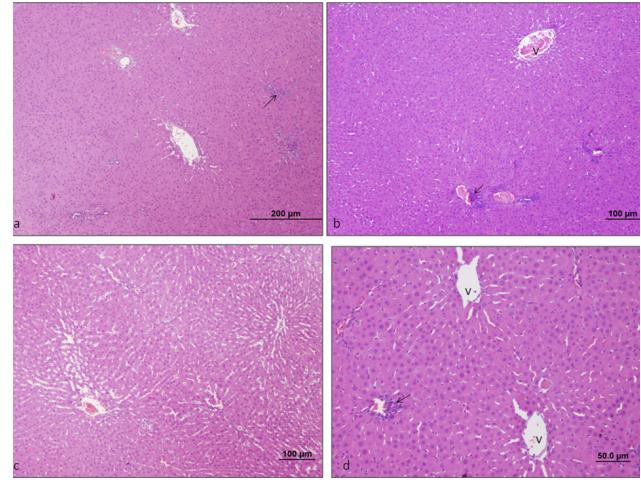
Çekal ligasyon ile septik şok uygulanan Sepsis grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde özellikle sinüzoidal dilatasyonlar ve portal alanda hücresel inflamasyon gözlemlendi. Ayrıca karaciğer hepatosit hücre nükleuslarında hipertrofi dikkat çekti. (**Şekil-2**)



**Şekil 2:** Sepsis grubu karaciğer dokusu; çekal ligasyon ile septik şok uygulanan bu grubun karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde sinüzoidal dilatasyonlar (kalın ok)(a,c)(x4, 20, HE), portal alanda yoğun hücresel inflamasyon (ok başı) (b) (x10, HE) ve nekrotik hücre yapıları ve hepatosit hücre nükleuslarında hipertrofi gözlemlendi (ok) (d) (x 40, HE) dikkat çekti.

Septik şok+eritropoetin uygulanan tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde

de özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücresel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü. (**Şekil-3**) ve (**Tablo-2**).



**Şeki 3:** Tedavi grubu karaciğer dokusu; septik şok+ eritropoetin uygulanan bu grubun karaciğer örneklerinde ışık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücresel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu (a,b,c,d) (x10, 20, HE) ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü.

**Tablo 2:** Çalışma sonunda ratlardan alınan karaciğer doku örneklerinin ışık mikroskopik incelemesi ; histolojik sonuçları. ((-) hasar yok, (+) az hasar, (++) orta hasar, (+++) hasar çok olarak değerlendirilmiştir.

		DİLATASYON		
Kontrol Grubu 1	-	-	-	-
Kontrol Grubu 2	-	-	-	-
Kontrol Grubu 3	-	-	-	-
Kontrol Grubu 4	+	-	-	-
Kontrol Grubu 5	-	-	-	-
Kontrol Grubu 6	-	-	-	-
Kontrol Grubu 7	-	-	-	-
Kontrol Grubu 8	-	-	-	-
Sepsis Grubu 1	-	+++	++	-
Sepsis Grubu 2	+	++	-	-
Sepsis Grubu 3	-	++	-	+
Sepsis Grubu 4	-	-	+++	-
Sepsis Grubu 5	++	-	-	+
Sepsis Grubu 6	-	-	++	-
Sepsis Grubu 7	+	-	+	-
Sepsis Grubu 8	-	+++	-	++
Tedavi Grubu 1	-	-	-	+
Tedavi Grubu 2	-	-	+	+
Tedavi Grubu 3	-	-	+	-
Tedavi Grubu 4	-	+	+	+
Tedavi Grubu 5	-	-	+	-
Tedavi Grubu 6	-	-	-	-
Tedavi Grubu 7	-	-	+	+
Tedavi Grubu 8	-	-	-	-

## TARTIŞMA

Günümüzde kullanılmaya başlanan yeni antibiyotikler, ilaçlar ve immünomodülasyona yönelik tedavi protokollerine rağmen, septik şok, %30-90 ölüm oranı ile kendini gösteren, ciddi bir sağlık problemi olmaya devam etmektedir (3,9). EPO, ilk olarak kemik iliği ve ekstramedüller alanlarda eritrosit oluşumunu sağlayan glikoprotein yapılı bir hormon olarak keşfedilmiş ancak son yıllarda eritropoetik etkisi dışında genel doku koruyucu özelliği ortaya konmuştur. EPO çeşitli nedenlerden ötürü gelişen anemi tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kronik böbrek yetmezlikli hastalarda anemi tedavisinde kullanılan EPO'nin egzersiz toleransını arttırdığı, kardiyak outputu düzelttiği, periferik vasküler direnci arttırdığı, angina semptomlarını geriletmediği, myokardiyal iskemiye azalttığı, ventriküler hipertrofiyi azalttığı belirtilmiştir (10). Bunun yanı sıra beyin fonksiyonlarını arttırdığı, üremik kanamaya meyli azalttığı, trombosit fonksiyonlarını arttırdığı, cinsel fonksiyonları arttırdığı, endokrin ve immün sistemi düzelttiği ve hayat kalitesini arttırdığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (11).

Vedat B. ve ark. torsiyon/detorsiyon yöntemiyle iskemi reperfüzyon hasarı oluşturulan ratlarda eritropoetin özelliikle akut dönemde başarılı sonuçlar sağladığını ve MDA değerlerinde olumlu etkilerde bulunduğunu göstermişlerdir (12).

Çalışmamızda da her üç gruptan alınan çalışma öncesi AST ve ALT değerlerinde anlamlı farklılık yok iken çalışma sonundaki AST ve ALT değerlerinde üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Burada dikkati çeken eritropoetin verilen tedavi grubundaki değerlerin kontrol grubuna göre daha iyi ve düşük bulunmasıdır. Aynı şekilde karaciğer dokusundan ve kandan çalışılan MDA değerlerinin eritropoetin verilen tedavi grubunda daha olumlu saptanmasıdır.

Deney sonunda üç gruptaki ratların karaciğer dokularından alınan doku örneklerinin histolojik incelemesinde; eritropoetin verilen tedavi grubuna ait sıçanlardan alınan karaciğer örnek-

lerinde özellikle kontrol grubuyla karşılaştırıldığında sinüzoidal dilatasyonun ve portal alandaki hücresel inflamasyonun oldukça azalmış olduğu ve karaciğerin normale yakın histolojik yapıda olduğu görüldü.

M.Bockhorn ve ark. hepatik rejenerasyon modelinde eritropoetini kullanmış olup transplan- te edilen karaciğer dokularında eritropoetin verilen grupta olumlu sonuçlar almışlardır (13). Sepodes M. Maio R. Ve ark. ratlarda karaciğer iskemi-reperfüzyon hasarında eritropoetin etkili olduğunu çalışmalarında göstermişlerdir (14). Yaptığımız çalışmada da eritropoetin verilen tedavi grubundaki AST, ALT, MDA değerlerinde ve karaciğer dokusunda bu ve buna benzer çalışmalara paralel olarak anlamlı derecede başarılı sonuçlar alınmıştır (15).

Rocha J ve ark.'nın yaptığı çalışmada sıcak sıvı yarıklı hastalarda verilen eritropoetin akut akciğer hasarında ve sitoprotektif olumlu etkileri olduğunu göstermişlerdir (16). Ayrıca Mesut G. ve ark. parsiyel hepatektomi sonrasında yüksek doz epo verilmesinin karaciğer fonksiyon testlerinde düzelmeye yol açtığını ve karaciğerde rejenerasyonu arttırdığını göstermişlerdir (17). Nandra K.K ve ark.'nın yaptıkları bir çalışmada deneysel hemorajik şok oluşturmadan 3 gün önce başlanan epo tedavisi uygulanmasının renal, nöromusküler ve hepatik fonksiyonlardaki bozulmayı azalttığını göstermişlerdir (18).

Bu çalışmada ideal bir deneysel septik şok modeli halen ortaya konulamamasına rağmen klinik uygulamaya benzer bir model uygulamaya özen gösterdik. Yaptığımız araştırmalarda septik şoktaki iskemi-perfüzyon hasarı ve inflamasyon için olan tedavi arayışlarına oldukça etki alanı çeşitli ve güçlü olan eritropoetin gibi bir ajanı kullandık. Biokimyasal, klinik ve histolojik bulgularda oldukça olumlu sonuçlarla karşılaştık. Bu deneysel çalışmada özellikle de erken dönemde uygulanan eritropoetin ile elde edilen olumlu sonuçların daha ilerde yapılacak klinik çalışmalara yön vereceğini ve eritropoetin yeni bir çok alanda daha kullanılabilirliğinin yeni çalışmalarla ortaya konabileceğini düşünüyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, et al. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study. *Intensive Care Med.* 2002; 28: 108-21.
2. Matot I, Sprung CL. Definition of sepsis. *Intensive Care Med.* 2001; 27: 3-9.
3. Hines DW, Bone RC. Septic Shock. In: Gorbach SL, Bartlett JG, Blacklow NR(eds). *Infectious Diseases. Second Edition.* W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1992; 544-48.
4. Krantz SB. Erythropoietin. *Blood* 1991; 77: 419-34.
5. Woodman D.D.: Erythropoetin, *Comparative Haematology International*; 1992; 2: 1-7.
6. Fisher J.W. Erythropoietin, In Massry S.G., Glassock R.J., *Textbook of Nephrology, 3rd Edition,* Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland USA, 1995; 191- 197.
7. Ghezi P, Brines M. Erythropoietin as an antiapoptotic, tissue-protective cytokine. *Cell Death and Differentiation* 2004; 11: 37-44.
8. Baker JE. Erythropoietin mimics ischemic preconditioning. *Pharmacology and Toxicology, Biochemistry and Pediatric Surgery, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, WI 53226, USA.* 2005; 42 (5-6): 233-41.
9. Villa P, Sartor G, Angelini M, et al. Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol* 1995; 2: 549-553.
10. Pascual J, Teruel JL, Moya JL, Liaño F, Jiménez-Mena M, Ortuño J. Regression of left ventricular hypertrophy after partial correction of anemia with erythropoietin in patients on hemodialysis: a prospective study. *Clin Nephrol.* 2008;280-7.
11. Maiese K, Li F, Chong ZZ. New avenues of exploration for erythropoietin. *JAMA.* 2005; 293: 90-95.
12. Vedat Bakan, Harun Çıralık, Fatma Inanaç Tolun, Yalçın Atlı, Ayhan Mil , Senol Öztürk: Protective effect of erythropoietin on torsion/detorsion injury in rat model. *Journal of Pediatric Surgery,* 2009; 44: 1988-1994.
13. M. Bockhorn, C. Fingas, E. Niehues , M. Trippler, A. Frilling, C. E. Broelsch, J. F. Schlaak, exogenous administration of erythropoietin improves liver regeneration of the donor and recipient in a rat living related liver transplantation model. *General and Transplantation Surgery; Gastroenterology and Hepatology, University@ Hospital Essen, Essen, Parallel Session 4: Liver failure and transplantation* 2007; 4: 16-17.
14. Sepodes B, Maio R, Pinto R, Sharples E, Oliveira P, McDonald M, Yaqoob M, Thiemermann C, Mota-Filipe H: Recombinant human erythropoietin protects the liver from hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. *Transpl Int* 2006; 19: 919- 926.
15. Aoshiba K, Onizawa S, Tsuji T, Nagai A. Therapeutic effects of erythropoietin in murine models of endotoxin shock. *First Department of Medicine, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan.* *Crit Care Med.* 2010; (1): 340-341.
16. Rocha J, Eduardo-Figueira M, Barateiro A, Fernandes A, Brites D, Pinto R. Erythropoietin Reduces Acute Lung Injury and Multiple Organ Failure/Dysfunction Associated to a Scald-Burn Inflammatory Injury in the Rat *Inflammation* 2014, published online: 1 October 2014, (DOI: 10.1007/s10753-014-0035-7).
17. Mesut Gul, Mustafa Cömert, Güldeniz Karadeniz Çakmak, Gurkan Kertis, Ebru Ugurbas, Muzaffer Onder Oner. Effect of erythropoietin on liver regeneration in an experimental model of partial hepatectomy *International Journal of Surgery* 2013; (11): 59-63.
18. Nandra K.K, Collino M, Rogazzo M, Fantozzi R, Patel N, Thiemermann C. Pharmacological preconditioning with erythropoietin attenuates the organ injury and dysfunction induced in a rat model of hemorrhagic shock. *Disease Models & Mechanisms* 2013; (6): 701-709.