

ARAŞTIRMA

İntratrakeal Bleomisin uygulanmış sıçan akciğer dokusunda metabolik enzim aktiviteleri üzerine E vitamini ve erdosteinin etkisi

Sadık Söğüt ¹, Ahmet Songur ², H. Ramazan Yılmaz ³, Mustafa Iraz ⁴, Hüseyin Özyurt ⁵

¹ Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D., Hatay;

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi A.D., Afyon,

³ Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D., Isparta,

⁴ İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji A.D., Malatya,

⁵ Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya A.D., Tokat

Özet

Amaç: Bu çalışmada deneysel olarak i.t. BLM uygulanması ile sıçan akciğerinde oluşturulan fibrozisde E vitamini (E vit) ve erdosteinin hekzokinaz (HK), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), laktat dehidrogenaz (LDH) ve malat dehidrogenaz (MDH) enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması planlandı.

Gereç ve Yöntem: Sıçanlar I. kontrol (n=8), II. BLM (i.t. tek doz, 7.5 ü/kg) (n=9), III. BLM + E vit (intra peritoneal, 10 mg/kg, 16 gün) (n=9), IV. BLM + erdosteine (oral, 10 mg/kg, 16 gün) (n=10) şeklinde 4 gruba ayrıldı.

Bulgular: Kontrol grubu ile BLM grubu karşılaştırıldığında, akciğer dokusu HK, G6PD, LDH ve MDH aktivitelerinde BLM grubunda önemli artış olduğu bulundu. BLM grubu ile BLM + E vit ve BLM + erdosteine grupları karşılaştırıldığında bütün enzim aktivitelerinde kontrol grubuna yakın önemli bir azalma olduğu gözlemlendi.

Sonuç: BLM diğer dokulara kıyasla çok fazla etkilediği akciğer dokusunda, glukozun girdiği ana metabolik yolların enzimlerini olumsuz yönde etkilediği, E vit ve erdosteinin çalışılan enzim aktiviteleri üzerine daha çok koruyucu yönde etki gösterdiği söylenebilir. Bununda muhtemel sebebinin, BLM'nin akciğer dokusu hasarı oluştururken serbest oksijen radikallerini oluşturması, buna karşılık uyguladığımız antioksidan karakterli E vit ve erdosteine maddelerinin serbest radikal süpürücü etkileri ile kısmen hücre ve doku bütünlüğünü koruyarak stabilizasyon sağlaması olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Bleomisin, fibrozis, metabolik enzimler, E vitamini, erdosteine

The efficacy of vitamin E and erdosteine on metabolic enzyme activities of bleomycin-induced lung fibrosis in rats

Abstract

Purpose: In this study the effect of vitamin E and erdosteine on the activity of hexokinase (HK), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), lactate dehydrogenase (LDH) and malate dehydrogenase (MDH) has been assessed in BLM induced lung fibrosis in rats.

Materials and Methods: Rats were divided into four

Yazışma Adresi:

Yard. Doç Dr. Sadık Söğüt
Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı 31100 Hatay
Tel: 0 326 214 06 49/117 Faks: 0 326 214 49 77
E-mail: sadiksogut2@hotmail.com

groups; I-Control (n=8), II- BLM (i.t. one dose 7,5 u/kg) (n=9), III- BLM + vitamin E (intraperitoneal, 10 mg/kg, 16 day) (n=9), IV- BLM + erdostein (oral, 10 mg/kg, 16 day) (n=10).

Results: The activities of HK, G6PD, LDH and MDH were measured in lung tissue. There was significant increase in enzyme activities in treated rats compared to controls. All of the enzyme activities significantly decreased nearly to the levels of controls in both of the treatment groups (BLM + vitamin E and BLM + erdostein). The reduction in enzyme activities were similar between treatment groups (BLM + vitamin E and BLM + erdostein).

Conclusion: BLM alters the enzyme activities of main metabolic pathway (especially on lung tissue). It may be suggested that there were preventive effects of vitamin E and erdostein on the activities of HK, G6PD, LDH and MDH in lung tissue. These results indicate that erdostein may be a promising drug for protection against bleomycin-induced lung fibrosis.

Key words: Bleomycine, fibrosis, metabolic enzymes, vitamin E, erdostein

Ölümle sonuçlanan pulmoner fibrozis (PF) ilk olarak yaklaşık 75 yıl önce ortaya çıkmış, Hamman ve Rich tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra değişik derecelerde PF'li akut ve kronik akciğer bozuklukları tanımlanmış olup çoğunlukla interstisyel akciğer hastalıkları olarak bahsedilmiştir (1,2). PF'in temelinde henüz açığa kavuşturulmamış bir çok faktör vardır. Anormal akciğer fizyolojisi ve kollojen, elastin ve proteoglikan gibi bir çok matriks moleküllerinin aşırı üretimi ile karakterizedir (3).

Bleomisin (BLM); bazı lenfoma türleri, germ hücre tümörleri, baş-boyun kanserleri gibi bir çok malignenside antikanserojen ilaç olarak kullanılan sitotoksik bir antibiyotiktir. Tedavi amacıyla BLM uygulandığında en çok deri ve akciğerde konsantrasyonu olduğu gözlenmiş, dolayısıyla ilacın yan etkisi de en sık bu organlarda görülmektedir. İlaç kullanımı esnasında akciğerde kollojen yıkımı azalırken yapımı büyük oranda artmakta ve sonuç olarak bazı vakalarda PF gelişmektedir. BLM'nin oluşturduğu değişimler sonucu ortama göç eden inflamatuvar hücrelerden birçok oksijen metabolitinin salındığı ve DNA kırıkları dahil birçok yapısal fonksiyon bozukluklarının ortaya çıktığı da son zamanlarda BLM toksisitesi hakkında bildirilen gelişmelerdir. Bütün bu çalışmalara rağmen hasarın mekanizması henüz tam olarak açıklanamamış değildir (4,5,6).

Bleomisin ile oluşturulan PF modeli, hastalığın aşamalarını açığa kavuşturmak için kullanılan en önemli modeldir. Kollojen ve elastinin dokudaki artışının göz-

terilmesinden başka son yıllarda araştırmacılar matriksin temel yapısındaki değişikliklere yönelmişlerdir (7).

Erdostein son yıllarda geliştirilmiş akciğer hastalarında mukolitik ve ekspektoran olarak kullanılan bir ilaçtır. Bronşiyal mukus salgısını seyreltici ve ekspektoran özelliği yanında, hem serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek hemde elastaz enziminin aktivitesini inhibe ederek etki gösterir. Vücuda alındıktan hemen sonra aktif metaboliti olan N-thioglycolylhomocysteine (Met I) haline çevrilmektedir. Met I'in yapısında birçok antioksidan karakterli maddeyle birlikte asıl antioksidan özellikleri taşıyan (-SH) grubu bulunmaktadır (8).

Bu çalışmada; intratrakeal (i.t.) tek doz BLM uygulaması ile oluşturulan akciğer fibrozisinde doku heksokinaz (HK), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), laktat dehidrogenaz (LDH) ve malat dehidrogenaz (MDH) enzim aktivitelerindeki değişiklikler ve E vitamini (E vit) ile oral erdostein uygulamasının BLM'in fibrozis oluşturuca etkisi üzerine koruyucu etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada kullanılmak üzere 36 adet Sprague Dawley tipi erkek erişkin sıçan (250-300 g), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanı Yetiştirme Birimi'nden temin edildi. Sıçanlar düzenli olarak standart pellet yemle ve çeşme suyu ile beslendi. Kontrol grubu için 8, sadece BLM ve BLM + E vit uygulanacak gruplar için 9'ar ve BLM + Erdostein verilecek grup için 10 sıçan ayrı kafesler ve bir kafese en çok 4 sıçan olacak şekilde ayrıldı.

Kontrol grubundaki sıçanlara; 1. gün 10 mg/kg/gün dozunda günde 1 kez bikarbonat (NaHCO₃) disposable enjektör ucuna takılan kanül yardımıyla mideye verilmeye başlandı ve deney süresince (16 gün) uygulandı. Bikarbonat erdosteinle aynı ekimolarda olacak şekilde ve bidistile suda çözülerek hazırlandı. Bu gruba ayrıca 3. gün i.t. olarak 250 µl fosfatla tamponlanmış steril salin (PBS) tek doz uygulandı.

Bleomisin grubuna; 3. gün i.t. tek doz 250 µl PBS içinde çözünmüş 7.5 ü/kg olacak şekilde BLM (Bleocin; bleomycin hydrochloride; Nippon Kayaku CO., Ltd., Tokyo, Japonya) uygulandı (9).

Bleomisin + E vit grubuna; 1. gün intraperitoneal (i.p.) E vit (Epynal-ROCHE) 10 mg/kg dozunda günde 1 kez uygulanmaya başlandı ve deney süresince (16 gün) tedaviye devam edildi. 3. gün ise tek doz i.t. BLM uygulandı (10).

Bleomisin + Erdostein grubuna; 1. gün bidistile su içinde bikarbonat ile birlikte çözünmüş erdostein 10 mg/kg dozunda günde 1 kez disposable enjektör ucuna takılan kanül yardımıyla mideye verilmeye başlandı ve deney süresince (16 gün) verildi. 3. gün ise i.t. tek doz BLM verildi (11-13).

Bütün ilaç uygulamaları her sabah saat 08:00'de yapıldı. 3. gün i.t. BLM uygulamaları i.p. 1mg/kg

Tablo 1. Bleomisin (BLM) uygulaması sonrası ve BLM uygulamasına karşı uygulanan E vitamini (E vit) ve erdostein tedavilerinin heksokinaz, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, laktat dehidrogenaz ve malat dehidrogenaz enzim aktiviteleri üzerine etkileri.

Gruplar	N	HK (mU/mg protein)	G6PD (mU/mg protein)	LDH (U/mg protein)	MDH (U/mg protein)
I-Kontrol	8	25.16 ± 0.7	54.85 ± 2.4	34.81 ± 2.4	60.03 ± 4.3
II-BLM	9	68.12 ± 4.9	164.02 ± 3.9	75.10 ± 6.5	131.40 ± 5.3
III-BLM+E vit	9	27.19 ± 1.9	55.26 ± 3.4	42.95 ± 2.5	69.75 ± 6.9
IV-BLM+Erdostein	10	33.84 ± 2.0	55.22 ± 2.2	35.60 ± 1.1	58.30 ± 2.1
P Değerleri					
I-II		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
I-III		AD	AD	AD	AD
I-IV		0.045	AD	AD	AD
II-III		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
II-IV		0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

Veriler Ortalama ± standart hata olarak verilmiştir. AD; anlamlı değil. Heksokinaz (HK), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), laktat dehidrogenaz (LDH), malat dehidrogenaz (MDH).

xyalzine ile 0.5 ml/kg ketamin verilerek genel anestezi altında yapıldı. Deneylerin son gününe kadar sıçanların tedavisi yapılırken kesi bölgesini enfeksiyon riskine karşı korumak amacıyla günlük yara bakımı (Batticon solüsyonu ile) yapıldı. Deney boyunca sıçanlarda enfeksiyon gözlenmedi.

Bleomisin uygulanmasından 14 gün sonra sıçanlara 1mg/kg xyalzine ile 0.5 ml/kg ketamin genel anestezi amacıyla i.p. verildi. Kalp atışı devam eden hayvanların göğüs boşlukları makas ile orta hat boyunca kesilerek akciğer dokuları doku bütünlüğü korunarak çıkartıldı. Sıvı azot tankı içinde donduruldu ve -85 °C'ye ayarlı derin dondurucuda (Nuaire -85 °C Ultralow Freezer, Japonya) biyokimyasal testlerin yapılacağı güne kadar muhafaza edildi.

Daha sonra derin dondurucudan çıkarılan akciğer dokuları soğuk bidistile su ile yıkandı ve kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra yaş doku ağırlıkları kaydedildi, küçük parçalara ayrılarak cam tüplere konuldu. Üzerine Tris-HCl tamponu [0.2 mM ve Tris solüsyonu HCl solüsyonu 50/39.9 (v/v)] eklenerek homojenizatör ile (Ultra Turrax Type T25-B, IKA Labortechnik, Germany) 16000 devir/dakika hızda 3 dakika süre ile homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri esnasında ısınmayı önlemek için kar dolu kablolar ve buz aküleri kullanıldı. Oluşan homojenat 5000 x g'de 1 saat (+4 °C'de) santrifüjlenerek süpernatant elde edildi. Süpernatantlar analiz işlemleri esnasında +4 °C'de muhafaza edildi.

Akciğer dokusu HK, G6PD, LDH ve MDH enzimlerinin aktiviteleri süpernatantda spektrofotometrik olarak tayin edildi (14). Süpernatantlardan Lowry'nin tarif ettiği metodla protein tayinleri yapıldı (15).

İstatistiksel analizler statistical package for social sciences (SPSS) programı ile yapıldı. Grupların dağılımları Non-parametrik testlerden "one-sample Kolmogorov-Smirnov Test" ile değerlendirildi. Gruplar normal dağılım gösterdiği için grupların karşılaştırılmasında parametrik testlerden "One-way ANOVA" testi ve Post Hoc testlerden LSD (Least significance difference) kullanıldı. Sonuçlar ortalama standart hata olarak verildi. İstatistiksel anlamlılık için p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Sonuçlar toplu halde Tablo 1'de verilmiştir. Kontrol, BLM + E vit ve BLM + Erdostein gruplarında HK enzim aktivitelerinin BLM grubuna göre istatistiksel olarak arttığı tespit edildi (p<0.001). Ayrıca kontrol grubu HK enzim aktivitesi BLM + Erdostein grubuna göre yüksek ölçüldü (p<0.05). Bunun yanında, G6PD, LDH ve MDH enzim aktiviteleri BLM grubunda diğer tüm gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek oldukları görüldü (p<0.001). Kontrol ile BLM + E vit gruplarında tüm enzim aktiviteleri açısından anlamlı bir fark yoktu (p>0.05). Ayrıca kontrol ile BLM + Erdostein grupları arasında G6PD, LDH ve MDH

enzim aktiviteleri açısından da anlamlı farklılık olmadığı tespit edildi ($p>0.05$).

Tartışma

Yaygın olarak kullanılan bir çok antineoplastik ajan gibi BLM de yan etkilerinden dolayı kısıtlı kullanıma sahiptir. BLM akciğer dokusunda birikmesi ve PF modelinde yer alması nedeniyle, PF çalışmalarıyla BLM toksisitesine karşı tedavi edici önemli sonuçlar elde edilebileceği görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda antineoplastiklerin toksisiteye yol açmada kullandığı mekanizmaların arasında oksijen radikal oluşumunu önemli yer tuttuğu gösterilmiştir (16-18). Toksik olayların başlamasından sonra ciddi doku hasarları görülmektedir. Hücrenin enerji kaynağının esasını elektron transport zinciri, dolayısıyla mitokondriler oluşturmaktadır. Burada motor güç moleküler oksijendir, çünkü sonuçta elektronlar oksijene aktarılarak su ve ATP oluşturulmaktadır. Yeterli oksijenin sağlanmadığı durumlarda hücrenin ATP deposu hızla tükenmektedir. Depo enerjinin tükenmesi bir dizi hücresel olayın bozulmasına yol açar; membrandan transport işlemleri yapılamaz, statik değil dinamik bir organel olduğundan yeni moleküller kontrollü olarak hücre membranının yapısına girip çıkamaz, hücre içi ve dışı ortamlar arasında mevcut olan kimyasal ve elektriksel farklılıklar korunamaz ve membran yavaş yavaş bütünlüğünü kaybetmeye başlar. Akciğer fibrozisi akciğer parankiminde kollajen proteinin aşırı bir şekilde artması ve akciğerin normal fonksiyonlarının kısıtlanması olarak tarif edilmektedir. Sonuçta total akciğer kapasitesi, maksimum hava alıp genişleme kapasitesi ve oksijenlenme başarısı azalır. Bu tip hastalarda görülen ilk belirtiler hipoksi nedeniyle ortaya çıkan aşırı solunum yapma isteğidir. Hastalarda ve deney hayvanlarında oluşturulan fibrozis modellerinde yapılan histolojik ve morfolojik çalışmalar, fibrozisin alveol membranlarının kalınlaşmasıyla başladığını ve ardından koagülasyon kaskadının devreye girerek olayı ilerlettiğini göstermiştir (19). Solunum sistemi bir bütün olarak değerlendirildiğinde akciğerler internal bir organ olarak görev yapmakta, hem üst solunum yollarıyla çevresel etkilere hem de yoğun damarsal yapısından dolayı organizma içi endojen etkilere maruz kalmaktadır (20).

Yapılan bir çalışmada, bir başka antineoplastik ilaç olan sisplatinin böbrek dokusunda lipid peroksidasyonunu anlamlı bir şekilde arttırdığı, buna karşılık da antioksidan enzimlerin (katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon-S-transferaz) aktivitelerini azalttığı belirtilmiştir (21). Daha önce yapılan çalışmalar da sisplatinin lipid peroksidasyonu oluşturarak böbrek ve karaciğer hasarına neden olduğu gösterilmiştir (22,23). Bizim çalışmamızda, BLM grubunda kontrol grubuna göre HK, G6PD, LDH ve MDH aktivitelerinde anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. BLM uygulanan sıçanlarda bu enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen artma

ile, BLM'nin akciğer dokusunda meydana getirdiği muhtemel hasar arasında direkt bir ilişkisinin olduğunu düşünmekteyiz. Sisplatinin böbrek dokusunda G6PD, serumda glutatyon redüktaz ve izositrat dehidrogenaz, karaciğerde izositrat dehidrogenaz ve aspartat aminotransferaz aktivitelerini arttırdığı belirtilmiştir (24). BLM'nin PF yapıcı etkisiyle bizim sonuçlarımızın da karşılaştırılması sonucunda metabolik yol enzimlerindeki değişikliklerle BLM ile indüklenen PF arasında bir ilişki olabileceği ileri sürülebilir.

Daha önce yaptığımız bir çalışmada antineoplastik ajanlardan doksorubisinin kalp toksisitesine karşı erdosteine kullanıldı (17). Sonuçta doksorubisinin benzer şekilde kalp dokusunda lipid peroksidasyonunu artırarak hasara yol açtığı ve ışık mikroskopik düzeyde de bu hasarın tespit edildiği görüldü. Erdosteine oral yolla uygulandığı zaman doksorubisinin kardiyotoksitesine karşı koruyucu etki göstermiştir (25,26). Erdosteine taşıdığı -SH grubu nedeniyle antioksidan özellik gösterdiği için periferik nötrofillerin bu fonksiyonları üzerine düzenleyici ve koruyucu etkilerinin olabileceği düşünülmüş ve yapılan bir araştırmada (27) sigara içen sağlıklı bireylerin PMNL'si üzerine erdosteinin kemotaksisi düzenleyici yönde etki ettiği gösterilmiştir.

Bleomisin+Erdosteine grubunda metabolik enzimlerde BLM grubuna göre azalan aktivite erdosteinin koruyucu etkisinin bir göstergesi olabilir. HK, glikolizde glukoz'u glukoz-6-fosfat'a çevirerek merkezi bir rol oynar (28). Pentoz fosfat metabolik yolunun önemli anahtar rolünü oynayan ve aynı zamanda antioksidan bir enzim olan G6PD, Glukoz-6-fosfatı 6-fosfoglukonolaktone dönüştürür (29). Pentoz fosfat metabolik yolunda redükleyici güce sahip olan NADPH molekülleri üretilmektedir. NADPH hücrede bir çok metabolik süreçte rol alır. Bunlar arasında yağ asidi sentezi, kolesterol sentezi, enerji üretimi ve çeşitli biyosentez yollarında bir elektron donörü olarak, oksidatif hasara karşı hücreleri korumak için gerekli olan redükte glutatyonun sentezini sayabiliriz (30,31). Glutatyon, toksik kimyasallara karşı, hücre savunma sisteminde rol alır (32). Ayrıca protein ve DNA sentezinde, hücre membranının bütünlüğünün korunmasında ve enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde önemli bir rolü vardır (32). Doku hasarının tamirinde NADPH, D-deoksiriboz 5-fosfat, D-riboz 5-fosfat ve diğer makromoleküllere ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun yanında BLM'ye bağlı PF oluşum mekanizmasını engellemek için oksidatif ürünlerin süpürülmesinde diğer antioksidanlara ihtiyaç duyulur. Artan glutatyon sentezi serbest radikallerin süpürülmesini kolaylaştırır. Fadılloğlu ve Erdoğan yaptıkları çalışmada erdosteine uygulamasının sıçanların plazma ve eritrositlerinde glutatyon peroksidaz enzim aktivitesini artırdığını göstermişlerdir (33).

Sonuç olarak, erdosteine tedavisinin hasarlı dokuda metabolik süreçlerde özellikle glikoliz ve pentoz fosfat yolunda bütünlüğü daha iyi koruyarak doku hasarını

engellemede yararlı olduğunu söyleyebiliriz. Hücresel metabolizmanın özellikle pentoz fosfat yolunun bu şekilde korunmasının hücresel savunmada önem arz eden NADPH'nin da yapımında meydana gelebilecek aksamaların engellendiğini ve böylece doku hasarına izin verilmediğini söyleyebiliriz. Ancak koruyucu mekanizmaların daha iyi açıklanabilmesi daha detaylı ve özellikle in vitro ve in vivo çalışmalarla sonuçların desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Cherniack RM, Colby TV, Flint A, Thurlbeck WM, Waldron SA Jr, Ackerson L, Schwarz MI, King TE Jr. Correlation of structure and function in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1180-1188.
2. Colby TV, Swenson SJ. Anatomic distribution and histopathologic patterns in diffuse lung disease correlation with HRCT. *J Thorac Imaging* 1996; 11: 1-26.
3. Bensadoun ES, Burke AK, Hogg JC, Roberts CR. Proteoglycan deposition in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1819-1828.
4. Zitnik RJ. Drug-induced lung disease: cancer chemotherapy agents. *J Respir Dis* 1995; 16: 855-865.
5. Koslowski R, Knoch KP, Wenzel KW. Proteinases and proteinase inhibitors during the development of pulmonary fibrosis in rat. *Clinica Chimica Acta* 1998; 271: 45-56.
6. Yousem SA, Lifson JD, Colby TV. Chemotherapy-induced eosinophilic pneumonia: relation to bleomycin. *Chest* 1985; 88: 103-106.
7. Iozzo RV. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 609-652.
8. Vagliasindi M. Clinical Expert Report 1996.
9. Koslowski R, Knoch KP, Wenzel KW. Proteinases and proteinase inhibitors during the development of pulmonary fibrosis in rat. *Clinica Chimica Acta* 1998; 271: 45-56.
10. Van Hoozen BE, Grimmer KL, Marelich GP, Armstrong LC, Last JA. Early phase collagen synthesis in lungs of rats exposed to bleomycin. *Toxicology* 2000; 147: 1-13.
11. Scuri R, Giannetti P, Paesano A. Effect of erdosteine and its metabolites on tracheobronchial mucus production and transport. *Drugs Ext Clin Res* 1988; 14: 693-698.
12. Miyake K, Kaise T, Hosoe H, Akuta K, Manabe H, Ohmori K. The effect of erdosteine and its active metabolite on reactive oxygen species production by inflammatory cells. *Inflamm Res* 1999; 48: 205-209.
13. Hosoe H, Kaise T, Ohmori K. Erdosteine enhances mucociliary clearance in rats with and without airway inflammation. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1998; 40: 165-171.
14. Mannheim Boehringer. Biochemica Information, Glucose 6-phosphate dehydrogenase, Hexokinase, Lactate dehydrogenase, Malate dehydrogenase. 1973; Sayfalar; 99-100, 113-114, 121-122, 125-126.
15. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
16. Yıldırım Z, Söğüt S, Odacı E, Iraz M, Özyurt H, Kotuk M, Akyol Ö. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol Res* 2003; 47: 149-156.
17. Fadillioğlu E, Erdogan H, Sogut S, Kuku I. Protective effects of erdosteine against doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *J Appl Toxicol* 2003; 23: 71-74.
18. Fadillioğlu E, Oztas E, Erdogan H, Yagmurca M, Sogut S, Ucar M, Irmak MK. Protective effects of caffeic acid phenethyl ester on doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *J Appl Toxicol* 2004; 24: 47-52.
19. Fukada Y, Ferrans VJ, Shoenberg CI. Patterns of pulmonary structural remodeling after experimental paraquat toxicity. *Am J Pathol* 1985; 118: 452-475.
20. Braga PC. Vitamin C in respiratory disease. In: Vitamin C. Paoletti R, Sies H, Bug J. et al. Springer Verlag, Milan 1998; 87-106.
21. Mansour MA, Mostafa AM, Nagi MN, Khattab MM, Al-Shabanah OA. Protective effect of aminoguanidine against nephrotoxicity induced by cisplatin in normal rats. *Comp Biochem Physiol C* 2002; 132:123-128.
22. Özyurt H, Söğüt S, Yılmaz HR, Kotuk M, Akyol Ö, Yıldırım Z. Sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede plazma SOD, ADA ve XO enzim aktiviteleri ile MDA, NO düzeyleri ve bunlar üzerine CAPE'nin etkileri. 17. Ulusal Biyokimya Kongresi, ANKARA, Kongre Özet Kitabı, Haziran 2002; s.439, 24-27.
23. Yılmaz HR, Söğüt S, Özyurt H, Şahin Ş, Işık B, Özyurt B, Akyol Ö. Yüksek doz cisplatin uygulanan sıçanlarda karaciğer ADA, CAT, SOD, XO enzim aktiviteleri ile NO ve MDA düzeyleri üzerine kafeik asit fenetil ester'in (CAPE) etkisi. Klinik Biyokimya ve Kanser Sempozyumu, Kervansaray Termal Otel / Bursa. Özet Kitabı, Eylül 2002; s.123, 26-29.
24. el Daly ES. Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus sativus* and *Nigella sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *J Pharm Belg* 1998; 53:87-93.
25. Yağmurca M, Fadillioğlu E, Erdoğan H, Uçar M, Söğüt S, Irmak MK. Erdosteine prevents doxorubicin induced cardio-toxicity in rats *Pharmacol Res* 2003; 48(4): 377-382.
26. Fadillioğlu E, Yılmaz HR, Erdoğan H, Söğüt S. The activities of tissue xanthine oxidase and adenosine deaminase and the levels of hydroxyproline and nitric oxide in rat hearts subjected to doxorubicin: protective effect of erdosteine *Toxicology* 2003;191:153-158.
27. Ciaccia A, Papi A, Tschirky B, Fregnan B. Protection of erdosteine on smoke-induced peripheral

neutrophil dysfunction both in healthy and in bronchitic smokers. *Fundam Clin Pharmacol* 1992; 6: 375-382.

28. Magnani M, Stocch V, Dacha M, Fornaini G. Regulatory properties of rabbit red blood cell hexokinase at conditions close to physiological. *Biochim Biophys Acta* 1984; 804: 145-153.

29. Ho HY, Cheng ML, Lu FJ, Chou YH, Stern A, Liang CM, Chiu DTY. Enhanced oxidative stress and accelerated cellular senescence in glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient human fibroblasts. *Free Radic Biol Med* 2000; 29: 156-169.

30. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. Twenty-fourth edition, Prentice-Hall International, Inc, The United States of America, 1996.

31. Ganczakowski M, Town M, Bowden DK, Vulliamy TJ, Kaneko A, Clegg JB, Weatherall DJ, Luzzatto L. Multiple glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient variants correlate with malaria endemicity in Vanuatu Archipelago (Southwestern Pacific). *Am J Hum Genet* 1995; 56: 294-301.

32. Skrzydlewska E, Farbiszewski R. Decreased antioxidant defense mechanisms in rat liver after methanol intoxication. *Free Radic Res* 1997; 27: 369-375.

33. Fadillioglu E, Erdogan H. Effects of erdoisteine treatment against doxorubicin-induced toxicity through erythrocyte and plasma oxidant/antioxidant status in rats. *Pharmacol Res* 2003; 47: 317-322.

rat hearts subjected to doxorubicin: protective effect of erdoisteine *Toxicology* 2003;191:153-158.