

DeneySEL Olarak OluşTURULAN Endotoksin şokunda ZK 36 37 4 (İloprost) un Koruyucu Etkisi

A.öZdemir AKTAN
Sami ÇAKAR
şükrü BOZKURT
Erhan ONUK
Sevim ERCAN

THE PROTECTIVE EFFECT OF ZK 36 37 4
(İLOPROST) ON EXPERIMENTAL
ENDOTOXIN SHOCK

Gazi Üniversitesi Tıp Fak.Genel Cerrahi ve
Farmakoloji Anabilim Dalı ANKARA

Geliş Tarihi : 22 Ekim 1987

<p>ÖZET</p> <p><i>Bu çalışmada kobaylarda endotoksin şokunda bir prostasiklin analogu olan ZK 36 37 4/ iloprost/un kan basıncı, yaşam süresi, serum alkalin fosfatase ve serum kreatinin fosfokinaz düzeylerine etkisi araştırılmıştır. İloprostun endotoksin şokunda koruyucu etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.</i></p> <p>Anahtar kelimeler: Endotoksin şoku, ZK 36 37 4 (İloprost)</p> <p>T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi C.6, S.4, 1988, 265-268</p>	<p>SUMMARY</p> <p><i>In this study, the effect of ZK 36 37 4 (Iloprost) on blood pressure, survival time, serum alkaline phosphatase and serum creatinine phosphokinase values in endotoxin shock in guinea pigs is investigated. It is concluded that Iloprost has protective effects in endotoxin shock.</i></p> <p>Key words: Endotoxin shock, ZK 36 37 4 (İloprost).</p> <p>T J Research Med Sci V.6, N.4, 1988, 265-268</p>
--	--

Klinikte önemli bir yeri olan endotoksin şokunda halen semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Gerek şokun önlenmesi gerekse tedavisinde etkili bir yöntem halihazırda mevcut değildir. Bu şokun gelişmesinde noradrenalin, adrenalin, serotonin, histamin gibi aminler, angiotensin, bradikinin gibi polipeptitlerin yanı sıra doymamış yağ asidi yapısındaki prosteno-idlerin mediyatör rol oynadıkları bilinmektedir.

Endotoksinin intravenöz yoldan verilmesi sonucu, vasodilatasyon, kardiak output'da azalma, solunum yetmezliği, mezenterik kan akımında azalma, kanın vasküler yatakta göllenmesi, total periferik rezistansın azalması ve dissémine intravasküler koagülasyon ortaya çıkmakta ve bunun yanı sıra nordadrenalin, adrenalin, serotonin, histamin, angiotensin II, bradikinin, prostanooidlerin kan düzeyleri artmaktadır. Lizozomal membranlar tahrip olur, proteolitik, lizozomal, sitoplazmik enzim düzeyleri artar. Entotoksinin bu etkileri verilen doza ve memeli hayvan türüne bağlı olarak farklılık gösterebilir.

Son yıllarda platelet agregasyonunun kuvvetle inhibe eden, vasodilatör, bronkodilatör, antiaritmik etkinliğe sahip olan ve bunun yanı sıra membran stabilizan ve sitoprotektif etkisi bulunan prostosiklin konusunda çalışmalar yoğunluk kazanmıştır.

Bu çalışma E.Coli endotoksini ile kobaylarda kan basıncı, yaşam süresi, enzim düzeyleri, mezenterik yatakta ne şekilde bir değişkenlik husule geldiği ve stabil bir prostasiklin analogu olan Iloprostun bu değişiklikleri hangi yönde etkilediğini incelemek amacı ile planlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, her iki seksten 350-400 g ağırlığında kobaylar üzerinde yürütülmüştür. Kobaylar deney için barındırıldıkları laboratuvarında standart yem ile beslenmişlerdir. Deneye alınmadan 24 saat önce yemleri kesilerek sadece su içmelerine müsaade edilmiştir. Deneye alınan kobaylar intraperitoneal olarak verilen 1,5 mg/kg dozda üretan ile anesteziye edildikten sonra sırt üstü yatar durumda servikal bölgeleri traş edilmiştir. Vertikal bir insizyon ile boyun açılmış ve trakea kanüle edilerek solunumu kontrol altına alınmıştır. Karotit arter ve juguler ven kan akıtılmamaya özen gösterilerek, daha önceden heparin geçirilmiş kateterler ile kanüle edilmiştir.

Arteriel kateterin ucu tri-way yardımı ile civa manometresine bağlanmış ve basınç isli kağıt üzerine kinografa kayıt edilmiştir.

Vertöz kateter ise yine tri-way aracılığı ile yavaş infüzyon pompasına bağlanmış ve İV. olarak fizyolojik tuzlu su, endotoksin, ZK 36 37 4 (Iloprost) verilebilmesi için hazır duruma getirilmiştir.

Kateterizasyon işlemi tamamlandıktan sonra deneylere geçilmiştir.

Kobaylar bu çalışmada üç guraba ayrılarak incelenmiştir. LGRUP: Bu grupta beş kobay kullanılmıştır. Kateterizasyon işlemi tamamlandıktan sonra kan örneği alınmış, kan basıncı devamlı kaydedilmiş, 120 dakika beklenilmiş, yeniden kan örneği alınmıştır. Bunun yanı sıra karın orta hat bölgesinden açılarak mezenter örnekleri alınıp formalin içinde muhafaza edilmiş ve hayvanlar servikal dislokasyon ile öldürülmüşlerdir.

II. GRUP: Bu grupta altı kobay kullanılmıştır. Kobayların karotit arter ve juguler venleri kateterize edildikten sonra kan basınçları isli kağıt üzerine kayıt edilmiştir. Başlangıç kan örnekleri alınmış, kan basıncının stabili/asyonu için 30 dakika beklenip venöz kateter aracılığı ile 2.5 mg/100 g. endotoksin (Difco, W III B, E.Coli Endotoksini) bolus enjeksiyonla verilmiştir. Kan basıncında oluşan değişiklikler kaydedilmiş, 120 dakika sonra yeniden kan örnekleri alınmış ve yaşam süreleri ölçülmüştür. Ölümden hemen sonra mezenter örnekleri alınarak formalin içine konmuştur, ölüm zamanı EKG ile tesbit edilmiştir.

III. GRUP: bu grupta altı kobay kullanılmıştır. Kobayların karotit arter ve juguler venleri kateterize edildikten sonra, kan basıncı kaydedilmiş ve ilk katı örnekleri alınmıştır. Bu gruba toplanı 2 mgr/kg dozda ZK 36 37 4 (Iloprost) yavaş infüzyon ile verilmiş kan basıncının stabilize olması için 30 dakika beklenip 2.5 mg/100 g. endotoksin bolus enjeksiyon ile venöz kateterden verilmiştir. Gerek kan basıncındaki değişiklikler gerekse yaşam süreleri takip edilmiş, endotoksin verilmesinden 120 dakika sonra ikinci kan örnekleri alınmış ölüm zamanı EKG ile tesbit edildikten sonra karın orta hat boyunca açılarak mezenter örnekleri alınarak formalin içerisine konulmuştur.

Serumda kreatinin fosfokinaz (CP) ve alkalen fosfataz (AP) enzimlerinin tainleri yapılmıştır. CP monotest/CK NAC-activated "Boehringer Mannheim" kiti ile, AP ise Kind and King metodu ile çalışıldı.

tnce barsak mezenter örnekleri ise uygun şekilde hazırlandıktan sonra hematoksilen-eosin ile boyanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi.

Sonuçların istatistiksel analizi Studentt "t" testine göre yapıldı.

SONUÇLAR

Yapılan bu çalışmada, sham-operasyon uygulanmış birinci grupta kan basıncının stabilizasyonundan sonra hiç bir değişikliğin gelişmediği gözlenmiştir.

Buna karşılık endotoksin verilen ikinci grupta kan basıncının önce yükseldiği daha sonra düşmeye başladığı ve endotoksin verilmesinden iki saat sonra sıfır noktasına indiği ve yaşamın sona erdiği saptanmıştır.

Kan başmandaki bu farklılığın altı kobaydan elde edilen verilerin ortalaması olarak 54.50*3.15 mmHg olduğu saptanmıştır. Bu grubun endotoksin injeksiyonundan sonra yaşam süreside 125.83+7.68 dakika olduğu saptanmıştır.

Aynı grupta endotoksin verilmeden önce alınan kan örneklerinde CP düzeyinin 151.17±70.38 u/lit, AP düzeyini ise 148.83+6.71 u olduğu endotoksin verilmesinden 120 dakika sonra alınan kan örneklerinde ise CP düzeyinin 374.0+42.2 u/lit, AP düzeyinin ise 181.33+11.35 u. ye yükseldiği ve bu artışların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür(p<0.001).

ZK 36 37 4 (2 mg/kg) infüzyonu yapılan üçüncü grupta ise ZK 36 37 4 infüzyonu ile kan basıncında bir düşüşün meydana geldiği ve bu düşüşün yaklaşık 30 dakika içinde düzeldiği görülmüştür. Kan basıncı kontrol düzeyine çıktıktan sonra endotoksin verilmiş ve kan basıncı kontrol düzeyine çıktıktan sonra endotoksin verilmiş ve kan basıncının hafifçe arttığı, ancak 120 dakika boyunca çok az düşme gösterdiği gözlenmiştir. ZK 36 37 4 (Iloprost) ile yapılan deneylerde kan basıncı değişikliğinin altı kobayın ortalaması olarak 29.50+4.89 mmHg olduğu ve yaşam sürelerinde 181.67+10.22 dakika olduğu saptanmıştır.

Bu bulgular sadece endotoksin verilen ikinci grup ile mukayese edildiğinde kan basıncındaki düşmede anlamlı bir şekilde azalma ve (p<0.001), yaşam sürelerinde anlamlı bir artış husule geldiğini (p<0.001) göstermektedir.

Iloprost ile ön tedavi yapılmış olan grupta gerek Iloprost gerekse endotoksin verilmeden önce alınan kan örneklerinde CP düzeyinin 132.17±49.64 u/lit, AP düzeylerinin ise 116.60+15.99 u olduğu saptanmıştır. Iloprost ile ön tedavi uygulanan bu grupta endotoksinin verilmesinden 120 dakika sonra alınan kan örneklerinde CP düzeyinin 176.67+71.58 u/lit, AP düzeyinin 175.33+29.83 olduğu ve aralarındaki farkın istatistiksel yönden anlamlı olmadığı gözlenmiştir.

Histopatolojik bulgular: Endotoksin verilmeyen grupta bağırsak duvarında konjesyon, mukozada dökülme gibi bulgular yoktur.

Endotoksin verilen her iki gruptada subserozal ve mezenter damarlarında da çok belirgin olarak konjesyon izlendi. Mikrovasküleritede trombotik fonomen dikkati çekmedi bir vakada tesadüfen enfeksiyöz değişiklikler, bir vakada ise trombüs saptandı.

TARTIŞMA

Elde edilen bulgulara göre, endotoksin verildiğinde kobayların kaydedilen kan basıncında önce bir

vasokonstriksiyon, bunu takiben kan basıncında zamana bağlı düşme görülmektedir. Endotoksin reaksiyonunda erken dönemde vasokonstriksiyon ve bunu takiben vazodilatasyon oluştuğu bilinmektedir(1). Erken dönemde ortaya çıkan vasokonstriksiyon muhtemelen endotoksin ile salınımı artan noradrenalin ve adrenalin aracılığı ile ortaya çıkmaktadır(2,3).

Kan basıncında yükselmeyi takiben vazodilatasyon sonucu düşme meydana gelmektedir. Başlangıç kan basıncı ile 25 mg/kg endotoksin verilmesinden 120 dakika sonraki kan basınçları arasındaki fark 54.5 ± 3.15 mmHg olarak saptanmıştır. Bu grup koyalarda yaşam süresi 125.83 ± 7.68 dakika bulunmuştur. Aynı grupta başlangıçta ve 120 dakika sonra alınan kan örneklerinde CP ve AP plazma düzeylerinde endotoksin ile arttığı gözlenmiştir.

önceden ZK 36 37 4 (iloprost) ile tedavi edilen grupta ise iloprost verilmesinden hemen sonra kan basıncının düşmesi bu maddenin vazodilatör etkisine bağlıdır(4). Nitekim 30 dakika içinde inisiyal basınca dönmektedir. İnisiyal basınca döndükten sonra verilen endotoksin yine kan basıncını düşürmektedir. Ancak bu azalma 29.50 ± 4.89 mmHg olarak saptanmıştır. Sadece endotoksin verilen grup ile karşılaştırıldığında iloprost'un endotoksin ile husule gelen kan basıncı düşmesinin anlamlı olarak azalttığı görülmüştür. Bunun yanı sıra iloprost yaşam süresini anlamlı olarak arttırmış, endotoksin ile plazmada CP ve AP düzeylerinde oluşan artışı inhibe etmiştir.

Endotoksinin komplemanın alternet yolunu bloke ederek trombotik olayları direkt başlatabileceği, ancak trombotik olayların mikrosirkülasyondan kısa sürede uzaklaştırılabileceği ve bu nedenle erken dönemde incelemede trombotik fenomen saptanmadığı, yalnız kardiyovasküler genel etkilere bakılarak endotoksinin, potent olduğu düşünöldü.

Bu bulgularımız Lefer ve arkadaşlarının prostasiklin ile elde ettikleri verilere uygunluk göstermekte ve prostasiklinin yaşam süresine etkili olabileceği hipotezini" doğrulamaktadır(5).

Ancak elde ettiğimiz sonuçlar Smith ve arkadaşlarının prostasiklin ve İloprost ile elde ettikleri bulgular ile uyum göstermemektedir(6). Zira bu araştırmacılar gerek prostasiklinin ve gerekse İloprostun endotoksin ile husule gelen kan başmandaki düşmeyi ve plazma LDH düzeyindeki artışı engellemediğini, yaşam süresini ise uzatmadığını göstermişlerdir. Bu araştırmacılar çalışmalarını sıçanlar üzerinde yürütmüşlerdir. Bilindiği üzere sıçanların endotoksine cevapları diğer memeli türlerinden farklıdır. Endotoksin tüm memelilerde ateş yükselmesine neden olurken sıçan ve farelerde ateşin düşmesine yol açar(7). Kan basıncında diğer memelilerden farklı olarak endotoksin önce hafif bir düşme daha sonra kontrole dönüş ve tedrici azalma gösterir(8).

İloprostun endotoksin şokuna karşı iyileştirici yönde etkisinin sıçan ve koyalarda arasında farklı olması muhtemelen türe bağlıdır.

Bilindiği üzere prostasiklin kuvvetli vazodilatör etkiye sahip olup, trombosit agregasyonunun endojen inhibitörüdür. Bronkodilatör etkinliğinin yanı sıra mem oranları stabilize edici etkisi mevcuttur(9). Tromboksan A_2 bu etkilerin tam tersini oluşturur. Her ikisinin de aynı prekürsörden elde edildiği dikkate alınırsa pek çok fizyopatolojik olayda PGI_2/TXA_2 arasındaki oranın önemli olabileceği söylenebilir.

Nitekim ateroskleroz, aritmi, stres ülseri patogeneğinde prostasiklin/tromboksan A_2 oranının önemli olduğu gösterilmiştir(9-10). Bu oranın prostasiklin lehine kaydırılması patolojinin düzelmesine yol açmaktadır

Endotoksin intravenöz verildiğinde in vivo kedi ve köpekte, in vitro izole tavşan böbreğinde prostasiklin, tromboksan A_2 , PGE_2 , PGF_2 , sentezinin artmasına yol açmaktadır(11-14). Her ne kadar prostasiklin sentezi ve salınımı artmakta isede tromboksan A_2 ve PGF_2 'nin sorumlu olduğu gösterilmiştir(12,15). Prostasiklinin bronkodilatör etkisi diğer iki prostanoid tarafından hastalanmaktadır.

Prostasiklin benzeri etkinliğe sahip İloprostun kendisi vazodilatör olmasına rağmen endotoksin ile gelişen hipotansiyonu azaltmasında bir paradoks olarak görülebilir. Ancak İloprostun vazodilatör etkisi 30 dakika içinde kaybolmaktadır. Membran stabilizan etkisinde dikkate alındığında endotoksin hipotansiyonunda mediyatör rol oynayan histamin, bradikinin gibi maddelerin açığa çıkmasını engellemek sureti ile vazodilatasyona engel olduğu düşünülebilir. Enzimlerin endotoksin ile açığa çıkmasını engellemesi lizozomal membranlarında stabilize ettiğini göstermektedir. Bunun sonucu olarak yaşam süresini uzatmaktadır. Mezenterik yataktada endotoksin ile meydana gelen değişiklikler vazokonstriksiyona bağlıdır. İloprost vazodilatör etkisi ile bunu engellemektedir.

Bunun yanı sıra sitoprotektif etkinliğe de sahiptir(10). Tüm bu bulgular dikkate alındığında İloprostun endotoksin şokunda koruyucu, yaşam süresini uzatıcı etkisi vardır. Endotoksin şokunun gelişmesinde etkin faktörlerden biriside prostasiklin/tromboksan A_2 oranı olabilir.

Bu oranın prostasiklin lehine bozulması ateroskleroz, aritmi, hipertansiyon, stres ülserinde olduğu gibi muhtemelen endotoksin şokundan da korumayı sağlayacaktır. Ancak tedavi edici bir etkisinin olup olmadığı henüz bilinmemektedir.

KAYNAKLAR

1. Gilbert RP: Mechanisms of the hemodynamic effects of endotoxin. *Physiol Rev.* 40:245-247, 1960.

2. Heiffer Mil, Mundy RL, Grimm LJ: Effect of bacterial üpopolysaccharides on plasma catecholamine levels. Fed Proc. 17:68-71, 1958.
3. Egdahl RC: The effect of bacterial endotoxin on adrenal medullary function. Clin Res. 7:158-160.
4. Schrör K, Darius II, Matzky R, Ohlendorf R: The antiplatelet and cardiovascular actions of a new cyclo-oxygenase inhibitor ZK 36 374-Equipotent to PGI₂ in vitro. Nacunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 316:252-257, 1981.
5. Lefler A, Tabas J, Smith EF: Salutary effects of prostacyclin in endotoxic shock. Pharmacology 21: 206-212, 1980.
6. Smith EF, Tempel GE, Wise WC, Halushka PV, Cook JA: Experimental endotoxemia in the rat: Efficacy of prostacyclin or the prostacyclin analogue iloprost. Circulatory Shock. 16: 1-14, 1985.
7. Braude AI: Bacterial endotoxins, Steroids and Shocked. TM Glenn University Park Press, London; 1974, 63-75.
8. Ross CA: Cardiovascular responses of unanesthetized rats during traumatic and endotoxin shock. Proc Soc Exp Biol Med. 96: 582-593, 1957.
9. Zengil H, Onuk E, Ercan ZS, Türker RK: Prostacyclinin biyolojik etkinliği ve tedavideki yeri. Doğa. 8: 302-309, 1984.
10. Zengil H, Onuk E, Gokok N, Ercan ZS, Türker RK: Prevention by a new synthetic stable analogue of prostacyclin of the gastric lesions due to restraint-cold stress. Aran Forch. 36:482-3, 1986.
11. Bottoms GD, Templeton CB, Fessler JF et al: Thromboxane, prostaglandin I₂ (epoprostenol) and hemodynamic changes in equine endotoxin shock. Am J Vet Res. 43; 999-1003, 1982.
12. Coker SJ, Hughes B, Parratt JR, Rodger IW Zeittin IJ: The release of prostanoids during the acute pulmonary response to E.Coli endotoxin in anesthetized Cats. Br J Pharmacol. 78: 561-565, 1983.
13. Bottoms GD, Johnson MA, Roesel OF: Endotoxin induced hemodynamic changes in dogs: role of thromboxane and prostacyclin. Am J Vet Res. 44:1497-1499, 1983.
14. Ozsan K, Icoz V, Türker RK: Release of labile cyclooxygenase products of arachidonic acid from kidney by endotoxin. Experientia, 40:815-819, 1984.
15. Armstrong RA, Jones RL, Wilson NH: Effect of thromboxane receptor antagonist EP 092 on endotoxin shock in the sheep. Prostaglandins, 29: 703-708, 1985.