

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

AGMATİNİN DENEYSEL SIÇAN SEPTİK ŞOK MODELİNDE BOZULMUŞ  
VASKÜLER YANITA ETKİSİ

Dr. Esin ÖZÇELEBİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2023



**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**AGMATİNİN DENEYSEL SIÇAN SEPTİK ŞOK MODELİNDE BOZULMUŞ**  
**VASKÜLER YANITA ETKİSİ**

**Dr. Esin ÖZÇELEBİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Danışman Öğretim Üyesi**  
**Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT**

**ANKARA**

**2023**

## TEŞEKKÜR

Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimim boyunca, yetkin bir farmakolog olarak yetişmeme katkı sağlayan tez danışmanım Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT'e ve tüm Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürecinde fikir alışverişini esirgemeyen, bilimsel araştırmada bireysellik yerine birliği sağlamak adına emek sarf eden meslektaşlarım Arş. Gör. Dr. Barışcan ÇİMEN'e ve Melikşah DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Bilimsel alanda kadını temsil eden meslektaşlarım Arş. Gör. Dr. Elif AKAYDIN'a, Arş. Gör. Dr. Aslı AKYOL'a, Arş. Gör. Dr. Kübra KARADAĞ'a ve Arş. Gör. Dr. Ayşe Ece GEZEN YILMAZ'a manevi desteklerinden dolayı teşekkürlerimi, kendilerini mutlu edecek her tür başarılarına dair iyi dileklerimi ve desteğimi sunarım.

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda eğitimini alan meslektaşlarım, asistan arkadaşlarıma iyi dileklerimi sunar, başarılarını dilerim.

Hayatta atabildiğim küçük adımları büyük sevinçlere dönüştüren, başkası adına mutlu olabilmeyi ve saygıyı öğreten aileme sevgimi, saygımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Türkiye'de bilimin ve aklın gelişmesine katkı sunan Mustafa Kemal ATATÜRK'e saygımı sunar ve teşekkürü gönül borcu bilirim.

## ÖZET

**Özçelebi, Esin. Agmatinin deneysel sıçan septik şok modelinde bozulmuş vasküler yanıtı etkisi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2023.** Sepsis, konağın enfeksiyon odağına geliştirdiği inflamatuvar yanıttır. İnflamasyonun şiddetinden bağımsız olarak bozulmuş hemodinamik homeostaz aracılı organ işlevindeki yetersizlik nedeniyle mortalite gözlemlenmektedir. Bu sebeple kardiyovasküler sistemi destekleyen tedavi protokollerinin prognoza katkısı vardır. Tedavi protokollerinin süreç içinde etkililiğini yitirmesi, ayrıca mücadelede yararlı yolları etkilemesi sebebiyle etkileşim oranını düşüren protokollere ihtiyaç artmaktadır. Agmatin imidazolin reseptör agonisti,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör modülatörü, nitrik oksit sentaz inhibitörüdür. Santral sinir sistemi aracılığıyla kan basıncını artırabilmektedir. Periferel vasküler yapıya doğrudan etkisi ile vazodilatasyona sebep olmaktadır. İki farklı agmatin dozunun (3 mg/kg ve 10 mg/kg) etkisi, septik şokun hipodinamik profilini (düşük kan basıncı, süregelen vazokonstriksiyon) sıçanda oluşturabilen 4 mg/kg intraperitoneal lipopolisakkarit enjeksiyonu modelinde incelenmiştir. Lipopolisakkarit enjeksiyonu ardından femoral arterden girişimsel teknik ile ölçülen *in vivo* ortalama kan basıncı ve superior mezenter arterden ölçülen kan akımı hızı ile norepinefrin yanıtı azalmış; abdominal aort ve torasik aort preparatında fenilefrin, asetilkolin dozuna bağımlı *ex vivo* kasılma-gevşeme yanıtı baskılanmıştır. Serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonu artmıştır. Lipopolisakkarit ardından agmatin uygulanan gruplarda ise kan akım hızı artmış; baskılanan norepinefrin yanıtı ve abdominal aorta preparatında fenilefrin, asetilkolin yanıtları geri kazanılmıştır. Serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  üzerine agmatin etkisi bulunmamıştır. Agmatin, azalmış mezenter kan akım hızını artırması ve vasküler yapının yanıt profilini düzenlemesi sebebiyle sepsis sürecinde hemodinamik homeostazı sağlayabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Sepsis, Hemodinamik Homeostaz, İnflamasyon, Agmatin

## ABSTRACT

**Ozcelebi, Esin. Effects of agmatine on impaired vascular response in an experimental rat septic shock model. Hacettepe University Faculty of Medicine Department of Medical Pharmacology Specialization Thesis in Medicine, Ankara, 2023.** Sepsis is the inflammatory response of the host to pathogen. Regardless of the severity of inflammation, mortality is observed as a result of impaired hemodynamic homeostasis-mediated organ dysfunction. Therefore, treatment protocols that support the cardiovascular system contribute to the prognosis. The need for protocols that support and also reduce the concentrations of current treatments is necessary as the current protocols lose their efficacy over time and also affect beneficial pathways. Agmatine is an imidazoline receptor agonist,  $\alpha$ 2-adrenergic receptor modulator and nitric oxide synthase inhibitor. It can increase blood pressure through the central nervous system. It causes vasodilation with its direct effect on peripheral vascular structure. The effect of two different doses of agmatine (3 mg/kg and 10 mg/kg) was examined in a 4 mg/kg intraperitoneal lipopolysaccharide injection model that can produce the hypodynamic profile of septic shock (low blood pressure, persistent vasoconstriction) in rats. After lipopolysaccharide injection, *in vivo* mean blood pressure measured from femoral artery, norepinephrine responses and blood flow measured from superior mesenteric artery were decreased; dose-dependent phenylephrine, acetylcholine *ex vivo* response was suppressed in abdominal aorta and thoracic aorta preparations. Serum TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  concentrations were increased. In the groups administered lipopolysaccharide followed by agmatine, blood flow were increased; suppressed norepinephrine response or phenylephrine and acetylcholine responses in the abdominal aorta preparation were restored. There was no effect of agmatine on serum TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . Agmatine may provide hemodynamic homeostasis in sepsis by restoring mesenteric blood flow and regulating the response profile of the vascular structure.

**Keywords:** Sepsis, Hemodynamic Homeostasis, Inflammation, Agmatine

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİL DİZİNİ.....	xii
TABLO DİZİNİ.....	xiv
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Sepsisin Tanımı.....	3
2.2 Sepsis Sürecinin Patofizyolojisi.....	3
2.2.1. Sepsis Sürecinde Kardiyovasküler Patofizyoloji.....	5
2.3. Sepsisin Deney Hayvanına Uygulanan Modelleri.....	9
2.4. Sepsis Sürecinde Tedavi Olanakları.....	12
2.5. Agmatin.....	13
2.5.1. Agmatinin Kardiyovasküler Sistemde Santral Sinir Sistemi Aracılı Etkisi .....	15
2.5.2. Agmatinin Kardiyovasküler Sistemde Periferik Mekanizma Aracılı Etkisi.....	17
2.5.3. Agmatinin İnflamatuvar Yanıtta Etkisi.....	19
2.6. Amaç ve Hipotez.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	21
3.1. Deney Hayvanları.....	21
3.2. Etik Kurul İzni.....	21
3.3. İlaç Uygulamaları.....	21
3.4. Fonksiyonel Değerlendirme.....	22
3.4.1. <i>In Vivo</i> Deneysel Model.....	22
3.4.1.1. Sepsis Modeli ve Tedavi Protokolü.....	22

3.4.1.2. Femoral arter, Girişimsel Kan Basıncı Ölçümü Tekniği.....	23
3.4.1.3. Superior mezenter arter, Kan Akımının Ölçüm Tekniği..	26
3.4.2. <i>Ex Vivo</i> Deneysel Model.....	26
3.5. Moleküler Değerlendirme.....	29
3.5.1. <i>In Vitro</i> ELISA Tekniği.....	29
3.6. Deney Protokolü.....	30
3.7. İstatistiksel Analiz.....	32
4. BULGULAR.....	33
4.1. Ön Çalışmanın Sonuçları.....	33
4.1.1. LPS Dozunun Seçilmesi.....	33
4.2. Agmatinin <i>In Vivo</i> Deneysel Modeldeki Etkileri.....	34
4.2.1. Agmatinin Kan Basıncına ve Dakikadaki Kalp Atımı Sayısına Etkileri.....	34
4.2.1.1. Ortalama Arteriyel Kan Basıncı Verileri.....	34
4.2.1.2. Kalp Atımı Sayısı Verileri.....	35
4.2.2. Agmatinin Kan Akım Hızına Etkileri.....	37
4.2.2.1. Superior Mezenter Arter Kan Akımı Hızı Verileri.....	37
4.2.3. Agmatinin Norepinefrin Yanıtına Etkileri.....	38
4.2.3.1. Superior Mezenter Arter Kan Akımının Norepinefrin Enjeksiyonu Eşliğindeki Verileri.....	38
4.3. <i>Ex Vivo</i> Deneysel Modelin Sonuçları.....	39
4.3.1. Fenilefrin Yanıtının Verileri.....	40
4.3.1.1. Normalizasyonu Yaş Doku Ağırlığına Oranlanarak Sağlanan Veriler.....	40
4.3.1.1.1. Abdominal Aorta Verileri.....	40
4.3.1.1.2. Torasik Aorta Verileri.....	42
4.3.1.1.3. Agmatin Enjeksiyonu Uygulanan Grupların Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarına Ait Fenilefrin Yanıtlarının Özeti.....	43



4.3.2. Asetilkolin Yanıtının Verileri.....	44
4.3.2.1. Normalizasyonu Yaş Doku Ağırlığına Oranlanarak Sağlanan Veriler.....	44
4.3.2.1.1. Abdominal Aorta Verileri.....	44
4.3.2.1.2. Torasik Aorta Verileri.....	47
4.3.1.1.3. Agmatin Enjeksiyonu Uygulanan Grupların Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarına Ait Asetilkolin Yanıtlarının Özeti.....	48
4.3.3. SNP Yanıtının Verileri.....	49
4.3.3.1. Normalizasyonu Yaş Doku Ağırlığına Oranlanarak Sağlanan Veriler.....	49
4.3.3.1.1. Abdominal Aorta Verileri. ....	49
4.3.3.1.2. Torasik Aorta Verileri.....	52
4.3.3.1.3. Agmatin Enjeksiyonu Uygulanan Grupların Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarına Ait SNP Yanıtlarının Özeti.....	53
4.4. Moleküler Ölçümün Sonuçları.....	54
4.4.1. Serum TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Konsantrasyonunun Verileri.....	54
5. TARTIŞMA.....	56
5.1. LPS Enjeksiyonunun Kan Basıncına ve Superior Mezenter Arter Kan Akımına Etkileri.....	57
5.2. LPS Enjeksiyonu Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun Kan Basıncına ve Superior Mezenter Arter Kan Akımına Etkileri.....	61
5.3. LPS Enjeksiyonunun Superior Mezenter Arter Norepinefrin Yanıtına Etkileri.....	63
5.4. LPS Enjeksiyonu Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun Superior Mezenter Arter Norepinefrin Yanıtına Etkileri.....	64
5.5. LPS Enjeksiyonunun Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarında Fenilefrin, Asetilkolin, SNP Yanıtına Etkileri.....	64

5.6. LPS Enjeksiyonu Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarında Fenilefrin, Asetilkolin, SNP Yanıtına Etkileri.....	66
5.7. LPS Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Konsantrasyonuna Etkileri.....	69
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	70
7. KAYNAKLAR.....	72

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>ACh</b>	Asetilkolin
<b>ACTH</b>	Adrenokortikotropik hormon
<b>AP-1</b>	Aktivatör protein-1
<b>AVP</b>	Arjinin vazopresin
<b>CLP</b>	Çekal ligasyon ve delme
<b>CRH</b>	Kortikotropin salgılayıcı hormon
<b>DAMP</b>	Hasar ilişkili moleküler patern
<b>DMPP</b>	Dimetilfenilpiperazinium
<b>EAS</b>	Elektriksel alan stimülasyonu
<b>eNOS</b>	Endotelyal nitrik oksit sentaz
<b>HPAA</b>	Hipotalamik-pitüiter-adrenal aks
<b>HRP</b>	Horse radish peroxidase
<b>iNOS</b>	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
<b>i.p.</b>	İntraperitoneal
<b>KO</b>	Kardiyak output
<b>LPS</b>	Lipopolisakkarit
<b>MATE-1</b>	Multidrug and toxin extrusion protein 1
<b>NA</b>	Nükleus ambiguus
<b>NET</b>	Ekstraselüler nötrofil tuzağı
<b>NF-κB</b>	Nükleer faktör κB
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartik asit
<b>N-NLA</b>	Nω-nitro-L-arjinin
<b>nNOS</b>	Nöronal nitrik oksit sentaz
<b>NO</b>	Nitrik oksit
<b>NOS</b>	Nitrik oksit sentaz
<b>NTS</b>	Nucleus tractus solitarius
<b>OCT</b>	Organik katyon transporter
<b>PAMP</b>	Patojen ilişkili moleküler patern
<b>PRR</b>	Patern tanıyıcı reseptör

<b>RAAS</b>	Renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi
<b>RVLM</b>	<i>Rostral ventrolateral medulla</i>
<b>SA</b>	<i>Nodus sinuatrialis</i>
<b>SIRS</b>	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
<b>SNP</b>	Sodyum nitroprüsiyat
<b>SV</b>	Stroke volume
<b>TLR-4</b>	Toll like reseptör-4

## ŞEKİL DİZİNİ

**Şekil 2.1.** Poliamin zincirinin ve imidazolin halkasının kimyasal iskeleti.

**Şekil 3.1.** *In vivo* fonksiyonel ölçüm-değerlendirme için uygulanmış cerrahi yöntem ve kullanılmış cihazlar.

**Şekil 3.2.** Deney protokolü.

**Şekil 4.1.** Femoral artere yerleştirilen kateter ve basınç transdüseri aracılığıyla ölçülen, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait ortalama kan basıncı verilerinin ön çalışmada karşılaştırılması.

**Şekil 4.2.** Femoral artere yerleştirilen kateter ve basınç transdüseri aracılığıyla ölçülen, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait ortalama kan basıncı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.3.** Farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait dakikadaki kalp atım sayısı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.4.** Superior mezenter artere yerleştirilen akım probu aracılığıyla ölçülen, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait kan akımı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.5.** Farklı tedavi gruplarındaki sıçanların norepinefrin eşliğinde superior mezenter arter ait kan akımı yanıtının karşılaştırılması.

**Şekil 4.6.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta preparatlarının fenilefrin aracılı kasılma yanıtı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.7.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait torasik aorta preparatlarının fenilefrin aracılı kasılma yanıtı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.8.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta preparatlarının asetilkolin aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.9.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait torasik aorta preparatlarının asetilkolin aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.10.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta preparatlarının SNP aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.11.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait torasik aorta preparatlarının SNP aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması.

**Şekil 4.12.** Farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait serum örneklerinde TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

**TABLO DİZİNİ****Tablo 3.1.** Organ banyosu çalışma protokolü**Tablo 3.2.** Deney Grupları

## 1. GİRİŞ

Sepsis kavramı enfeksiyon ve enfeksiyona eşlik eden inflamatuvar yanıt ile ilişkili organ disfonksiyonunu ve dolaşım şokunu içermektedir. Sepsisin erken döneminde gelişen ve süreç içinde devam eden, homeostazi dengelemeye çalışan sistemlerin kompleks yanıtları kötü prognozu derinleştirmekte; mortalite ile sonuçlanmaktadır. Erken dönemde organ disfonksiyonu ve disfonksiyon ilişkili mortalitenin görülmesi sebebiyle “şiddetli sepsis” tanımı günümüzde önemini yitirmektedir. 2016 yılında “enfeksiyona uygunsuz konak yanıtı sonucu gelişen ve yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu” tanımı ile enfeksiyonun düşük şiddetine rağmen konağın geliştirdiği uygunsuz inflamatuvar yanıtın mortalitede artış potansiyeli vurgulanmıştır (1).

Sepsis sürecinde tetiklenen sistemler, koruyucu ve inflamasyonu alevlendiren süreç içinde zararlı yolları eş zamanlı, *positive feedback* mekanizması ile, uyarılmaktadır. Uzun süreli inflamatuvar etkinlik ve eş zamanlı inflamasyon karşıtı mekanizmaların etkinleşmesi homeostazın sağlanmasını güçleştirmektedir. Süreç ilerledikçe patofizyoloji ile mücadelede vücut ve sistemleri yetersiz kalmakta, tablo şiddetlenmektedir (2, 3).

Klinik incelemeler, organ fonksiyonlarındaki sepsis sürecine bağlı değişiklikleri sistemler (*periferal – santral*) bütününde değerlendirmektedir. Organ ve sistem işlevselliğinin devamlılığını sağlayan kardiyovasküler sisteme ait parametreler, periferal – santral mekanizmaların devreye girmesi sonucu değişiklik göstermektedir; dengeleyici mekanizmalara rağmen fizyolojik değeri yansıtmayan parametreler şokun göstergesi kabul edilmektedir (4, 5). Deneysel sepsis/septik şok modellerini baz alan hayvan çalışmaları, kan basıncını düzenleyen endojen homeostatik mekanizmaların ve tedavi protokollerinin mortalite oranını düşürdüğünü göstermektedir; fakat insanı baz alan klinik incelemelerin meta analizleri henüz oluşturulmamıştır (6-10).

Şokun hemodinamik tedavisi, sepsiste gözlemlenen kardiyovasküler parametre değişikliği patofizyolojisinin santral ve periferal mekanizmalarına etki etmektedir. (11-16). Ancak kardiyovasküler tedavilerin inflamatuvar etki profili (*oksidatif stres ve metabolik değişikliğe sebep olması, yararlı inflamatuvar yanıtı*



*baskılaması*), tedavilerin etkileşim oranını düşüren tedavi protokollerine ihtiyacı doğurmuştur (13).

Literatürde imidazolin reseptör agonisti,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör modülatörü, nitrik oksit sentaz inhibitörü agmatinin santral sinir sistemi aracılı kan basıncı üzerine etkilerini veya vasküler düz kas aracılı etkinliğini inceleyen çalışmalar, kardiyovasküler profil üzerine paradoksik sonuçlar sunmaktadır. Kan basıncını arttıran agmatin, vazodilatasyona sebep olabilmektedir (17, 18). Agmatin etkisi, septik şokun hipodinamik profilini (düşük kan basıncı, süregelen vazokonstriksiyon) oluşturabilen sıçan modelini temel alan çalışmada incelenmiştir (19). Katekolamin yanıtına etkisi ile vasküler ve inflamatuvar profile etkisi araştırılmıştır.

Tez çalışmasının amacı agmatinin hemodinamik profilini araştırmak, sepsis sürecinde bozulmuş hemodinamik homeostaza ve inflamatuvar yanıtına etkisini incelemektir. Hemodinamik profil ve inflamatuvar yanıt verileri, sepsis sürecinde hemodinamik homeostazi korumaya yönelik tedaviler ile agmatin etkileşimi inceleyen çalışmaların temeli olacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sepsisin Tanımı

1992 yılında sepsis, şüphelenilen veya kanıtlanmış enfeksiyon odağına karşı gelişen sistemik inflamatuvar yanıt (*SIRS*); şiddetli sepsis, sepsise eşlik eden organ disfonksiyonu, doku hipoperfüzyonu veya hipotansiyon; septik şok, en az iki *SIRS* kriterinin pozitifliği (ateş  $>38^{\circ}\text{C}$  veya  $<36^{\circ}\text{C}$ , kalp atım hızı  $>90/\text{dk}$ , solunum hızı  $>20/\text{dk}$  veya  $\text{PaCO}_2 <32 \text{ mmHg}$ , lökosit sayısı  $>12.000/\text{mm}^3$  veya  $<4.000/\text{mm}^3$  veya bant nötrofil  $>10\%$ ) ile beraber sıvı resüsitasyonuna rağmen devam eden organ disfonksiyonu veya hipotansiyon ve vazoaaktif tedavinin gerekliliği şeklinde tanımlanmıştır. 2001 yılında laboratuvar ve klinik kriterler güncellenmiş; 2004 yılında bahsedilen kriterler, “*Surviving Sepsis Campaign*” kılavuzu ile Dünya genelinde sepsis tanısı için kabul görmüştür.

*SIRS* kriterleri, sıklıkla edinilmiş immün yanıtın sonuçlarını yansıtmaktadır. Sepsis kavramı enfeksiyon ve enfeksiyona eşlik eden inflamatuvar yanıt ile ilişkili organ disfonksiyonunu ve şoku içermektedir. Sepsisin erken döneminde gelişen, organ sistemlerinde fizyolojik ve biyokimyasal bozuklukların temelindeki hücrel hasar ile organ disfonksiyonunun gelişimi süreç yönünde tutarlılık göstermiştir; enfeksiyon şüphesine eşlik eden organ disfonksiyonunun, düşük şiddette olsa bile, mortaliteye katkısının  $\%10$  ve üzeri olduğu gösterilmiştir. Bu durumda “şiddetli sepsis” tanımı önemini yitirmiştir. Sepsis, 2016 yılında “enfeksiyona karşı uygunsuz konak yanıtı sonucu gelişen ve yaşamı tehdit eden organ disfonksiyonu” olarak tanımlanmıştır. Yeni tanım, enfeksiyonun düşük şiddetine rağmen konağın enfeksiyona karşı geliştirdiği uygunsuz inflamatuvar yanıtın organ disfonksiyonunu artırarak sebep olduğu mortalite potansiyelinin altını çizmiştir (1).

### 2.2. Sepsis Sürecinin Patofizyolojisi

Sepsis, periferik ve santral mekanizmaların homeostazı sağlamak adına tetiklendiği süreç olarak tanımlanmıştır. Homeostaz mekanizmaları, hücrel ve organ sistemleri düzeyinde değişikliğe sebep olarak etkisini göstermektedir. Süreç içinde, moleküler düzeyde ve klinik bulgu ile etkisi gözlemlenebilen, takip edilebilen homeostatik mekanizmalar körelmektedir.

Sepsis sürecinin temel mekanizmasını, hücresel/moleküler düzeyde tetiklenen ve baskılanamayan inflamatuvar yollar oluşturmaktadır. Bağışıklık sistemine ait hücreler, hücre zarında veya hücre içinde vücudun yabancı kabul ettiği patojene ait yapıtaşlarını tanıyan reseptörleri içermektedir. Yapıtaşı, patojen ilişkili moleküler patern (*pathogen associated molecular pattern*, PAMP); reseptör ise patern tanıyıcı reseptör (*pattern recognition receptor*, PRR) olarak adlandırılmaktadır. Patojene karşı sağlıklı yanıt, PRR-PAMP etkileşimi ardından inflamatuvar, antiinflamatuvar yolların lokalize aktivasyonu ve patojenin uzaklaştırılması şeklindedir. İnflamatuvar yanıtı yönlendiren transkripsiyon faktörleri (nükleer faktör  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B ve aktivatör protein-1, AP-1), etkileşim sonucu aktifleşen hücre içi yollar aracılığıyla üretilmekte; bağışıklık yanıtında görevli hücrelerden sitokin, kemokin, kompleman ürünleri ve koagülasyon faktörlerinin üretimini ve saliverilmesini harekete geçirmektedir (20, 21). Vasküler endotel hücreleri, bağışıklık yanıtında görevli hücrelerin göçünü sağlamak ve yanıtı lokalize kılmak adına adezyon proteinlerini artırmaktadır, hücreler arası bağlantılarını (*gap junctions*) genişletmektedir (22). Endotel ve bağışıklık sistemi hücrelerinde nitrik oksit sentaz (sırasıyla endotelyal ve indüklenebilir, eNOS, iNOS) enzimi aktivitesi ile sentezlenen nitrik oksit (NO), bahsedilen mekanizmaya katkı sağlamaktadır. Ayrıca NO bağışıklık hücresinden sitokin saliverilmesini sınırlayarak antiinflamatuvar, serbest radikalleri bağlama etkisiyle anti-oksidan etki göstermekte; hasarı sınırlandırmaktadır (23). Sağlıklı inflamatuvar yanıt, patojene ait antijenin lenfositlere sunulması ardından özgül antikorların sentezlenmesi ve bağışıklık sisteminin hafızasının oluşması ile sonlanmaktadır (24). Sepsis patofizyolojisi, eş zamanlı etkinleşen inflamatuvar ve antiinflamatuvar yolların dengesindeki bozukluk ile açıklanabilmektedir. Başlangıçta etkinleşen inflamatuvar yolak, süreğen hiperinflamatuvar yanıtı dönüşmektedir. PRR grubunda yer alan *toll like receptor-4* (TLR-4), PAMP'a ek hasar ile ilişkili moleküler patern (*damage associated molecular pattern*, DAMP) ile etkileşmektedir; inflamatuvar yanıtı süreğenleştirmekte ve alevlendirmektedir (25). Alevlenme neticesinde bağışıklık sistemi hücreleri, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  benzeri öncül sitokinleri yüksek miktarda üretmekte ve salıvermektedir; sitokinler koruyucu mekanizmaları ve inflamasyonu alevlendiren mekanizmaları döngüsel şekilde

(*positive feedback*) uyarmaktadır (26). Hiperinflamatuvar yanıt, patojeni hapsetmek adına bağışıklık hücreleri aracılığıyla hücreler arası ağ kurulmasına (örneğin nötrofilin hücre dışı tuzağı, *neutrophil extracellular traps*, NET) öncülük etmekte; fakat endotel hasarına sebep olmaktadır (27). Sentezi bağışıklık hücrelerine ait iNOS enzim aktivitesinin hakimiyetine geçen NO, hasara sebep olmaktadır. Ayrıca hiperinflamatuvar yanıt, uzun vadede uyarılmış bağışıklık hücrelerinin işlevini piropitoz yoluyla sonlandırmaktadır. Piropitoz süreç içinde sağlıklı bağışıklık hücrelerinde, hücreler arası bağlantılar neticesiyle, gözlemlenmektedir (28, 29). Sağlıklı bağışıklık yanıtının son basamağında yer alan T lenfositlerin aşırı uyarımı, piropitozu alevlendirmektedir; lenfosit işlevinde desensitizasyona sebep olmaktadır (30, 31).

Özetle, inflamatuvar ve antiinflamatuvar mekanizmaların uzun vadeli ve eş zamanlı etkinleşmesi hücre/moleküler düzeyde homeostazı bozmaktadır. Süreç ilerledikçe patofizyoloji ile savaşmada bağışıklık sistemi yetersiz kalmakta, inflamatuvar tablo şiddetlenmektedir (2, 3, 20).

### **2.2.1. Sepsis Sürecinde Kardiyovasküler Patofizyoloji**

Sepsis sürecinde bozulmuş homeostaz, organ düzeyinde kardiyovasküler sisteme ait işlevin düzenlenmesi ile sağlanmaktadır. Kardiyovasküler sistemin değişikliklerine sağlıklı yanıt ise santral ve periferik mekanizmaların etkileşimi ile sağlanmaktadır. Kan basıncındaki ve plazma içeriğindeki değişiklikleri algılayan arteriyel-kardiyak baroreseptörler ve kemoreseptörler, kardiyovasküler sistemin kısa vadeli otonom sinir sistemi aracılı düzenleyicileri sayılmaktadır. Uyarılan reseptörlerin yanıtı, *nervus glossofaringeus* ve *nervus vagus* sinirlerinin duyu lifleri aracılığıyla *medulla oblongata*'da bulunan *nucleus tractus solitarius* (NTS) içinde bulunduğu vazomotor merkeze iletilmektedir ve lifler NTS'de sinaps yapmaktadır. Barorefleksin kolinerjik bileşeni, NTS'den *nucleus ambiguus* (NA) uzanmakta ve sinaps yapmakta; ardından kalp hızını düzenlemek adına *nodus sinuatrialis* (SA) postgangliyonik kolinerjik lifler göndermektedir. Adrenerjik bileşeni, NTS'den *rostral ventrolateral medulla* (RVLM) uzanmakta ve sinaps yapmaktadır. Efferent lifler, RVLM'den *nucleus*

*intermediolateralis medullae spinalise* yol almakta; ardından postgangliyonik adrenerjik lifler kalbe, arteriyol ve venüle ilerlemektedir. Kalpte sonlanan adrenerjik liflerin uyarısı dakikadaki kalp atım sayısını ve kasılma gücünü artırmakta (sırasıyla pozitif kronotropi ve inotropi); damar yatağında sonlanan adrenerjik liflerin uyarısı vazokonstriksiyona sebep olmaktadır. Adrenal bezin parçası *adrenal medullada* sonlanan adrenerjik liflerin uyarısı sonucu dolaşım sistemine katekolamin, norepinefrin ve epinefrin, saliverilmektedir. Norepinefrin ve epinefrin kalp atım sayısı ve kasılma gücündeki artışı, vazokonstriksiyonu desteklemektedir. Kalbin atım hacmi (*stroke volume, SV*), dakikadaki atım sayısı ve her iki parametrenin özeti kardiyak output (*cardiac output, KO*) değerleri kalp ve damar sisteminin doğrudan sempatik sinir sisteminin adrenerjik lifleri aracılı uyarısı sonucunda artmaktadır (32, 33).

Homeostazı sağlayan yollar arasında yer alan hipotalamik-pitüiter-adrenal aksın (HPAA) uyarısı ile adrenal bezin parçası *adrenal korteksten* glukokortikoidler saliverilmektedir. Fizyolojik döngüyü düzenleyen hipotalamustan, HPAA'ın birincil hormonu kortikotropin salgılayıcı hormonun (*corticotropin releasing hormone, CRH*) ve arjinin vazopressinin (*arginine vasopressin, AVP*) saliverilmesi stres sebebiyle tetiklenebilmektedir. CRH, adrenokortikotropik hormonun (ACTH) pitüiter bezdeki sentezini ve saliverilmesini artırmaktadır. ACTH, dolaşım sistemi aracılığıyla adrenal beze ulaşmakta ve kortekste kortizol, endojen glukokortikoid, sentezini tetiklemektedir. Hücre alt tiplerinin çoğunda bulunan glukokortikoid reseptörüyle etkileşimi metabolik, immün ve inflamatuvar işlevleri yönlendirmektedir. Böbrek, vasküler endotel ve kalp hücresinde bulunan mineralokortikoid reseptörüyle etkileşimi ile kardiyovasküler sisteme etkisi amplifiye olmaktadır. Sepsis sürecinde kortizol ve reseptör etkileşimi, moleküler düzeyde proinflamatuvar sitokin sentezini baskılamaktadır; vasküler düzeyde ise vazodilatör ve vazokonstriktör madde sentezini baskılamaktadır (34, 35).

Homeostazı uzun vadede sağlayan bir diğer yolak renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS), kan basıncını düzenleyerek homeostazı sağlamaktadır. Anjiyotensin-II, vazokonstriksiyona sebep olmakta; adrenal kortekste aldosteron sentezini ve hipotalamusta vazopressin sentezini tetiklemektedir. Aldosteron ise

böbrek toplayıcı tübülünden su reabsorpsiyonuna sebep olmaktadır. İnvasküler hacmin artışı ile kan basıncı dengede tutulmaktadır (36).

Sempatik sinir sistemi dışında vazomotor merkezden köken alan parasempatik sinir sistemi ve sistemin post-gangliyonik lifleri kalbi hedef almaktadır. Parasempatik uyarı ile negatif kronotropi ve inotropi gözlemlenmekte; KO'ya etkisi nedeniyle kan basıncı düşmektedir (33).

Bahsedilen sistemler aracılığıyla oluşan etki, hedef organ üzerindeki reseptörlerin uyarılması ile meydana gelmektedir. Kardiyovasküler sistemin periferel reseptörleri incelendiğinde,  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptörleri damar düz kasında bulunmaktadır ve vazokonstriksiyonu meydana getirmektedir;  $\beta_1$  ve  $\beta_2$ -adrenerjik reseptörleri çoğunlukla kalpte bulunmaktadır ve pozitif kronotropik, inotropik etkilere aracılık etmektedirler. Damar düzeyinde ise  $\beta_2$ -adrenerjik reseptör uyarımı vazodilatasyona neden olmaktadır. Santral sinir sisteminde presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivasyonu, norepinefrin salıverilmesini baskılamaktadır ve sempatolitik etkiye sebep olmaktadır (33).

Kolinerjik muskarinik reseptör, damar düzeyinde etkili diğer vazomotor reseptör sayılmaktadır. Endotel hücrelerinin kolinerjik reseptörü ligandı ile etkileşerek NOS enzimi tetiklenmektedir ve NO sentezlenmektedir. Enzim aktivitesi sonucu sentezlenen NO vazodilatasyona sebep olmaktadır (37).

Kardiyovasküler sistemin adrenerjik reseptörleri, aşırı uyarılmaya karşı koruyucu döngülere maruz kalmaktadır; reseptörleri aşırı uyarılmaya karşı koruyan bu fizyolojik süreç, uzun süreli uyarı sebebiyle reseptör duyarlılığının azalmasına (desensitizasyon) yol açmaktadır. Döngü süreci, uyarımdan hemen sonra başlayan üç mekanizma aracılığıyla gerçekleşmektedir: fosforilasyon (saniyeler içinde), endositoz (dakikalar içinde) ve *down* regülasyon (saatler içinde). Protein kinaz A/C ve G-proteinine bağlı reseptör kinaz aracılı fosforilasyon yoluyla reseptörlerin endositozu sağlanmakta ve bir kısmı lizozomda parçalanmaktadır. Fosfatazlar aracılığıyla reseptörlerin işlevi geri dönüştürülmektedir (38, 39).

Klinik incelemeler, organ fonksiyonlarındaki sepsis sürecine bağlı değişiklikleri, benzer şekilde periferel ve santral sistemler bütününde değerlendirmiştir. Otonom

sinir sistemine ait parametrelerin doğrudan veya kardiyovasküler sisteme etkilerinin dolaylı göstergesi olan kalp atım sayısındaki değişkenliğin (kardiyak varyabilite), kan basıncındaki değişikliğin, baroreflaks uyarılabilirliğinin takibi sonucu sepsis sürecinde kardiyovasküler sistemin otonom sinir sistemi aracılığıyla uyarılabilirliğinin azaldığı gösterilmiştir (40-43).

Sepsisin erken dönemi, kardiyovasküler parametreler eşliğinde incelendiğinde “hiperdinamik dönem” sayılmıştır. Homeostazi sağlamak, organ sistemlerinin devamlılığını sağlayan perfüzyonun düzenleyicisi kan basıncını fizyolojik seviyede tutmak için kalbin ve periferel vasküler yapının uyarımı artmıştır; bu artışı HPAA ve sempatik sinir sisteminin uyarısı sağlamaktadır (44). Plazma norepinefrin ve epinefrin konsantrasyonunun erken dönemde fazla olması, adrenerjik sistem hakimiyetini; yüksek plazma konsantrasyonuna rağmen dengelenemeyen kardiyovasküler parametreler, sistemin sepsis süreci içindeki yanıtızlılığını somutlaştırmıştır (45, 46). Adrenerjik sistem aracılı uzun vadeli ve hasar verici uyarılma, kısa vadede homeostazi sağlayan etkiyi aşmıştır. Uzun vadeli uyarılma, adrenerjik reseptör yoğunluğu fazla olan kardiyovasküler sistemde sistolik fonksiyonda bozukluğa, aritmiye, vazospazma sebep olmuştur; kardiyovasküler sistem dışında, gastrointestinal ve immün sistemde perfüzyonu azaltıcı ve sepsis ile mücadelede yararlı olan immün hücreleri baskılayıcı etkisini göstermiştir (47). Sepsis sürecinin homeostatik uyarılara yanıtız kısmı “hipodinamik dönem” sayılmıştır. Sepsis sürecinde sentezlenen ve plazma konsantrasyonu artan proinflamatuvar sitokinler ve sitokin aracılı sentezlenen NO, adrenerjik sistem uyarısının azalmasında rol oynamıştır (48). Kardiyovasküler sistemin katekolaminin yüksek plazma konsantrasyonuna ve sitokinlere eş zamanlı maruziyeti adrenerjik reseptörlerin *down* regülasyonuna; özetle desensitizasyonuna sebep olmuştur. Reseptör işlevinin geri kazanımı baskılanmıştır (49). Adrenerjik reseptörlerin uyarılabilirliğinin baskılanması, kardiyovasküler reflekslerin hassasiyetini değiştirmiştir. Sepsisin hipodinamik evresinde gözlemlenen düşük kan basıncı, kardiyovasküler reflekslerin tetiklenememesi sebebiyle fizyolojik düzeye ulaşamamıştır. Kardiyovasküler refleks ile ilişkili HPAA, RAAS etkinleşmemiştir (50-52).

Sepsis, kalp ve ilgili sistemler yanında vasküler sistemin vazodilatör ve vazokonstriktör mekanizmalarının dengeli fonksiyonunu bozarak hipodinamik bulgulara sebep olmuştur. Arteriyel sistemin elastik özelliklerinde azalma, sol ventrikül ard yükünün artmasına, koroner perfüzyonun azalmasına ve mekanik işlevin bozulmasına yol açmıştır; hipodinamik bulgular derinleşmiştir. Vasküler sistemin sepsis sürecindeki değişiklikleri, klinikte “vazopleji” olarak adlandırılmış; vasküler düz kasın gevşemesine sebep olan endojen yolların tetiklenmesi ve/veya vasküler düz kasın kasılması amacıyla tedavi protokolünde yer alan vazoaaktif moleküllere yanıtızlık şeklinde özetlenmiştir. Patofizyoloji üç düzeyde incelenmiştir: santral (nöroimmün ilişki), hücrenel (reseptör düzeyinde), hücre içi (reseptör ilişkili ikincil yolak) (53). Baro veya kemoreseptörler ve proinflamatuvar sitokinler aracılığıyla sempatik sistemin ve HPAA eş zamanlı uyarılması şok ve şokun hemodinamisi ile ilişkilendirilmiştir. Başlangıç döneminde uyarıya bağı sentezlenen ve salıverilen noradrenalin, epinefrin, kortizol, vazopressin, anjiyotensin II vasküler yanıt verebilirliğin korunmasında etkili olmuştur; ancak geç dönemde sempatik sistemin uzun süreli aktifliğı, kardiyak yanıtızlık ve katekolamin seviyesi yüksekliğine bağı adrenerjik reseptör yanıtızlığı (*desensitizasyon*) ile şekillenen disotonomiye neden olmuştur (34, 54). Vasküler yanıt verebilirliğı düzenleyen ana reseptörlerin (adrenerjik, vazopressin tip Ia, anjiyotensin tip II) ligandları ile devamlı uyarılması, G-proteini ile kenetli reseptör kinazları uyararak reseptör *down* regülasyonuna, reseptörlerin ligandlarına ilgisinde (*afinite*) azalmaya sebep olmuştur (55, 56). Vasküler düz kas gevşemesinde basamak olan hücre içi NO, prostosiklin, siklooksijenaz sentez yollarının aktivasyonu reseptör desensitizasyona eşlik etmiştir (57, 58).

### 2.3. Deney Hayvanlarında Sepsis Modelleri

Terapötik stratejilerin geliştirilmesinde prelinik deneysel modeller önemlidir. Hiperinflamatuvar yanıtın yerini immün baskılanmış durumun aldığı ve mortalitesi yüksek sepsis süreci, tekrarlanabilirliğı gösterilmiş hayvan modelleri ile taklit edilmektedir. Modeller, sepsis sürecinin farklı noktalarını ele almakta ve farklı noktalar modele özgün üstünlükler oluşturmaktadır.



Patojen ile enfeksiyon modeli, tek tip patojen enjeksiyonundan dolayı sepsis patogenezinin ve konağın antimikrobiyal yanıtının incelenmesine olanak tanımaktadır. Bakteri veya fungus alt tipinin sistemik dolaşıma doğrudan aktarılması, tipik konak yanıtından güçlü ve süratli sitokin yanıtına sebep olmaktadır. Bu yöntemde tek bir suşun kullanılması, sepsis patogenezinin anlaşılmasında yararlı olmasına rağmen klinikte gözlemlenen polimikrobiyal sepsis sürecinin değişikliklerini yeterince yansıtmamaktadır (59). Bakterilerin intravenöz enjeksiyonu, Gram pozitif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) veya Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) bakteriden köken alan sepsisin, uygulama yöntemi sebebiyle, hiperinflamatuvar yanıtını şiddetlenmiş ve akut biçimde sunmaktadır; kısa vadede mortalite ile sonuçlanmaktadır (60). Bakterilerin intranasal veya intratrakeal enjeksiyonu ise, toplumda sepsisin birincil tetikleyicisi solunum yolu enfeksiyonu (pnömoni) aracılı modeli oluşturmaktadır (61). Yoğun bakım ünitesine özgül model için, fungus ailesinden *Candida albicans* ile intravenöz veya intranasal enjeksiyon ardından çalışılmaktadır. Bakteri ile implantasyon yöntemi, bakteri salıverilmesinin ve sistemik dolaşımda yüksek bakteri konsantrasyonuna ulaşmanın zaman alması sebebiyle klinik sepsisin progresif bulgularını taklit etmektedir (62).

Endotoksemi modeli, bakteri veya fungus iskeletine ait PAMP'ın intravenöz, intranasal veya intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonunun ardından klinikte gözlemlenen sepsis yanıtına benzer hiperinflamatuvar tutum göstermektedir. Patojen ile enfeksiyon modeline göre kolay uygulanmakta, mortalite oranı azalmaktadır ve tutarlı sonuç elde edilmektedir (63). Lipopolisakkarit (*Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumonia* yapıtaşı, LPS) enjeksiyonu, kısa vadede şiddetli inflamatuvar yanıtı sebep olmakta; Gram negatif bakterilerin yapı birimi olması sebebiyle Gram pozitif kaynaklı sepsisi veya klinikte gözlemlenen polimikrobiyal sepsisi yansıtmamaktadır. Ayrıca, uygulama dozuna göre bulgular farklılaşmaktadır. Yüksek doz LPS enjeksiyonu meningokoksemi veya toksik şok sendromu tablosunu sunarken, düşük doz enjeksiyonu sadece inflamasyonu tetiklemektedir. Bulguların değişikliğini, hemodinamik ve inflamatuvar geçişi takip etmek adına, düşük doz LPS infüzyon şeklinde uygulanabilmektedir (64). Doz dışında, enjeksiyonu uygulanan LPS'in suşu

fark oluşturmaktadır. Gram negatif bakteri kaynaklı sepsis modelini oluşturan *Escherichia coli* serotiplerine ait proteinlerin saflık, affinite, sebep oldukları antimikrobiyal mekanizma ve mekanizmayı tetikleme şiddeti değişkenlik gösterebilmektedir (65-69). PAMP örneği M<sub>1</sub> (*Streptococcus pyogenes* yapıtaşı) proteinin enjeksiyonu, benzer şekilde immün yanıtı tetiklemektedir; gram pozitif sepsis modelini oluşturmaktadır (70). Zymosan A (*Saccharomyces* yapıtaşı) enjeksiyonu, TLR-4 yolağı yerine TLR-2 yolağını aktifleştirmektedir; fakat üç katmanlı sepsis yanıtına sebep olarak kronik sepsisi taklit etmektedir (71).

Intraperitoneal sepsis modelleri, klinik sepsis sürecinin bulgularını taklit etmektedir. Modelde, hiperinflamatuvar yanıt zamanla yerini immün baskılanmış duruma bırakmaktadır. Polimikrobiyal sepsis modelinin altın standardı cecal ligasyon ve delme (*cecal ligation and puncture*, CLP) yönteminin inflamatuvar şiddeti ve ilişkili mortalite, anatomik bölge veya bağırsaktaki delik sayısı gibi değişkenler sebebiyle farklılık göstermektedir; tekrarlanabilirlik kısıtlıdır (72). Seyreltilmiş fekal içeriğin intraabdominal enjeksiyonu (*cecal slurry*), kısa vadede CLP yöntemine göre şiddetli inflamatuvar yanıt oluşturmakta, ardından immün yanıt baskılanmaktadır. Cerrahi gerektirmeyen ve iskemik doku hasarı içermeyen teknik, şiddetli yanıt sebebiyle erken dönemde mortalite ile sonuçlanmaktadır (73).

Sepsisin her bir modeli, sepsis kliniğinin farklı özelliklerini yansıtmaktadır; fakat deney hayvanı modeline uygulanan tedavi şemaları klinik çalışmada başarı gösterememektedir. Araştırmanın hipotezine uygun yöntemin sepsis patogenezini, özellikli sepsis fazını veya sepsis sürecini incelemeye olanak tanınması sebebiyle deney hayvanı modelleri geçerliliğini korumaktadır; modellere uygun alternatif bulunmamaktadır.

Sık kullanılan sepsis modelleri LPS enjeksiyonu ve CLP, kardiyovasküler parametreler açısından karşılaştırıldığında, enjeksiyonun kısa vadede plazma sitokin konsantrasyonunu şiddetle artırması ve homeostazı sağlayan mekanizmaları baskılaması sonucu CLP modeli ile uzun vadede gözlemlenen sepsisin hipodinamik evresinin benzeştiği anlaşılmaktadır. LPS enjeksiyonunun bahsedilen etkisinin doza bağımlı olduğu literatür örnekleri ile desteklenmektedir. Yüksek doz LPS enjeksiyonu

sonucu kalbin ve vasküler yapının kasılma-gevşeme işlevi bozulmaktadır ve sepsisin hipodinamik evresinin klinik göstergesi azalmış kardiyak output veya kan basıncı, artmış SVR gözlemlenmektedir (74).

#### **2.4. Sepsis Sürecinde Tedavi Olanakları**

Sepsis sürecinin tedavisinde temel noktalar ve öneriler, sebep oldukları sonuca ve faydaya göre sınıflandırılmıştır. Şunları içermektedir: Tanıdan sonraki ilk 6 saat içinde resüsitasyon, kantitatif klinik parametrelerin takibi eşliğinde, sağlanmalıdır (1C). Tanıdan sonraki bir saat içinde geniş spektrumlu antimikrobiyal tedavi uygulanmalıdır (1B); on iki saat içinde seçilen antibiyotiğin risk ve fayda dengesine dikkat edilerek enfeksiyon kaynağının kontrolü sağlanmalıdır (1C). Antibiyotik tedavisinden önce kan kültürleri alınmalıdır; potansiyel bir enfeksiyon kaynağını doğrulamak için derhal görüntüleme yöntemi seçilmeli ve uygulanmalıdır (1C). Kristalloid sıvı ile resüsitasyon ilk 6 saat içinde başlatılmalıdır (1B). Ortalama arteriyel basınç, 65 mmHg civarında tutulmalıdır (2C). Doku hipoperfüzyonu ve hipovolemi şüphesi olan hastalarda sıvı desteği birincil tedavi olmalı; gerektiğinde hacim ve hız artırılmalıdır (1C). Hemodinamik iyileşmenin gözlemlenmediği hastalarda birincil vazopresör tedavi seçeneği norepinefrin olmalıdır (1B). Hemodinamik iyileşmenin ve etkili ortalama kan basıncının süregelenliğinin sağlanamadığı durumlarda epinefrin ek ajan olarak kullanılmalıdır (2B). Seçilmiş durumlar dışında dopamin önerilmemektedir (2C). Yüksek kardiyak dolum basınçları ve düşük kardiyak debi ile ortaya çıkan miyokardiyal fonksiyon bozukluğu veya yeterli intravasküler hacim ve yeterli ortalama arteriyel basınca ulaşılmasına rağmen devam eden hipoperfüzyon belirtilerinin varlığında vazopressöre tedaviye dobutamin infüzyonu eklenmelidir (1C) (75).

Kısacası sepsis sürecinde müdahale seçenekleri, semptomatik ve antiinflamatuar olmak üzere, sınırlı kalmaktadır (11, 76, 77). Vital bulguları destekleyen müdahalelerin ön planda tutulduğu yoğun bakım ünitelerinde tedavi uygulanan hastaları dahil eden klinik incelemeler, kan basıncı değişikliğinin mortalitedeki rolünü özetlemektedir (78). Deneysel sepsis/septik şok modellerini baz

alan hayvan çalışmaları, kan basıncını düzenleyen endojen homeostatik mekanizmaların ve hemodinamik tedavi protokollerinin mortalite oranını düşürdüğünü göstermektedir; fakat klinik incelemelerin meta analizleri mevcut değildir (6-10). Ortalama arteriyel kan basıncını fizyolojik aralıkta tutan vazoaaktif tedavinin dozunun artması, kan basıncında ısrarlı düşüş klinikte vazoplejinin varlığını tanımlamaktadır (79, 80). Hemodinamik tedavi, kardiyovasküler parametreleri düzenlemekte ve vazoplejiyi baskılamaktadır. Sıvı resüsitasyonu ardından katekolamin uygulaması standart hemodinamik tedaviyi oluşturmaktadır (11). Katekolaminler,  $\alpha_1$  adrenerjik reseptörler aracılığı ile ortalama arter basıncına etki etmektedir. Katekolaminlerin,  $\alpha_1$  adrenerjik reseptör dışı reseptör etkileşimleri nedeniyle, çeşitli hemodinamik, inflamatuvar ve metabolik etki profilleri gözlemlenmektedir (12, 13). Noradrenalin, etki gücünün fazlalığı (14), kalp hücresinin  $\beta_1$  adrenerjik reseptörlerine etki ederek ventriküler-arteriyel işlev ilişkisini koruması (15), kalp hücresinin  $\beta_2$  adrenerjik reseptörlerine etki etmeden kısacası taşikardiye ve dolaylı doku hasarına sebep olmadan kardiyak indeksi artırması sebebiyle vazoaaktif tedavi protokolünde ilk sırada yer almaktadır (16). Katekolaminlerin inflamatuvar etki profili (*oksidatif strese ve metabolik değişikliğe sebep olması, yararlı inflamatuvar yanıtı baskılaması*), katekolaminlerin etkileşim oranını düşüren tedavi protokolü ihtiyacını doğurmaktadır (13, 46, 81).

## 2.5. Agmatin

Poliamin iskeletine sahip agmatin, arjinin dekarboksilaz enziminin aktivitesi sonucu aminoasit arjininden açığa çıkmaktadır. Katyon yapılı endojen agmatin, klasik nörotransmitterlere benzer şekilde vezikülde depolanmaktadır ve  $Ca^{+2}$  bağımlı depolarizasyon yardımıyla sinaptik vezikülden salıverilmektedir. Post sinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlere ve imidazolin reseptörlerine afinite göstermekte, reseptörleri aktifleştirmektedir; N-metil-D-aspartik asit (NMDA) sınıfının ligand kapılı katyon kanallarını kapatmakta ve nitrik oksit sentezini baskılamaktadır. Geri alım mekanizması veya agmatinaz enzim aktivitesi sonucu endojen agmatinin işlevi sonlandırılmaktadır; agmatinin alt metaboliti pütresin ve ardından spermidin,

spermin açığa çıkmaktadır. Ayrıca sinir sistemindeki agmatin konsantrasyonunun klasik nörotransmitterlerin konsantrasyonuna yakın olması, agmatinin nörotransmitter olabileceği hipotezini desteklemektedir (82). Endojen agmatinin santral sinir sistemi dışında çeşitli dokularda dağılımı, amin yapılardan ayrımını sağlayan kromatografi yöntemi ile gösterilmiştir. Sıçan kalp, aort homojenatında konsantrasyonu adrenal bez konsantrasyonundan fazla hesaplanmış; en düşük agmatin konsantrasyonu plazmada gösterilmiştir (83). Kısa vadede saliverilen ve etkisi sonlandırılan endojen agmatin, sistemik enjeksiyon yöntemi ile eksojen uygulandığında ise santral sistemde konsantrasyonunu artırmaktadır; kan beyin bariyerini *organik kation transporter* (OCT) ve *multidrug and toxin extrusion protein 1* (MATE1) aracılı aktif transport ile geçmektedir (84, 85). Fizyolojik pH değeri, agmatin molekülüne pozitif yük kazandırmakta; pasif difüzyonunu engellemektedir. Agmatinin vücuttaki dağılımını inceleyen farmakokinetik çalışmada, uygulama yöntemi fark etmeksizin süreç içinde agmatinin santral kompartmana geçtiği gösterilmiştir; santral kompartmanda yarılanma ömrünün, plazma yarılanma ömrüne göre fazla olması geçişi desteklemiştir (86).

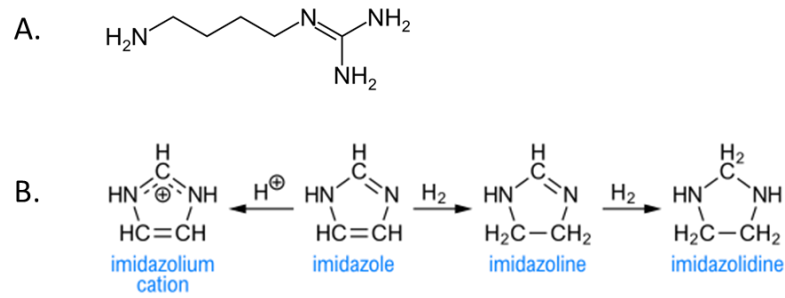
Poliamin yapısındaki agmatin (**Şekil2.1A**) kronik ağrı modellerinde deney hayvanı davranışlarını etkilemiştir, bu etki santral sinir sisteminin NMDA reseptörleri ile ilişkilendirilmiştir. Santral sinir sistemi aracılığıyla etki etmesine rağmen agmatinin kan beyin bariyeri benzeri biyolojik bariyerleri ne ölçüde geçtiği aydınlatılmamıştır. Clements ve ekibi agmatinin farmakokinetik profilini incelemiştir (87). İntravenöz veya intraperitoneal uygulama yöntemine bağlı olarak agmatinin plazma yarı ömrü belirlenmiştir. İntravenöz agmatin plazmada 14,9 ile 18,9 dakika arasında değişen bir yarılanma ömrü göstermiştir. Oral uygulama, plazma yarılanma ömrünün uzamasına (74,4-117 dakika) yol açarak flip-flop kinetiğini düşündürmüştü ve biyoyararlanım %29-%35 olarak belirlenmiştir. İntravenöz uygulama beyinde agmatin konsantrasyonunda hızlı bir artışa yol açarken, omurilikte gecikmiş bir dağılım ve daha düşük konsantrasyonlara neden olmuştur. Bununla birlikte, agmatinin her iki dokudaki yarılanma ömrü plazmadakinden önemli ölçüde daha uzundur. Bu veriler, agmatinin

sıçanda biyolojik bariyerleri yeterince geçtiğini ve beyin ve omurilik farmakokinetiğinin işlevsel olarak farklı olabileceğini göstermektedir.

### 2.5.1. Agmatinin Kardiyovasküler Sisteme Santral Sinir Sistemi Aracılı Etkisi

Agmatin santral sinir sisteminde etkilerini imidazolin, NMDA reseptör aktivitesi,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptöre ilgisi ve NOS enzimi inhibisyonu ile göstermektedir.

İmidazolin reseptörlerinin keşfi, klonidinin etkilerinin incelenmesi ile gerçekleşmiştir. İskeletinde imidazolin halkası içeren klonidin (**Şekil 2.1.B**), santral sistemde  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptöre etkisi ile kan basıncını düşürmekte fakat doğrudan  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptöre vasküler düz kasa etkisi ile kasılmaya sebep olmaktadır (88). Moleküler yapı-aktivite ilişkisinin incelendiği çalışma, imidazolin bileşiklerinin santral sinir sisteminde reseptörlerine bağlanarak kan basıncını düşürdüğünü göstermiştir. Bu etkinin  $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$  adrenerjik reseptörlerden bağımsızlığı, aynı çalışmada adrenerjik reseptöre selektif molekülün santral sisteme mikroenjeksiyonu ardından kan basıncının düşürülememesi ve insan dokusu (*medulla oblongata, RVLM*) radyoligand bağlanma çalışmalarında işaretli klonidin bağlanma oranının katekolaminler tarafından düşürülememesi ile gösterilmiştir. Kan basıncını düzenleyen alanda yerleşik imidazolin yapısını tercih eden reseptörler "imidazolin reseptörleri" olarak adlandırılmıştır (89). Endojen molekül agmatin, 1994 yılında reseptör düzeyinde klonidinin yarışmalı inhibitörü olarak değerlendirilmiştir (90). Klonidin, vazokonstriksiyon etkisine rağmen kan basıncını düşürmekte; kan basıncını düşürmesine rağmen dakikadaki kalp atım sayısını azaltmaktadır. Santral ve periferik sisteme etkilerinin ayrı ayrı incelenmesi, klonidinin paradoksik etkilerini açıklamıştır. Klonidine benzer şekilde imidazolin  $I_1$  ve  $I_2$  reseptörlerine ve  $\alpha_2$  adrenerjik reseptöre afinitesi olan agmatin (91), klonidin etkisine zıt kardiyovasküler tutum göstermiştir.



**Şekil 2.1.** Poliamin zincirinin ve imidazolin halkasının kimyasal iskeleti. **A.** Agmatine ait poliamin iskeleti ve **B.** İmidazolin halkası.

Agmatinin santral sisteme (intrasisternal) enjeksiyonu ardından, kan basıncının agmatin dozuna bağımlı arttığı gözlemlenmiştir. Bolus intravenöz agmatin enjeksiyonu ise ortalama kan basıncını doz bağımlı azaltmış; etki beş dakika içinde sonlanmış. Benzer şekilde kardiyovasküler sistemde homeostazı sağlayan mekanizmalar, agmatin eşliğinde incelenmiştir. İntrasisternal agmatin enjeksiyonu, düşük kan basıncını dengelemek adına harekete geçen sempatik sinir ateşleme oranını artırmıştır; eş zamanlı kan basıncı artışına rağmen ateşleme oranı baskılanmamıştır. Diğer bir deyişle, barorefleksin kan basıncına hassasiyeti azalmıştır. Baroreseptör uyarı aracılı depresör veya presör yanıtı düzenleyen retikülospinal vazomotor nöronların yerleştiği RVLM'ye enjeksiyonu ise ortalama kan basıncını ve sinir aktivitesini etkilememiştir. Özetle, agmatinin kan basıncını arttıran etkisinin santral sisteminde daha üst basamak NTS aracılı olduğu; doğrudan vazomotor nöronlar üzerinden olmadığı düşünülmüştür (92).

HPAA'nın aktivasyonuna ve aktivasyon sonucu artmış plazma glukokortikoid konsantrasyonu sebep olan stres, uzun vadede santral mekanizmalara hasar vermektedir. Glukokortikoid hasarının incelendiği *in vitro* nörotoksisite çalışmasında, agmatinin NMDA reseptörlerini ve kalsiyum geçişini inhibe ederek glukokortikoidin hasar veren etkisini baskıladığı gösterilmiştir (93). Benzer şekilde konsantrasyonu yüksek glutamatın NMDA reseptörlerini uyarması aracılığıyla oluşturulan *in vitro* nörotoksisite çalışmalarında, agmatinin NMDA reseptörlerini doz bağımlı inhibe ederek nörotoksisiteyi kısıtladığı gösterilmiştir (94). NO ve glutamat birikiminin sebep olduğu *in vivo* iskemik hasar modelinde, i.p. enjeksiyonu uygulanan agmatinin nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) ve iNOS işlevini baskılayarak aksonal, vasküler ve nöronal

hasarı kısıtladığı gösterilmiştir (95). İskemik hasarın erken döneminde dalağa iletilen sempatik uyarı ile adezyonu kolaylaştıracak protein sayısını artıran vasküler endotel hücreleri ve kan beyin bariyeri, periferik bağışıklık hücrelerinin sayısını artırmakta ve santral sisteme göçünü kolaylaştırmaktadır. Bahsedilen mekanizmayı inceleyen çalışmada agmatin, bağışıklık hücresi göçünü, santral sinir sisteminin bağışıklık hücresi mikroglianin işlevini, dalağın inflamatuvar yanıtını baskılamıştır (96, 97). Bozulmuş kan beyin bariyeri işlevini iskemi reperfüzyon modeli ile inceleyen çalışmada sistemik enjeksiyon yöntemiyle uygulanan agmatinin kan beyin bariyeri bütünlüğünü desteklediği; dört saatlik takip sürecinde etkisini sürdürdüğü gösterilmiştir (95, 98).

Literatür değerlendirildiğinde kan basıncı profili üzerine veya vasküler düz kas kasılma profili üzerine zıt sonuçlar sunmaktadır. Ortalama kan basıncını artırabilen agmatin, vazodilatasyona sebep olabilmektedir (17, 18).

### **2.5.2. Agmatinin Kardiyovasküler Sisteme Periferik Mekanizma Aracılı Etkisi**

Sistemik uygulama ardından agmatin, konsantrasyonunu santral dolaşımda artırabilmektedir (99). Santral sistemi tercihine rağmen agmatin periferde etkisini gösterebilmektedir. Hücre kültürü çalışmaları, vasküler düz kas ve endotel hücrelerinde imidazolin reseptörünün varlığını; agmatinin reseptöre yüksek afinite ile bağlandığını göstermiştir (100). İmidazolin reseptörünün endojen ligandı agmatin, periferik sempatik tonusu baskılayarak kardiyovasküler parametrelere değişikliğe sebep olmuştur. Sempatik tonusu sağlayan katekolaminin saliverilmesinde aracı N-tipi  $Ca^{+2}$  kanalının endoteli sıyrılmış superior mezenter arter preparatındaki aktivitesi, özgül antagonistler ve kanal blokörleri birlikteliği ile nörojenik uyarımı taklit eden elektriksel alan stimülasyonu (EAS) eşliğinde incelenmiştir. Agmatin, EAS aracılı kontraksiyonun gücünü ve noradrenalin konsantrasyonunu azaltmıştır; nörojenik uyarımı taklit eden EAS ortamında etkisini imidazolin reseptörü etkileşimi ile göstermiştir. Ayrıca voltaj klamp tekniğiyle,  $Ca^{+2}$  geçişinin agmatin eşliğinde baskılandığı; aksiyon potansiyeli ateşleme frekansının azaldığı gösterilmiştir (101). Veriler agmatinin periferik tonusa etkisinin aşırı uyarımın baskılanamadığı durumlarda etkili olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.



İmidazolin reseptör etkileşimi dışındaki etkileri adrenerjik reseptör aracılığıyla incelenmiştir. 1995 yılında,  $\alpha_2$ -adrenerjik ve imidazolin bağlanma bölgelerinde konsantrasyonu tespit edilen agmatinin klonidine benzer olası “endojen adrenerjik reseptör ligandı” özelliği araştırılmıştır (102). Presinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivitesi, sıçan *vas deferens* preparatında agmatin ve klonidin eşliğinde incelenmiştir. Klonidin, EAS aracılı kasılma yanıtını doz bağımlı baskılamış; agmatin ise etkilememiştir. Postsinaptik  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör aktivitesi, domuz *lateral palmar ven* preparatında agmatin ve selektif  $\alpha_2$  adrenerjik reseptör agonisti (UK13404) eşliğinde incelenmiştir. UK13404, kasılma yanıtını doz bağımlı artırmış; agmatin ise etkilememiştir. Ayrıca agmatin eşliğinde UK13404 uygulaması doz bağımlı kasılma yanıtını değiştirmemiş; agmatin UK13404 ile reseptör düzeyinde yarışmamıştır. Endoteli sıyrılmış *aorta thoracica* (torasik aorta) preparatında klonidin doz bağımlı kasılma yanıtı oluşturmuş; agmatin kasılma yanıtı oluşturmamıştır. Bahsedilen çalışma ve radyoligand bağlama tekniğini içeren çalışmanın sonucu, agmatinin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptöre bağlanabildiğini fakat reseptör aktivitesini tetiklemediğini göstermiştir (102). İntravenöz agmatin enjeksiyonunun sempatik sinir aktivitesini baskılayarak kardiyovasküler işlevi değiştirdiği; EAS aracılı taşikardik yanıtı, santral mekanizmaların etkinliğinin sonlandırıldığı “*pithed rat*” modelinde baskıladığı gösterilmiştir. Bahsedilen çalışmada, özgül antagonistler eşliğinde tekrarlanmış ve agmatinin kardiyovasküler sistemde  $I_1$  imidazolin ve  $\alpha_{2A/C}$ -adrenerjik reseptörlerine afinite gösterdiği anlaşılmıştır (103-105). Adrenal medulladan saliverilen katekolamin miktarının imidazolin ve  $\alpha$ - adrenerjik reseptör aktivitesi ile ilişkisini benzer deney hayvanı modelinde inceleyen çalışmada, agmatinin epinefrin saliverilmesini tetiklediği gösterilmiştir (106).

Vasküler düz kas hücresinde ve sistemin düzenleyici NO'e benzer şekilde agmatinin endotelde lokal sentezlendiği ve depo edildiği; ayrıca vasküler düz kas hücresinde ve endotelde imidazolin reseptörlerinin ekspresyonu ve agmatinin imidazolin reseptörleri aracılığıyla etki oluşturduğu gösterilmiştir (107). Vasküler yapının kasılma-gevşeme fonksiyonunu değerlendiren çalışma, arjininin alt ürünleri NO ve agmatin sentezinin olası etkileşimini incelemiştir. İntakt vasküler preparatlarda

agmatin ve aminoguanidin, kolinerjik reseptörü uyaran karbakol aracılı gevşemeyi baskılamamış; ancak eNOS inhibitörü N-nitro-L-arjinin baskılamıştır. Agmatinin eNOS enzimini etkilemediği gösterilmiştir. eNOS enziminin inhibitörü olmadığı kanıtlanan agmatin, LPS inkübasyonu ardından kasılma yanıtı körelen endoteli sıyrılmış aort preparatlarının kasılabilirliğini, iNOS inhibitörü aminoguanidine benzer şekilde, artırmıştır (108). Agmatinin iNOS enzimini inhibe ettiği düşünülmüştür.

### 2.5.3. Agmatinin İnflamatuvar Yanıtta Etkisi

Literatür, agmatinin kardiyovasküler sistem dışında indüklenmiş bağışıklık sistemine etkisini özetlemiştir. Endojen agmatin plazma konsantrasyonunun sepsis prognozu ile ilişkisini inceleyen klinik çalışmada, plazma agmatin konsantrasyonu ve bağışıklık hücrelerinden sentezlenen sitokin konsantrasyonu ters orantı göstermiştir. Klinik çalışmanın *in vitro* basamağında, insana ait periferik mononükleer hücre ve sıçana ait makrofaj kültürü agmatin ile inkübe edilmiş ardından LPS ile uyarılmıştır. Agmatin, bağışıklık hücrelerinden sitokin salıverilmesini baskılamış; sitokin konsantrasyonu agmatin inkübasyonu ardından azalmıştır. LPS enjeksiyonu ardından agmatin enjeksiyonu uygulanan deney hayvanında ise organ hasarı baskılanmış ve organ hasarı ile ilişkili mortalite oranı azalmıştır. Özetle, endojen agmatin konsantrasyonunun sepsis prognozu ile ilişkili olduğu; destek tedavi şeklinde uygulanan agmatinin, imidazolin reseptörü aracılığıyla, prognozu etkileyen inflamasyon şiddetini ve organ hasarını baskıladığı gösterilmiştir (109, 110).

### 2.6. Amaç ve Hipotez

Tez çalışmasında, sepsisin kardiyovasküler açıdan hipodinamik evresini yansıtan modeli oluşturmak; bu modelde agmatinin etkisini araştırmak ve bu etkide görevli olası antiinflamatuvar etkinliğini incelemek amaçlanmıştır.

Tez çalışmasının hipotezleri aşağıda yer almaktadır.

I. LPS enjeksiyonu ile oluşturulan sıçan sepsis modelinde azalmış kan basıncı, kan basıncına bağlı azalmış kan akımı ve perfüzyon bozukluğu, vazomotor ajanlara bozulmuş vasküler yanıt agmatin tedavisi ile dengelenebilir ve homeostaz sağlanabilir.

II. LPS enjeksiyonu ile oluşturulan sıçan sepsis modelinde gözlemlenen inflamatuvar yanıt ve inflamatuvar yanıtın artmış serum belirteçleri agmatin tedavisi ile baskılanabilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Deneysel Hayvanları

Deneysel hayvanları Nesa Deneysel Hayvanları Laboratuvarı, Ankara 'dan temin edilmiştir. Deneysel hayvanı türü, soylu deneysel metotların en az komplikasyon ile uygulanabileceği klinik profile uygun seyreden en alt filogenetik sınıf olan sıçandır. G-power analizi sonucu (etki gücü 0.53,  $\alpha$  değeri 0.05,  $\beta$  değeri 0.80) deneylerde kullanılacak toplam hayvan sayısı 116 olarak belirlenmiştir. Araştırmada 116 adet Wistar soylu, erkek ( $\sigma$ ) sıçanlar tercih edilmiştir. Hormonal değışiklikler (*östrus siklusu*) ve bu değışikliklerin kardiyovasküler sistem üzerine etkisi sebebiyle dişi ( $\text{♀}$ ) sıçanlar tercih edilmemiştir. Çalışmaya dahil edilmiş sıçanların ağırlığı 200-250 g aralığındadır (111, 112).

Hayvanlar, standart laboratuvar yemi ve su ile *ad libitum* beslenmiştir.  $21\pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta, %30 – 70 nem ve 12 saat karanlık/12 saat aydınlık siklusu uygulanan Tıbbi Farmakoloji Ana Bilim Dalı Hayvan Barınağı'nda barındırılmıştır. Temin edilen deneysel hayvanları beş günlük alışma sürecine tabi tutulmuştur.

#### 3.2. Etik Kurul İzni

Projenin etik kurul onayı Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 20/12/2022 tarihli etik kurul toplantısında alınmıştır. Karar numarası 2022/11-05 ve kayıt numarası 2022/44'tür. Alınan bu onay ile hayvan deneyleri Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Ana bilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleşmiştir.

#### 3.3. İlaç Uygulamaları

Projede kloralhidrat (102425, MERCK, Darmstadt, Almanya), agmatin (A7127, Sigma Aldrich, St. Louis MO, ABD), *Escherichia coli*'nin O55:B5 serotipine ait lipopolisakkarit (LPS) (L2880, Sigma Aldrich, St. Louis MO, ABD), norepinefrin (A7381, Sigma Aldrich, St. Louis MO, ABD), fenilefrin (P6126, Sigma Aldrich, St. Louis MO, ABD), asetilkolin (ACh) (A6625, Sigma Aldrich, St. Louis MO, ABD), sodyum nitroprusiyat (SNP) (71780, Fluka Chemicals, New Jersey, ABD) kullanılmıştır. Organ banyosu çalışması için modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu (118 mM NaCl, 4,7 mM

KCl, 2,5 mM CaCl<sub>2</sub>, 1,2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,2 mM MgSO<sub>4</sub>, 25 mM NaHCO<sub>3</sub>, 11 mM glikoz anhidrat) tercih edilmiştir.

Deney hayvanına enjeksiyonu yapılan agmatin, lipopolisakkarit ve norepinefrin steril %0,9 NaCl solüsyonu içerisinde; organ banyosu protokolünde kullanılan fenilefrin, ACh, SNP modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu içerisinde çözülmüştür.

### 3.4. Fonksiyonel Değerlendirme

Fonksiyonel değerlendirme ve ölçüm teknikleri:

- *in vivo* fonksiyonel ölçümler (kan basıncının ölçülmesi, kan akımının ölçülmesi) ardından,
- *ex vivo* fonksiyonel ölçümler (vasküler fonksiyonun değerlendirilmesi) şeklinde planlanmıştır.

Amaç, sepsis süreci sebebiyle bozulan kardiyovasküler yanıt-verebilirlikte agmatinin olası düzenleyici rolünün değerlendirilmesidir.

#### 3.4.1. *In vivo* Deneysel Model

##### 3.4.1.1. Sepsis Modeli ve Tedavi Protokolü

Nötrofil aracılı inflamatuvar yolları ve NET oluşumunu dolaşım sisteminde tetiklemesi; doğrudan doku hasarına sebep olmaması sebebiyle *Escherichia coli* O55:B5 suşu tercih edilmiştir (65). Bahsedilen suşun proteinlerle etkileşimi ve işlevi, pH değişikliklerinden etkilenmemekte; stabil kalmaktadır (67); diğer suşlara göre potenttir (69).

Sepsisin hipodinamik evresini yeterli serum sitokin konsantrasyonu ile deney hayvanında taklit etmek amacıyla, dolaşım sistemine emilimi gerektiren ve bu sayede süreç oluşturan i.p. enjeksiyon yöntemi tercih edilmiştir (63). Deney hayvanı, standardize tutuş yöntemi ile i.p. enjeksiyon için uygun pozisyona getirilmiştir. İşlem, anestezi uygulaması gerektirmemiştir. Batın sağ alt kadrani, organ hasarı riskini azaltan enjeksiyon bölgesidir. Bu sebeple 26-gauge enjektör yardımıyla sağ alt kadrana enjeksiyon yapılmıştır. Etkili LPS dozu için literatür örnek alınmıştır. Hipotansiyona sebep olan düşük dozlar, LPS 1 ve 4 mg/kg, mortalite oranının yüksek doza göre düşük olması sebebiyle ön çalışmada değerlendirilmiştir (113, 114).

Katekolamin etkileşim oranını düşürmek, vasküler ve inflamatuvar profili eş zamanlı düzenlemek amacıyla agmatin çalışmada incelenmiştir. Gen ve metabolit değişikliklerini kliniğe benzer şekilde yansıtan sepsisin deney hayvanı modelinde etkili agmatin dozu literatürden örneklenmiştir (115). Ayrıca, sepsis tanısı alan hastaların serumunda ölçülen minimum endojen agmatin konsantrasyonunu geçebilecek tedavi dozu, bahsedilen konsantrasyonun sıçana uyarlanması ile seçilmiştir (116). Kan beyin bariyerini aşabilen ve i.p. enjeksiyon yöntemi ile uygulanan rodent dozu dikkate alınmıştır (84). Çalışmalarda kullanılan agmatinin sıçan dozuna denk 3 mg/kg ve 10 mg/kg intravenöz enjeksiyon yerine i.p. agmatin enjeksiyonu, intravenöz enjeksiyon yarı ömrünün kısa olması ve yönteminin hipotansiyona sebep olması sebebiyle, tercih edilmiştir. Bahsedilen doz aralığının tercih edilmesinin bir diğer sebebi organ banyosu çalışması ile vasküler kasılma profili üzerine agmatin etkisinin değerlendirildiği araştırmanın esas alınmasıdır (117).

#### **3.4.1.2. Femoral arter, Girişimsel Kan Basıncı Ölçümü Tekniği**

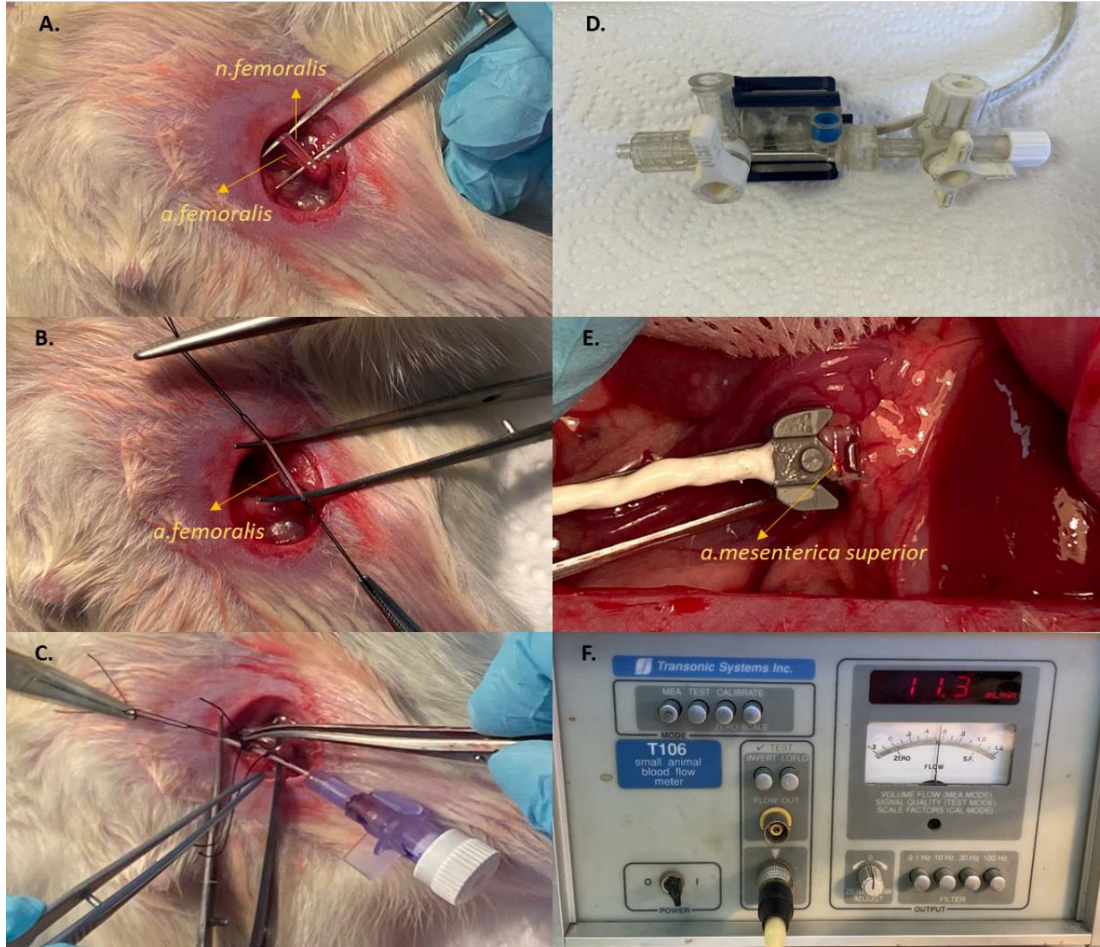
Girişimsel kan basıncı ölçümü için arteriyel kan basıncı ölçümü metodu uygulanmıştır. Anestezi için kloralhidrat enjeksiyonu (400 mg/kg, i.p.) sıçana uygulanmıştır. Anestezi derinliği parmak veya deri kıstırmaya yanıt ile değerlendirilmiştir.

Sol ve sağ inguinal ligamentin bulunduğu anatomik bölge traşlandıktan sonra ligamentin orta noktasına denk gelen alana cerrahi makas ile kesi atılmıştır (**Şekil 3.1**). Diseksiyon makası ve *tweezer* yardımıyla *fascia* açılmış; femoral arter-ven-sinir paketine ulaşılmıştır. *Femoral arter ve v. femoralis*, minimum sinir hasarına sebep olacak şekilde ortak paketten; ardından arter ve ven birbirinden uzaklaştırılmıştır. Cerrahi dikiş ipi (5.0, ipek), arterin distal ucuna yerleştirilmiş ve bağlanmıştır. Bir diğer dikiş ipi ise arterin proksimal ucuna yerleştirilmiş ve halka oluşturulup bağlanmamıştır. İki adet klempin cerrahi dikiş iplerinin serbest uçlarına yerleştirilmesi ve elevasyonu ile arterin kan akışı engellenmiş; bu sayede staz sebebiyle ilgili arterin iç hacmi artırılmıştır.

Bağlanan ve asılan arterin distal ucundan katarakt makası ile kesi atılmış; 500 IU heparin ile yıkanan 26-G branül arter içine yerleştirilmiştir. Cerrahi dikiş ipi (5.0

ipek) yardımıyla branül sabitlenmiştir. Tek kullanımlık santral basınç ölçümü kateteri branülün uç kısmına sabitlenmiştir. Kateter, yapısında basınç transdüseri (Sasan, Ankara, Türkiye) içermektedir. Basınç transdüseri, BIOPAC MP150 sistemine bağlanarak verileri elektronik ortama aktarmıştır. Anlık kan basıncı ölçümü ve ardından kan basıncı takibi gerçekleştirilmiştir. Benzer cerrahi protokol ile v. *femoralis*'e intavenöz enjeksiyon uygulaması için branül yerleştirilmiştir.

Deney hayvanının vücut sıcaklığı rektal probe ile ölçülmüş; ısıtıcı lamba ile vücut sıcaklığı sabit tutulmuştur. Ayrıca cerrahi işlem sırasında anestezinin devamlılığı bıyık hareketleri, solunum paternindeki değişiklikler ile takip edilmiştir (118).



**Şekil 3.1.** *In vivo* fonksiyonel ölçüm-değerlendirme için uygulanmış cerrahi yöntem ve kullanılan cihazlar. **A.** *Femoral arter*, damar-sinir paketinden uzaklaştırılmıştır. **B.** Arterin distali cerrahi dikiş ipliği (5.0, ipek) ile bağlanmış; proksimali ise halka şeklinde bırakılmıştır. İki adet forseps, arterin distaline ve proksimaline yerleştirilen cerrahi dikiş ipliklerine takılmış ve arter askıya alınmıştır. **C.** 500 IU heparin ile yıkanan 26-G branül, arter içine yerleştirilmiştir. **D.** Tek kullanımlık santral basınç ölçümü kateteri branülün uç kısmına sabitlenmiştir. Kateter, yapısında basınç transdüseri (Sasan, Ankara, Türkiye) içermektedir. **E.** Kan akımının ölçülmesi için ise superior mezenter arter izole edilmiş ve akım probu bahsedilen artere yuva olacak şekilde yerleştirilmiştir. **F.** Akım probu, kan akım cihazına bağlanmıştır.



### 3.4.1.3. Superior mezenter arter, Kan Akımının Ölçüm Tekniği

Kan akımının ölçülmesi için ise flowmetre (T106 küçük hayvan kan akım ölçer cihazı, Transonic Systems, ABD) kullanılmıştır. Batın alt kadranların orta hattından sagittal olarak 2-3 cm uzunluğunda sırasıyla cilt ve periton kesilerek abdominal insizyon yapılmış, en az düzeyde travma ile bağırsaklar görünür hale getirilmiştir. Bağırsaklar orta hattın soluna alınmış ve superior mezenter arter tespit edilmiştir. Damar, çevre dokudan izole edilerek akım ölçüm işlemine hazırlanmıştır. Debimetre ve akım probu (Perivascular Flow Probes, Transonic Systems) aracılığıyla ölçülen veriler, BIOPAC MP150 sistemine bağlanarak elektronik ortama aktarılmıştır. Anlık kan akımı ölçümü ve ardından kan akımı takibi gerçekleştirilmiştir. Bazal kan akımı değerleri ölçüldükten sonra sırasıyla intravenöz 1-3-10-30 µg/kg norepinefrin enjeksiyonları yapılmıştır (114).

İşlemin sonunda kan örnekleri *vena cava inferior*'dan toplanmıştır ve Eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Kan örnekleri 2000G'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen serum, -80°C'de saklanmıştır.

### 3.4.2. Ex vivo Deneysel Model

Organ banyosu çalışması için vasküler preparatlar hazırlanmıştır. Vasküler sisteme ait fonksiyonu sepsis/septik şok varlığında incelemek amacıyla temel farmakolojik çalışmalar planlanmıştır. Kan akımının ölçümünün ardından organ banyosu çalışması gerçekleştirilmiştir.

Abdominal aorta ventralinde yer alan dokular eksize edilmiştir. Arterin distalindeki dallanma hizasında omurgaya dik kesi atılmıştır. Abdominal aorta, forseps yardımıyla kaldırılarak omurgaya paralel yönde kesiye devam edilmiştir. Amaç, omurga ve aorta arasında yer alan bağ dokuyu kesmektir.

Göğüs kafesinin alt sınırından diyafram boyunca yapılan kesi ile pnömotoraks oluşturulmuştur. Ardından her iki ön aksiller çizgi hizasında kesiler atılmıştır. Toraks ön duvarı kaldırılıp intratorasik organlara ulaşılmıştır. Benzer şekilde, torasik aortanın ventralinde yer alan dokular eksize edilmiştir. Aortanın diğer yapılarla ilişkisi sonlandırılmıştır. Torasik aorta, diyafram hizasında omurgaya dik kesi atılmıştır. Torasik aorta, forseps yardımıyla kaldırılarak omurgaya paralel yönde kesiye devam edilmiştir.

İzole aorta dokuları Krebs Henseleit çözeltisi (karbojen ile havalandırılan, soğuk solüsyon) içeren petri kabına aktarılmıştır. Bağ doku uzaklaştırıldıktan sonra silindir şeklindeki izole aorta eş parçalara ayrılmıştır. Ayrılan halka preparatların lümeninden iki adet üçgen tel geçirilmiştir. Hazırlanan preparatlar, organ banyosuna (*37°C sıcaklıkta, karbojen ile havalandırılan, Krebs Henseleit çözeltisi bulunan ortam*) sabitlenmiştir.

**Tablo 3.1.** Organ banyosu çalışma protokolü

<b>Adım (sırasıyla)</b>	<b>Amaç</b>	<b>Not</b>
Potasyum solüsyonu (80 mM)	Doku canlılığının, kasılma gücünün değerlendirilmesi ve standardizasyon	
Fenilefrin (kümülatif, $10^{-9}$ – $10^{-4,5}$ M)	Adrenerjik $\alpha$ reseptör aracılı kasılma gücünün değerlendirilmesi	
Asetilkolin (kümülatif, $10^{-9}$ – $10^{-4,5}$ M)	Kolinerjik muskarinik reseptör aracılı gevşeme yanıtının değerlendirilmesi	Maksimum kasılma gücünün %80'ine denk gelen fenilefrin konsantrasyonun ortama eklenmesi ve kasılmanın elde edilmesi ardından asetilkolinin kümülatif konsantrasyonları aracılı gevşeme yanıtı incelenecektir.
SNP (kümülatif, $10^{-9}$ – $10^{-4,5}$ M)	Vasküler düz kas aracılı gevşeme yanıtının değerlendirilmesi ve standardizasyon	Gevşeme yanıtları maksimum SNP yanıtına oranlanarak değerlendirilecektir.

Vasküler preparatın doku canlılığı potasyum solüsyonu ile incelenmiştir (**Tablo 3.1**). Vasküler düz kasa ait adrenerjik  $\alpha$ -reseptör aracılı vazokonstriksiyonun sepsis nedenli değişikliğini incelemek için izole vasküler halka preparatları kümülatif fenilefrine ( $\alpha$ -reseptör agonisti,  $10^{-9}$  –  $10^{-4,5}$  M) maruz bırakılmıştır. Fenilefrin yanıtları

potasyum yanıtı ile karşılaştırılarak maksimum kasılmasının %80'ine karşılık gelen fenilefrin konsantrasyonu belirlenmiştir. Gevşeme yanıtları, belirlenen fenilefrin konsantrasyonunun banyoya eklenmesi ardından kasılan dokuya kümülatif ACh ( $10^{-9}$  –  $10^{-4.5}$  M) uygulaması ile değerlendirilmiştir. Vasküler düz kas aracılı gevşeme yanıtını incelemek için SNP yanıtları incelenmiştir.

Verilerin normalizasyonu ve analizi için potasyum solüsyonuna bağlı maksimum gerime oranlanarak kasılma grafiği (%); yaş doku ağırlığına oranlanarak kasılma grafiği (g) elde edilmiştir.

### 3.5. Moleküler Değerlendirme

#### 3.5.1. *In Vitro* ELISA Tekniği

İnflamasyonun değerlendirilmesi için moleküler teknikten faydalanılmıştır. *in vivo* çalışmalar sonunda elde edilen serum örneklerinde inflamasyon belirteçleri (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) incelenmiştir. Serum örneklerinden ELISA kitleri ile ölçüm yapılmıştır (119). Proinflamatuvar yanıtı yansıması sebebiyle TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ölçümleri tercih edilmiştir. Her iki belirtecin LPS enjeksiyonu ardından kısa sürede konsantrasyonunun artması ve uzun vadede koruması sebebiyle enjeksiyon ardından 4.-5. saat aralığında alınan serum örneklerinde ölçüm yapılmıştır (120).

TNF- $\alpha$  (ELK Biotechnology, ELK1396 96T) ve IL-1 $\beta$  (ELK Biotechnology, ELK1272 96T) ölçümleri için ticari ELISA kitleri kullanılmıştır. ELISA kitleri, Sandwich-ELISA prensibini temel almaktadır. ELISA plakası, incelenen sitokine özgül antikor ile kaplanmaktadır. Kit içinde yer alan *reagent*lar, belirtilen sürede inkübe edilerek dalga boyu tayin edilecek şekilde işaretlenmektedir.

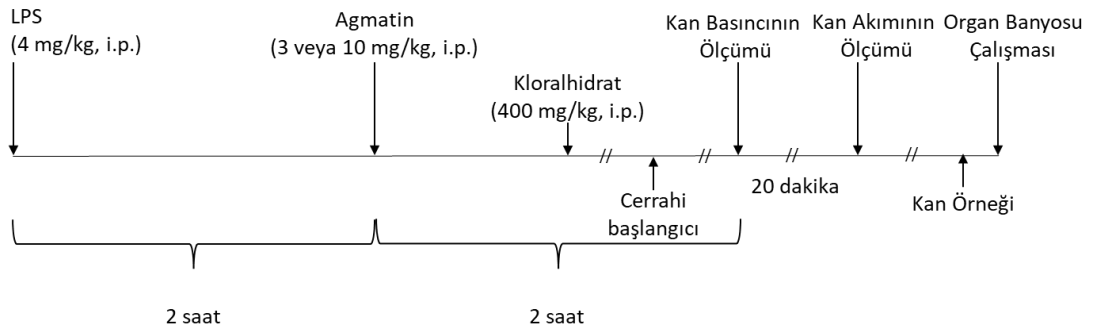
Ölçüm için, -80°C'de bekletilen serum örnekleri oda sıcaklığına getirilmiştir. 100  $\mu$ L serum örneği, kuyucuğa ekilmiştir ve 37°C'de inkübasyon ortamında antijen-antikor kompleksi oluşmuştur. İnkübasyon ardından yıkama işlemi ile kompleks kuramayan yapılar uzaklaştırılmıştır. Ardından biyotinlenmiş tespit antikorunu ile inkübasyon, "horseradish peroksidaz (HRP)" ile inkübasyon işlemi sırasıyla gerçekleştirilmiştir; inkübasyon ile renk değişikliği sağlanmıştır. HRP enzim aktivitesini sonlandıran solüsyon ile inkübasyonun ardından ikinci renk değişikliği

gözlemlenmiştir. Kuyucuktaki optik yoğunluğu ölçmek adına spektrofotometri cihazında (Multiskan Go, Thermo) 450 nanometre ölçümü yapılmıştır. Serum örneklerinin optik yoğunluğu, kite ait standart eğrisi ile karşılaştırılarak konsantrasyon hesaplanmıştır.

### 3.6. Deney Protokolü

Deney protokolünü netleştirmek adına ön çalışma gerçekleştirilmiştir. İlk adımda, sıçan sepsis modeli ve ilişkili kardiyovasküler değişikliklerin temelini oluşturan, literatürden örneklenen LPS dozu değerlendirilmiştir. Endotoksin enjeksiyonu modeli, vazoplejinin gözlemlendiği septik şok profilini sunmaktadır. Düşük kan basıncı ve refleks taşikardi ile seyreden septik şok kliniğine benzer profil oluşturmasından ötürü submaksimal hipotansif doza denk 4 mg/kg i.p. O55:B5 enjeksiyonu ana çalışma için tercih edilmiştir (**Şekil 3.2**) (**Tablo 3.2**).

Farmakokinetik çalışmada fare plazma yarı ömrü 117 dakika hesaplanan agmatin, LPS enjeksiyonunun sitokin konsantrasyonunu artırarak etkisini gösterdiği yani koruyucu tedavi durumunun oluşmadığı ikinci saatte *posttreatment* uygulanmıştır (86). Agmatin yarı ömrünün sıçanda daha uzun olduğu gösterilmiştir (86, 99). Agmatin etkisinin i.p. enjeksiyonu ardından on beş dakika içerisinde gözlemlenmesi ve etki üç saat boyunca devam etmesi sebebiyle i.p. enjeksiyon yöntemi uygulanmıştır (121). LPS enjeksiyonu ardından dördüncü saatte azalan ortalama kan basıncına etkisi incelenmiştir. 10 dakikalık stabilizasyon dönemi ve 10 dakikalık kan basıncı ölçümünden sonra kan akımı ölçülmüştür (118). Kan akımı ölçümü esnasında norepinefrinin kümülatif etkisi incelenmiştir. Kan akımı ölçümünden 20 dakika sonra kan örneği alınmıştır. Organ banyosu çalışmaları için abdominal aorta ve torasik aorta izole edilmiş ve preparat haline getirilmiştir.



Şekil 3.2. Deney protokolü.

Tablo 3.2. Deney Grupları

<b>Gruplar</b>	<b>I. Enjeksiyon</b>	<b>II. Enjeksiyon</b>
<b>Kontrol</b>	%0,9 NaCl	%0,9 NaCl
<b>LPS</b>	LPS O55:B5	%0,9 NaCl
<b>Agmatin-3</b>	%0,9 NaCl	Agmatin 3 mg/kg
<b>Agmatin-10</b>	%0,9 NaCl	Agmatin 10 mg/kg
<b>LPS, Agmatin-3</b>	LPS O55:B5	Agmatin 3 mg/kg
<b>LPS, Agmatin-10</b>	LPS O55:B5	Agmatin 10 mg/kg

Enjeksiyon hacmi, deney hayvanı ağırlığının 1/100'ine eşit tutulmuştur.

### 3.7. İstatistiksel Analiz

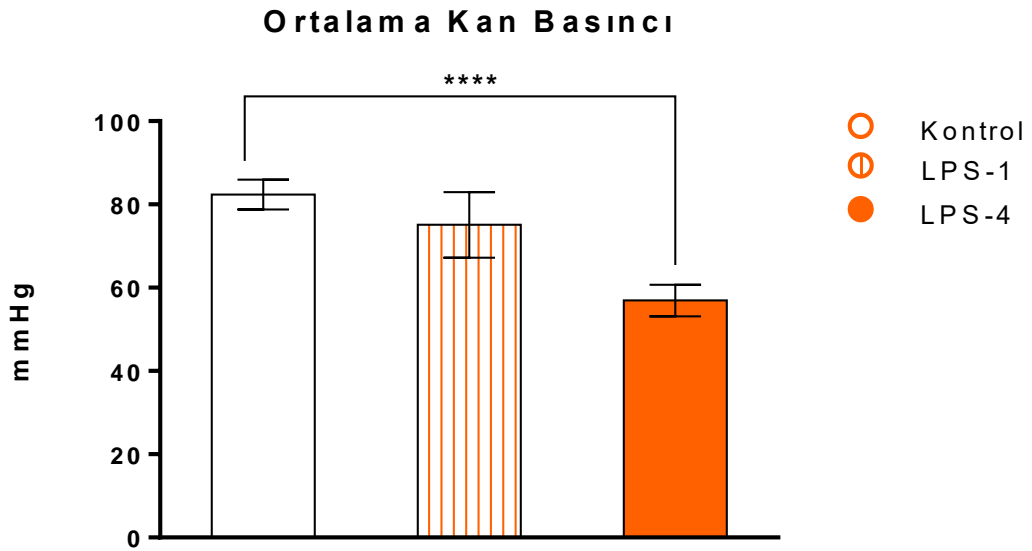
Ölçüm verilerinin normallik analizi Shapiro-Wilk testi ile yapılmıştır. Normal dağılan veriler parametrik t-test veya ANOVA (varyans analizi) testleri; normal dağılıma uymayan veriler ise parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Tekrarlayan ölçüm verileri için iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar için uygunluk durumuna göre posthoc test olarak Tukey ve Dunnett kullanılmıştır. İstatistiksel fark için “ $p<0,05$ ” değeri anlamlı kabul edilmiştir. Veriler aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası (SEM) şeklinde ifade edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Ön Çalışmanın Sonuçları

Sepsis kliniğinin ileri safhasında gözlemlenen şokun ve vazoplejinin başlangıcını ifade eden kan basıncındaki değişiklik, sıçanın *femoral arter*'ine cerrahi yöntemle yerleştirilen kateter ve katetere bağlı basınç transdüseri ile kaydedilmiştir. Sıçanda sepsis ve septik şok modelini oluşturan etkili LPS dozu, ortalama kan basıncı verilerinin incelenmesi sonucu belirlenmiştir.

#### 4.1.1. LPS Dozunun Seçilmesi



**Şekil 4.1.** Femoral artere yerleştirilen kateter ve basınç transdüseri aracılığıyla ölçülen, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait ortalama kan basıncı verilerinin ön çalışmada karşılaştırılması (*Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için Kruskal-Wallis testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. Kontrol vs. LPS \*\*\*\* $p < 0,0001$ . Aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası,  $n=6-9$ ).*

Tedavi protokolünü düzenlemek adına, kan basıncına etki eden LPS dozunun belirlenmesinin ardından agmatin dozunun literatürdeki örneklerini dikkate alan ön çalışma planlanmıştır. LPS (4 mg/kg, i.p.) uygulamasının dördüncü saatte ortalama kan basıncı değerini azaltması sebebiyle bahsedilen saatte ölçülen veriler incelenmiş ve analiz edilmiştir (**Şekil 4.1**).



Sıçanda sepsis modelini oluşturmak ve sepsis ilişkili kan basıncı değişikliğini incelemek adına LPS uygulanan grubun ortalama kan basıncı değeri (59,55±4,42 mmHg), %0,9 NaCl i.p. enjeksiyonları uygulanan kontrol grubunun kan basıncı değerine (84,74±5,42 mmHg) göre azalmıştır (\*\*\*\*p<0,0001).

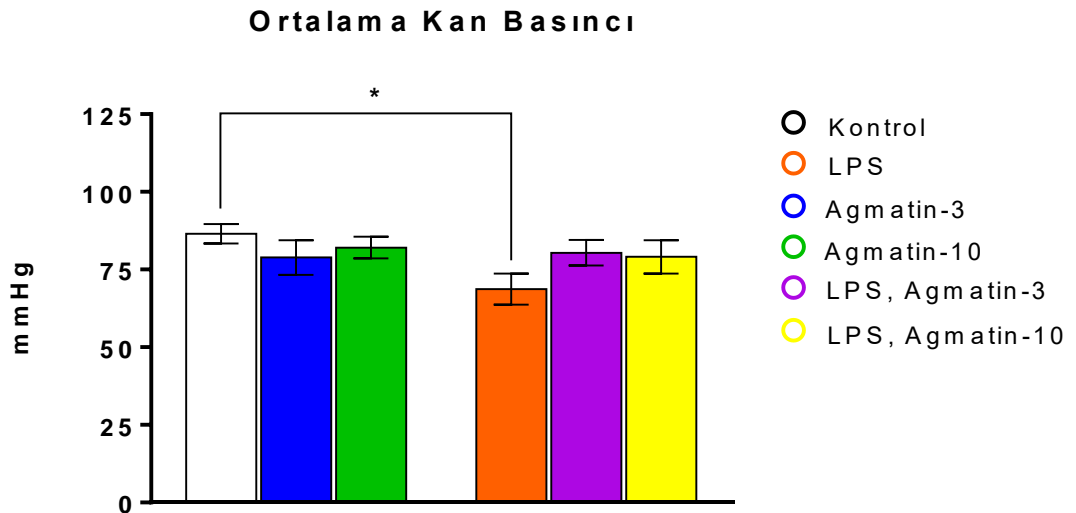
#### 4.2. Agmatinin *In Vivo* Deneysel Modeldeki Etkileri

Sepsis/septik şok modelinin kardiyovasküler parametreleri, cerrahi girişimle femoral artere yerleştirilen kateter ve katetere bağlı basınç transdüseri ile kaydedilmiştir.

##### 4.2.1. Agmatinin Kan Basıncına ve Dakikadaki Kalp Atımı Sayısına Etkileri

###### 4.2.1.1. Ortalama Arteriyel Kan Basıncı Verileri

Tedavilerin ortalama kan basıncına etkisi takip edilmiştir. Ortalama kan basıncı, “(2\*Diyastolik basınç değeri + Sistolik basınç değeri)/3” formülü ile hesaplanmıştır.



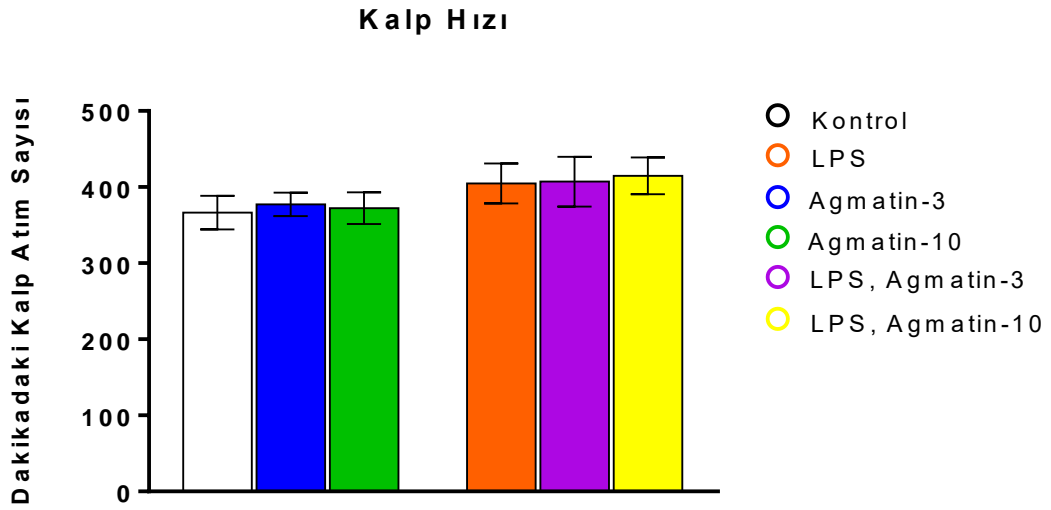
**Şekil 4.2.** Femoral artere yerleştirilen kateter ve basınç transdüseri aracılığıyla ölçülen, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait ortalama kan basıncı verilerinin karşılaştırılması (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için one-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Tukey post-hoc testi kullanılmıştır. Kontrol vs. LPS \*p<0,05. Aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası, n=11-16).

Sepsis modelini oluşturan LPS enjeksiyonu ( $68,71 \pm 5,03$  mmHg), sadece %0,9 NaCl enjeksiyonları yapılan kontrol grubuna ( $86,50 \pm 3,14$  mmHg) göre sıçanın ortalama kan basıncını azaltmıştır (\* $p < 0,05$ ) (**Şekil 4.2**). LPS+agmatin-3 grubunun ortalama kan basıncı değeri ( $80,41 \pm 4,14$  mmHg) sadece LPS uygulanan gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir. Ayrıca, sadece agmatin-3 enjeksiyonu yapılan gruba ( $78,88 \pm 5,58$  mmHg) göre anlamlı fark bulunmamıştır. LPS+agmatin-10 grubunun ortalama kan basıncı değeri ( $79,07 \pm 5,34$  mmHg) LPS uygulanan gruba göre anlamlı fark göstermemiştir. LPS+agmatin-3 enjeksiyonu yapılan grup ve kontrol grubu ile LPS+agmatin-10 enjeksiyonu yapılan grup arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Ayrıca, sadece agmatin-10 enjeksiyonu yapılan gruba ( $82,07 \pm 3,50$  mmHg) göre LPS+agmatin-10 grubu arasında anlamlı fark gösterilmemiştir.

Agmatin-3 ve agmatin-10 gruplarının ortalama kan basıncı değerleri, kontrol grubunun ortalama kan basıncı değerine göre fark göstermemiştir. Özetle LPS, ortalama kan basıncı değerini azaltmıştır. LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri ortalama kan basıncı değerini artırmış, kontrol grubu ile fark göstermemiştir. Ayrıca LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri, LPS grubu ile fark göstermemiştir.

#### **4.2.1.2. Kalp Hızı Verileri**

Tedavilerin kalp atım sayısına etkisi takip edilmiş ve veriler analiz için kullanılmıştır.



**Şekil 4.3.** Farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait dakikadaki kalp atım sayısı verilerinin karşılaştırılması (*Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için one-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Tukey post-hoc testi kullanılmıştır. Aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası, n=11-16*).

LPS grubunun dakikadaki kalp atım sayısı ( $404,8 \pm 26,39$  mmHg), kontrol grubuna ( $366,4 \pm 22,14$  mmHg) göre fark göstermemiştir (**Şekil 4.3**). LPS + agmatin-3 enjeksiyonu grubunun kalp atım sayısı değeri ( $407,1 \pm 32,53$  mmHg) LPS ve kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir. Ayrıca, sadece agmatin-3 enjeksiyonu yapılan gruba ( $377,3 \pm 15,48$  mmHg) ile LPS+agmatin-3 grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

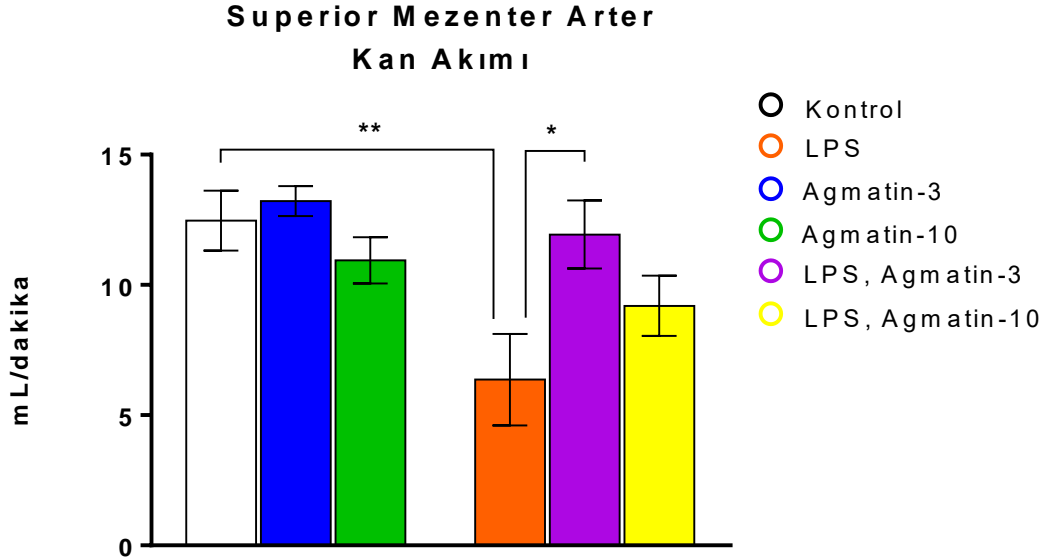
LPS+agmatin-10 grubunun dakikadaki kalp atım sayısı değeri ( $414,8 \pm 24,05$  mmHg), kontrol ve LPS grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir. LPS+agmatin-3 grubu ile LPS+ agmatin-10 grubu arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Agmatin-10 grubu ( $372,4 \pm 20,95$  mmHg), LPS+agmatin-10 grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir.

Agmatin-3 ve agmatin-10 grubunun dakikadaki kalp atım sayısı değeri, kontrol grubunun dakikadaki kalp atım sayısı değerine göre fark göstermemiştir. Özetle LPS uygulanan grupların kalp atım sayısı artmıştır. Gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır.

## 4.2.2. Agmatinin Kan Akım Hızına Etkileri

### 4.2.2.1. Superior Mezenter Arter Kan Akımı Hızının Verileri

Sıçan sepsis modelinde gözlemlenen mezenter arter yatağındaki düşük perfüzyonu göstermek amacıyla dakikadaki kan akımı miktarı ölçülmüştür.



**Şekil 4.4.** Superior mezenter artere yerleştirilen akım probu aracılığıyla ölçülen, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait kan akımı verilerinin karşılaştırılması (*Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için one-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Tukey post-hoc testi kullanılmıştır. Kontrol vs. LPS \*\* $p < 0,01$ , LPS vs LPS, agmatin-3  $p < 0,05$ . Aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası,  $n=8-10$ ).*

LPS grubunun superior mezenter arter kan akımı hızı ( $6,38 \pm 1,76$  mL/dk), kontrol grubuna ( $12,47 \pm 1,15$  mL/dk) göre azalmıştır ( $*p < 0,05$ ) (**Şekil 4.4**). LPS+agmatin-3 grubunun kan akımı hızı ( $11,93 \pm 1,31$  mL/dk), LPS grubuna göre artırmıştır ( $*p < 0,05$ ) ve kontrol grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir. Ayrıca, agmatin-3 grubu ( $13,22 \pm 0,58$  mL/dk) ve LPS+agmatin-3 grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

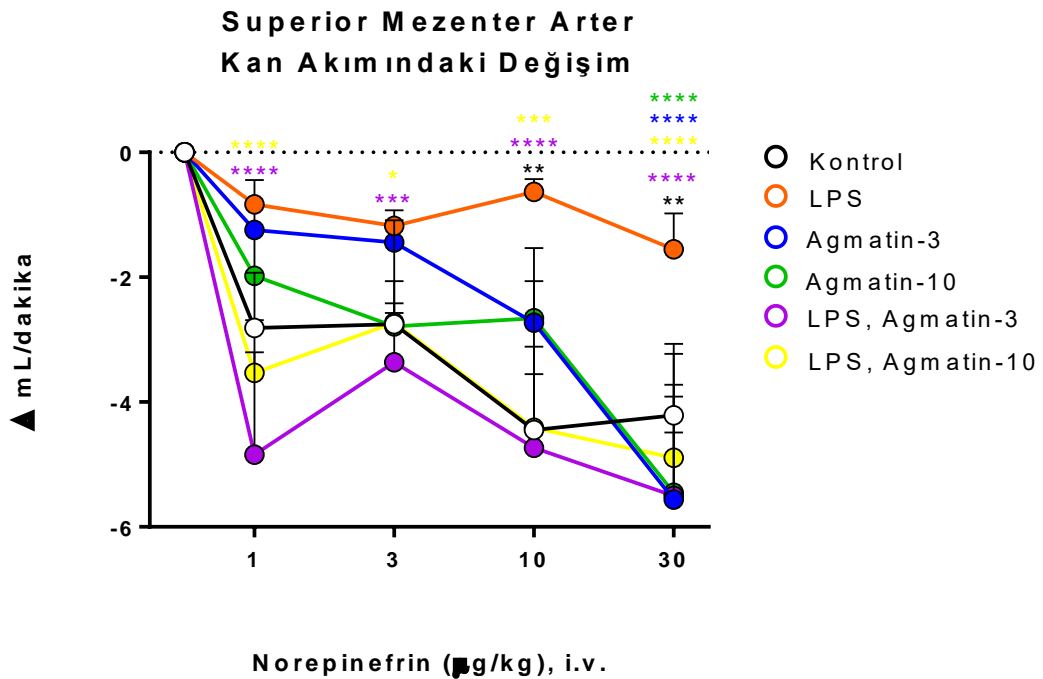
LPS+agmatin-10 grubunun kan akımı değeri ( $9,20 \pm 1,16$  mL/dk), kontrol ve LPS grubuna göre anlamlı fark göstermemiştir. LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 grupları arasında istatistiksel fark yoktur. Ayrıca, agmatin-10 grubu ( $10,95 \pm 0,89$  mL/dk) ile LPS+agmatin-10 grubu arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Agmatin-3 ve agmatin-10 gruplarının superior mezenter arter kan akımı hızı değerleri, kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. Özetle LPS, *superior mezenter arter* kan akımı hızını azaltmış; LPS ardından agmatin-3 enjeksiyonu azalan kan akımı hızını kontrol grubunun seviyesine yükseltmiştir. LPS ardından agmatin-10 uygulaması kan akımı hızını artırmıştır; kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. LPS ve LPS ardından agmatin-10 uygulaması fark göstermemiştir.

#### 4.2.3. Agmatinin Norepinefrin Yanıtına Etkileri

Sıçan sepsis modelinde gelişen vazoplejiyi göstermek amacıyla kümülatif norepinefrin dozlarına cevap dakikadaki kan akım miktarı takip edilerek incelenmiştir.

**Superior Mezenter Arter Kan Akımının Norepinefrin Enjeksiyonu Eşliğindeki Verileri**



**Şekil 4.5.** Farklı tedavi gruplarındaki sıçanların norepinefrin eşliğinde superior mezenter arter ait kan akımı ve ortalama kan basıncı yanıtının karşılaştırılması. (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme

*için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS grubuna göre istatistiksel farkı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası, n=5-9).*

Bazal değerine göre, kontrol grubunun superior mezenter arter kan akımı 10-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  norepinefrin enjeksiyonu aracılığıyla azalmıştır (\*\* $p<0,01$ ) (**Şekil 4.5**). LPS grubunun superior mezenter arter kan akımını, bazal değerine göre, norepinefrin uygulaması değiştirmemiştir. LPS+agmatin-3 grubunun kan akımı 1-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  norepinefrin dozu aracılığıyla azalmıştır (sırasıyla \*\*\*\* $p<0,0001$ , \*\*\* $p<0,001$ , \*\*\*\* $p<0,0001$  ve \*\*\*\* $p<0,0001$ ). Benzer şekilde, LPS+agmatin-10 grubunun kan akımı 1-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  norepinefrin dozu aracılığıyla azalmıştır (sırasıyla \*\* $p<0,01$ , \* $p<0,05$ , \*\*\* $p<0,001$  ve \*\*\*\* $p<0,0001$ ). Agmatin-3 grubunun superior mezenter arter kan akımı 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  norepinefrinin etkisi ile azalmıştır (\*\*\*\* $p<0,0001$ ). Benzer şekilde, agmatin-10 grubunun superior mezenter arter kan akımı 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  norepinefrinin etkisi ile azalmıştır (\*\*\*\* $p<0,0001$ ).

Özetle kontrol grubunda norepinefrin 10-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ile bazale göre kan akımında azalma saptanmış; LPS enjeksiyonu, superior mezenter arterin norepinefrine yanıtını baskılamıştır. LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 gruplarında ise norepinefrinin 1-3-10-30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dozuna yanıt gösterilmiştir.

İstatistiksel karşılaştırma gruplar arasında yapıldığında, norepinefrinin superior mezenter *arter* kan akımını azaltan etkisi, LPS+Agmatin-3 grubunda LPS grubuna göre yüksektir (\* $p<0,05$ ).

### **4.3. Ex Vivo Deneysel Modelin Sonuçları**

LPS enjeksiyonu ardından fizyolojik yanıtta muhtemel değişiklik ve bu değişikliğin agmatin müdahalesine yanıtı organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta ve torasik aorta preparatlarının verileri ile değerlendirilmiştir. Verilerin normalizasyonu, gerimin yaş doku ağırlığına oranlanması ile sağlanmıştır. Normalizasyon neticesiyle, doku ağırlığı (gram) başına düşen kasılma miktarında kümülatif doz uygulamasına bağlı değişiklik hesaplanmıştır.

### 4.3.1. Fenilefrin Yanıtının Verileri

#### 4.3.1.1. Normalizasyonu Yaş Doku Ağırlığına Oranlanarak Sağlanan

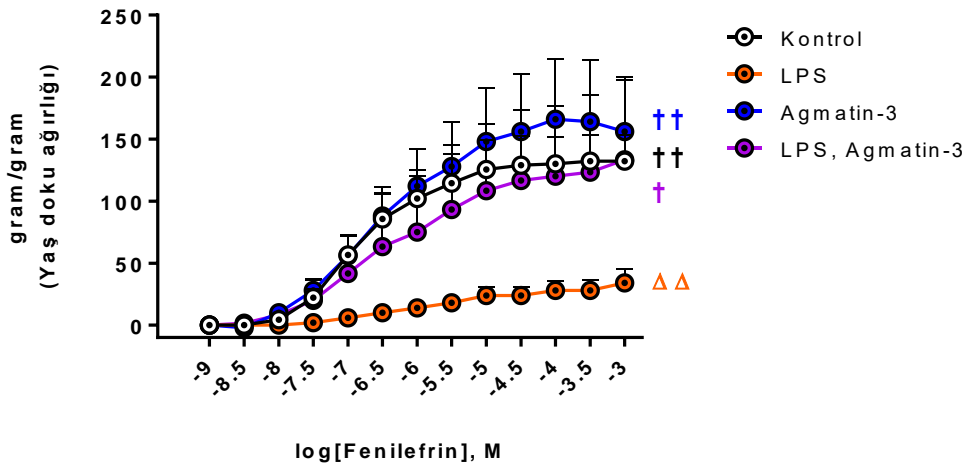
#### Veriler

##### 4.3.1.1.1. Abdominal Aorta Verileri

Vasküler preparatın kasılma yanıtı fenilefrin aracılığıyla incelenmiştir.

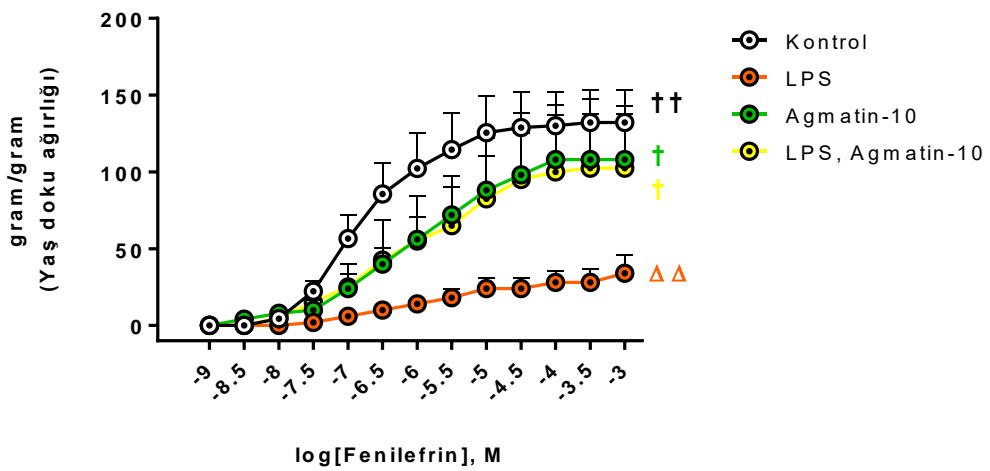
A.

#### Abdominal Aorta Kasılma



B.

#### Abdominal Aorta Kasılma



**Şekil 4.6.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta preparatlarının fenilefrin aracılı kasılma yanıtı verilerinin karşılaştırılması. (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS'e göre; Δ simgesi kontrole göre farkı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası, n=6-9).

LPS grubunun abdominal aorta preparatlarına ait veriler kontrol grubuna ait veriler ile karşılaştırıldığında, kümülatif fenilefrin dozuna bağlı doku ağırlığı başına düşen kasılma miktarı azalmıştır ( $p<0,01$ ).

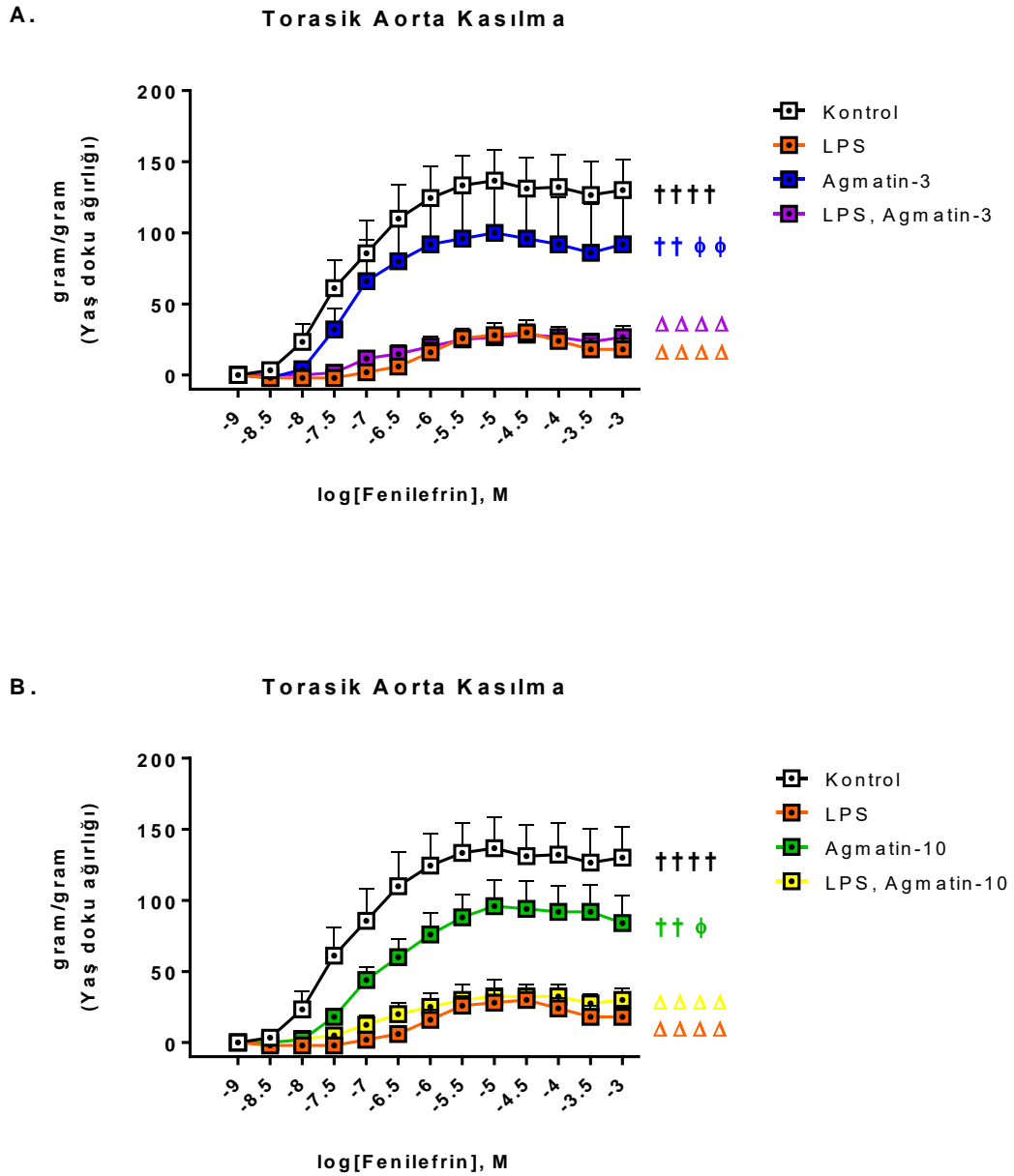
Sepsis modeli oluşturulan sıçanlarda agmatinin etkisi iki farklı doz uygulaması ile incelenmiştir. LPS+ agmatin-3 grubunun abdominal aorta preparatındaki fenilefrin dozuna bağımlı kasılma miktarı, LPS grubuna göre artmış ( $p<0,05$ ) ve kontrol grubuna göre istatistiksel fark göstermemiştir (**Şekil 4.6A**). LPS+agmatin-10 grubunda, LPS gruba göre kasılma miktarı artmış ( $p<0,05$ ) ve kontrol grubu ile fark göstermemiştir (**Şekil 4.6B**). Abdominal aorta preparatının kasılma miktarında, agmatin enjeksiyonundaki doz farkına bağlı olası istatistiksel fark bulunmamıştır. Diğer bir deyişle, LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 mg/kg grupları arasında fark bulunmamıştır.

Kasılma miktarı, agmatin-3 ve agmatin-10 gruplarında kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. Bahsedilen agmatin 3 ve 10 grupları, LPS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark görülmüştür ve agmatin gruplarında artış fazladır (sırasıyla  $p<0,01$  ve  $p<0,05$ ).

Özetle LPS, fenilefrin yanıtını baskılamıştır. LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri fenilefrin yanıtını geri döndürmüştür.



### 4.3.1.1.2. Torasik Aorta Verileri



**Şekil 4.7.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait torasik aorta preparatlarının fenilefrin aracılı kasılma yanıtı verilerinin karşılaştırılması (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS'e göre; Δ simgesi kontrole göre; φ simgesi LPS+Agmatin'e göre farkı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası, n=6-9).

LPS grubunun torasik aorta preparatlarına ait veriler, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kümülatif fenilefrin dozuna bağlı doku ağırlığı başına düşen kasılma miktarı azalmıştır ( $p<0,0001$ ).

LPS+agmatin-3 grubunun torasik aorta preparatındaki kasılma miktarı, LPS grubuna göre istatistiksel fark göstermemiş ve kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ) (**Şekil 4.7A**). Benzer şekilde, LPS +agmatin-10 grubunun kasılma miktarı, LPS grubuna göre istatistiksel fark göstermemiş ve kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ) (**Şekil 4.7B**). Torasik aorta preparatının kasılma miktarında, agmatin enjeksiyonundaki doz farkına bağlı olası istatistiksel fark bulunmamıştır. Diğer bir deyişle, LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 grupları arasında fark bulunmamıştır.

Kasılma miktarı, agmatin-3 grubu ve kontrol grubu arasında fark göstermemiştir. Benzer şekilde agmatin-10 grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Bahsedilen gruplar, LPS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark görülmüştür ve agmatin gruplarında artış fazladır (sırasıyla  $p<0,01$  ve  $p<0,01$ ). Kasılma miktarı, LPS+ agmatin enjeksiyonları uygulanan gruplarda sadece agmatin enjeksiyonu uygulanan gruplara göre azalmıştır (sırasıyla  $p<0,01$  ve  $p<0,05$ ).

Özetle LPS, fenilefrin yanıtını baskılamıştır. LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri bozulmuş fenilefrin yanıtını etkilememiştir.

#### **4.3.1.1.3. Agmatin Enjeksiyonu Uygulanan Grupların Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarına Ait Fenilefrin Yanıtının Özeti**

Abdominal aorta preparatına ait kasılma verileri incelendiğinde LPS grubuna ait kasılma miktarı kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,01$ ); LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 gruplarına ait kasılma miktarı ise LPS grubuna göre artmıştır (sırasıyla  $p<0,05$  ve  $p<0,05$ ) (**Şekil 4.6A-B**). LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 grupları arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Torasik aorta preparatına ait kasılma verileri incelendiğinde LPS grubuna ait kasılma miktarı kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ). LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 grubuna ait kasılma miktarı ise LPS grubu ile fark göstermemiş; kontrol grubuna göre azalmıştır (sırasıyla  $p<0,0001$  ve

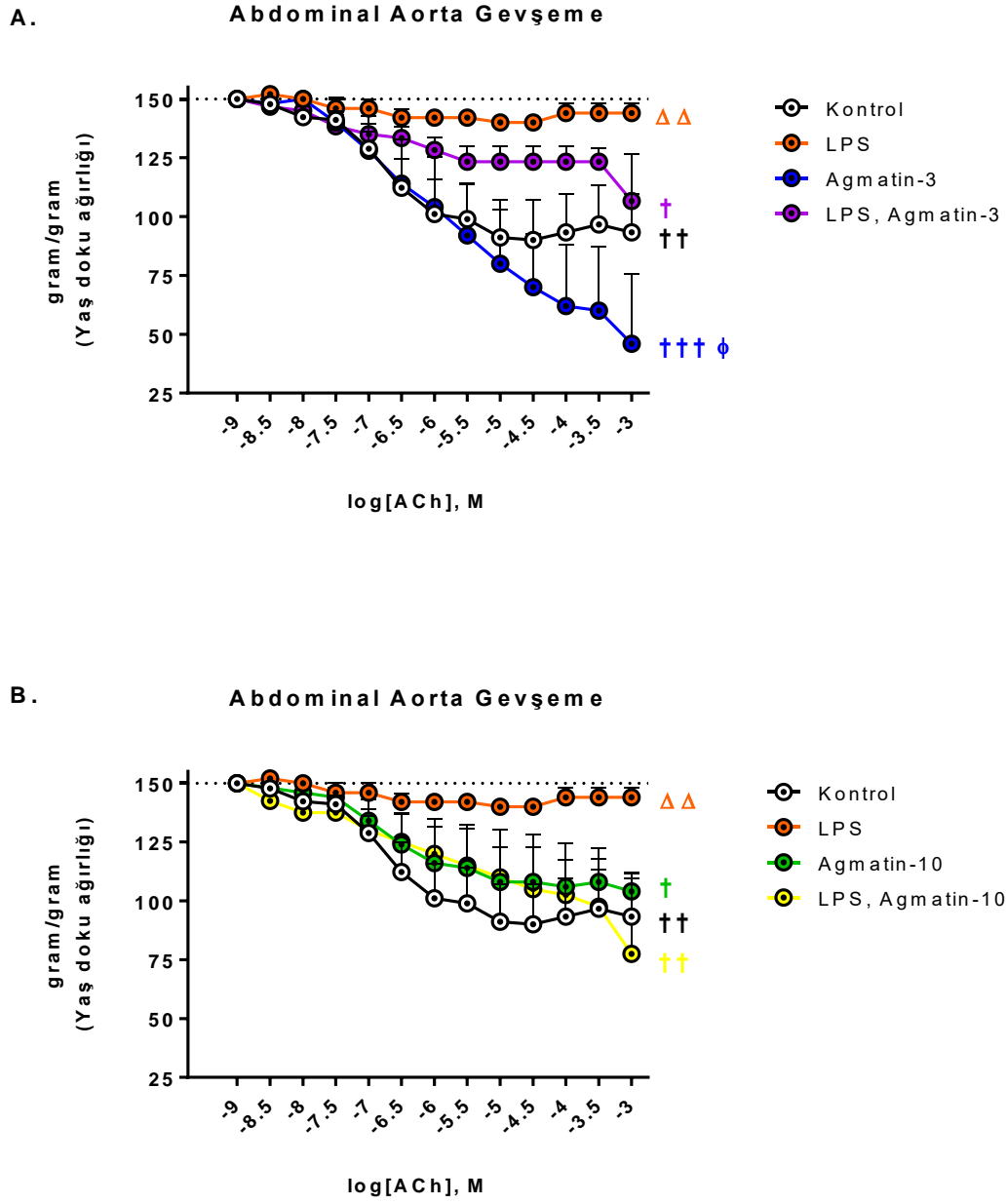
$p < 0,0001$ ) (Şekil 4.7A-B). LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 grupları arasında istatistiksel fark bulunmamıştır.

#### **4.3.2. Asetilkolin Yanıtının Verileri**

**4.3.2.1. Normalizasyonu Yaş Doku Ağırlığına Oranlanarak Sağlanan Veriler**

##### **4.3.2.1.1. Abdominal Aorta Verileri**

Vasküler preparatın gevşeme yanıtı ACh aracılığıyla incelenmiştir.



**Şekil 4.8.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta preparatlarının asetilkolin aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS'e göre; Δ simgesi kontrole göre; Φ simgesi LPS+Agmatin'e göre farkı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası, n=6-9).

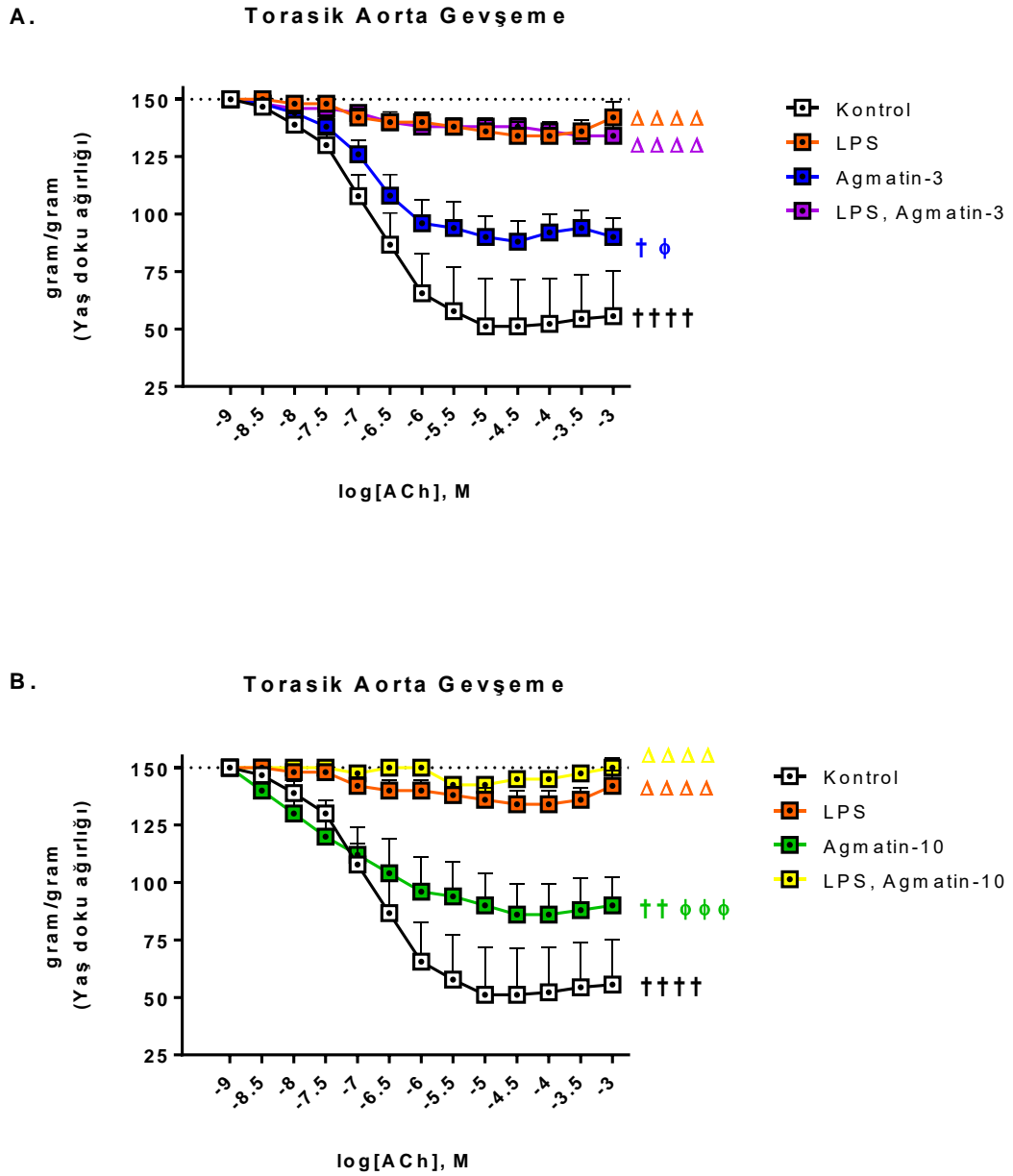
LPS grubunun abdominal aorta preparatlarına ait gevşeme verileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kümülatif ACh dozuna bağlı doku ağırlığı başına düşen gevşeme miktarı azalmıştır ( $p<0,01$ ).

LPS+agmatin-3 grubunun abdominal aorta preparatındaki gevşeme miktarı, LPS grubuna göre artmış ( $p<0,05$ ) ve kontrol grubuna göre istatistiksel fark göstermemiştir (**Şekil 4.8A**). LPS+agmatin-10 gevşeme miktarını, LPS grubuna göre artırmış ( $p<0,01$ ) ve kontrol grubu ile fark göstermemiştir (**Şekil 4.8B**). Abdominal aorta preparatının gevşeme miktarında, agmatin enjeksiyonundaki doz farkına bağlı olası istatistiksel fark bulunmamıştır. Diğer bir deyişle, LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 enjeksiyonu uygulanan gruplar arasında fark bulunmamıştır.

Gevşeme miktarı, agmatin-3 ve agmatin-10 gruplarında kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. Bahsedilen agmatin grupları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark görülmüştür ve gevşeme miktarı fazladır (sırasıyla  $p<0,001$  ve  $p<0,05$ ).

Özetle LPS, asetilkolin yanıtını baskılamıştır. LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri fenilefrin yanıtını geri döndürmüştür.

### 4.3.2.1.2. Torasik Aorta Verileri



**Şekil 4.9.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait torasik aorta preparatlarının asetilkolin aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS'e göre; Δ simgesi kontrole göre; Φ simgesi LPS+Agmatin'e göre farkı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama ± ortalamanın standart hatası, n=6-9).

LPS grubunun torasik aorta preparatlarına ait veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kümülatif ACh dozuna bağlı doku ağırlığı başına düşen gevşeme miktarı azalmıştır ( $p<0,0001$ ).

LPS+agmatin-3 grubunun torasik aorta preparatındaki gevşeme miktarı, sadece LPS grubuna göre istatistiksel fark göstermemiş ve kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ) (**Şekil 4.9A**). LPS+agmatin-10 enjeksiyonu uygulanan grupta gevşeme miktarı, kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ) (**Şekil 4.9B**). LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 grupları arasında gruplar arasında istatistiksel fark tespit edilmemiştir.

Gevşeme miktarı, agmatin-3 ve agmatin-10 gruplarında kontrol grubu ile fark göstermemiştir. Bahsedilen agmatin grupları, LPS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark görülmüştür ve gevşeme miktarı LPS grubuna göre fazladır (sırasıyla  $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ). Gevşeme miktarı, LPS+agmatin-3 grubunda agmatin-3 grubuna göre azalmıştır ( $p<0,05$ ). Benzer şekilde LPS+agmatin-10 grubunda agmatin-10 grubuna göre azalmıştır ( $p<0,001$ ).

Özetle LPS, asetilkolin yanıtını baskılamıştır. LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri bozulmuş asetilkolin yanıtını etkilememiştir.

#### **4.3.2.1.3. Agmatin Enjeksiyonu Uygulanan Grupların Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarına Ait Asetilkolin Yanıtının Özeti**

Abdominal aorta preparatına ait gevşeme verileri incelendiğinde kümülatif ACh uygulamasına bağlı doku ağırlığı başına düşen gevşeme miktarı, LPS grubunda kontrol grubuna göre azalmış ( $p<0,01$ ); LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 gruplarında LPS grubuna göre artmıştır (sırasıyla  $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) (**Şekil 4.8A-B**). LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 grupları arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. *Torasik aorta* preparatına ait gevşeme verileri incelendiğinde LPS+Agmatin-3 grubuna ait gevşeme miktarı ise LPS grubu ile fark göstermemiştir; kontrol grubuna göre düşüktür ( $p<0,0001$ ) (**Şekil 4.9A-B**). Benzer şekilde, LPS+Agmatin-10 grubuna ait gevşeme miktarı LPS grubu ile fark göstermemiştir; kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ).

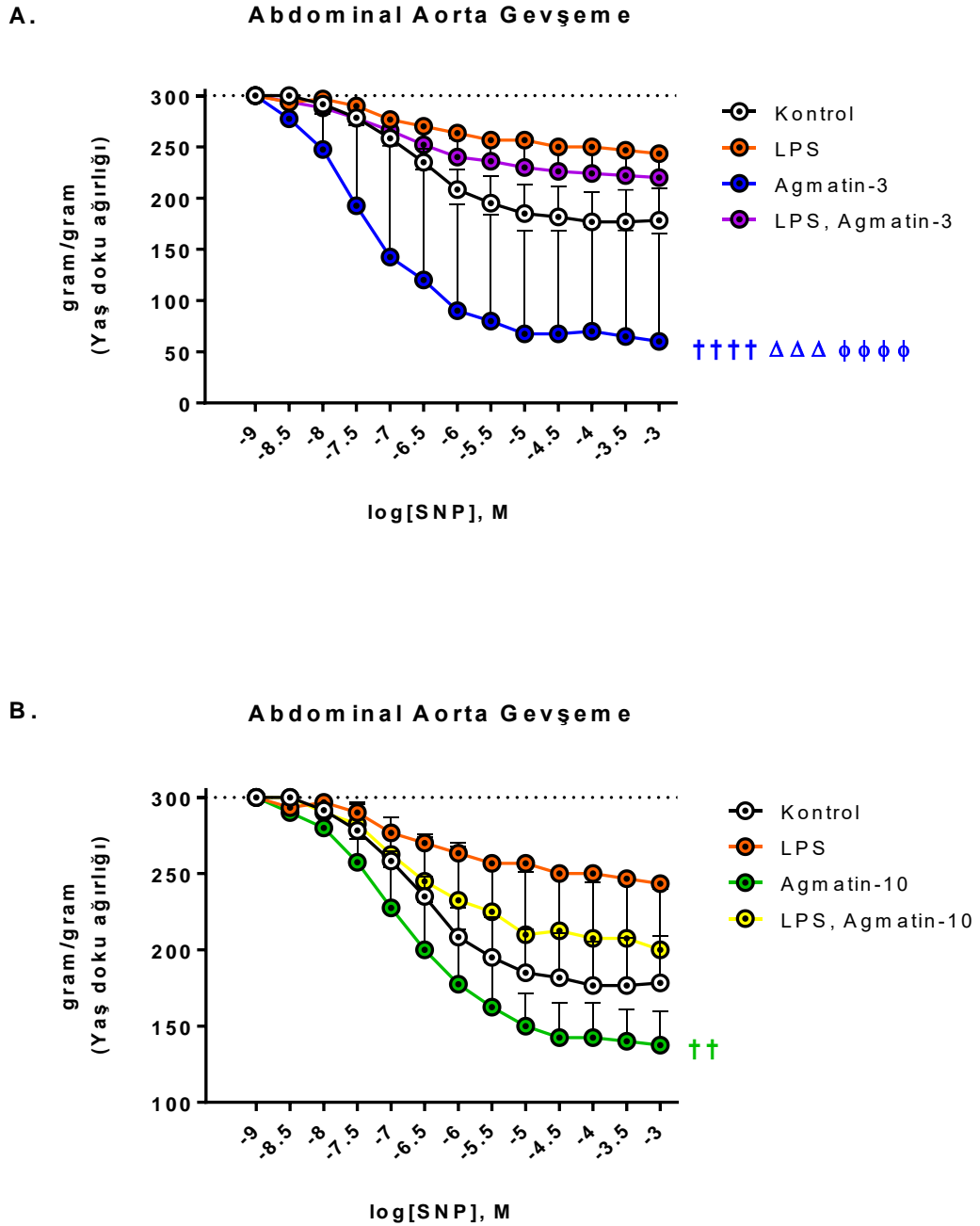
### **4.3.3. SNP Yanıtının Verileri**

#### **4.3.3.1. Normalizasyonu Yaş Doku Ağırlığına Oranlanarak Sağlanan Veriler**

##### **4.3.3.1.1. Abdominal Aorta Verileri**

Vasküler düz kas preparatının gevşeme yanıtı SNP aracılığıyla incelenmiştir.





**Şekil 4.10.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait abdominal aorta preparatlarının SNP aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS'e göre; Δ simgesi kontrole göre; φ simgesi

*LPS+Agmatin'e göre anlamlılığı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası, n=6-9).*

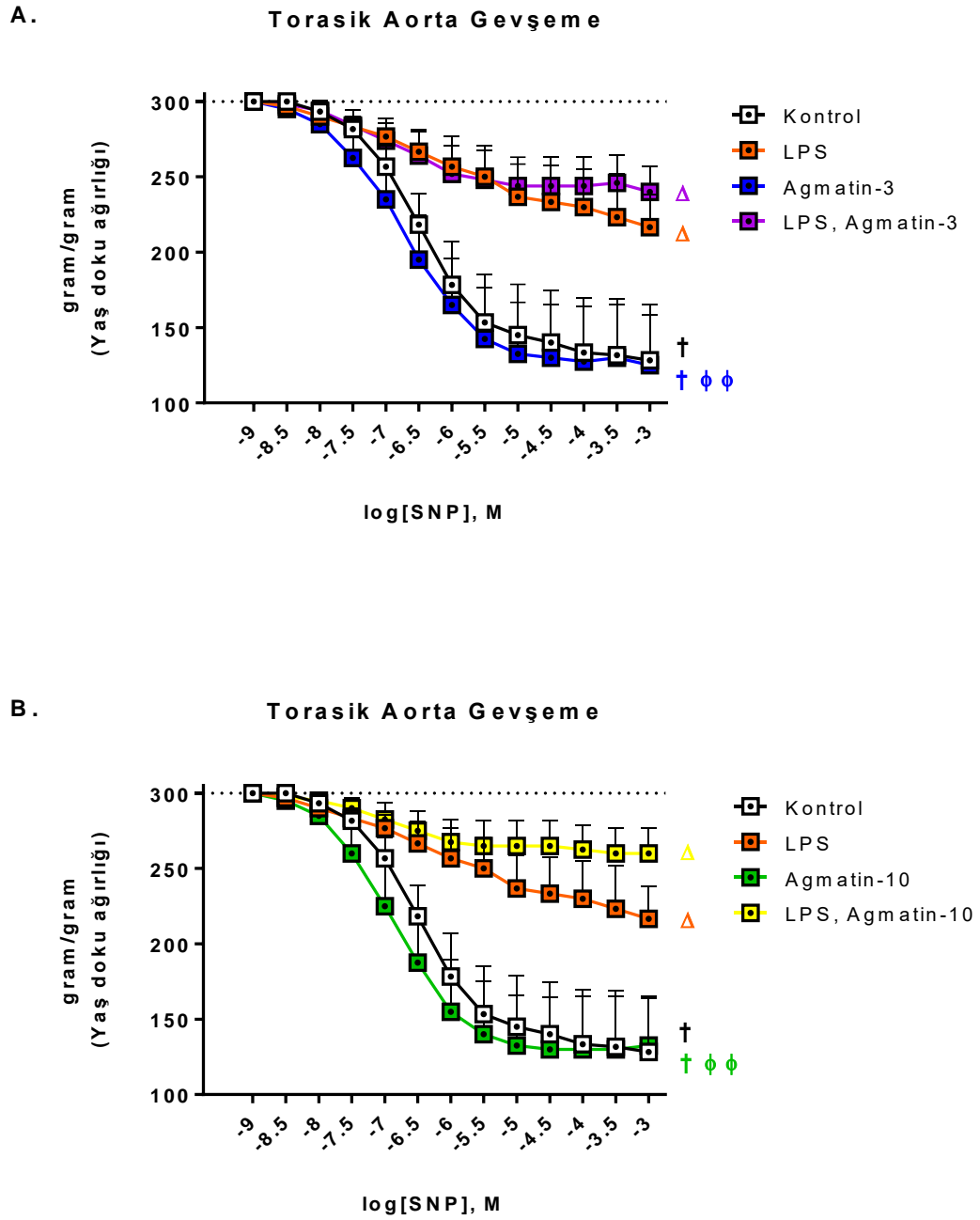
LPS grubunun abdominal aorta preparatlarına ait veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark bulunmamıştır.

LPS+agmatin-3 grubunun abdominal aorta preparatındaki gevşeme miktarı, sadece LPS grubuna ve kontrol grubuna göre istatistiksel fark göstermemiştir (**Şekil 4.10A**). Benzer şekilde, LPS+agmatin-10 grubunda gevşeme miktarı, LPS grubuna ve kontrol grubuna göre fark göstermemiştir (**Şekil 4.10B**). Abdominal aorta preparatının gevşeme miktarında, agmatin enjeksiyonundaki doz farkına bağlı olası istatistiksel fark bulunmamıştır. Diğer bir deyişle, LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 grupları arasında fark bulunmamıştır.

Gevşeme miktarı, agmatin-3 grubunda kontrol grubuna göre artmıştır ( $p<0,001$ ). Bahsedilen agmatin grubu, LPS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark görülmüştür ve gevşeme miktarı fazladır ( $p<0,0001$ ). Agmatin-10 grubunda kontrol grubuna göre fark hesaplanmamış; LPS grubuna göre ise gevşeme miktarında artış hesaplanmıştır ( $p<0,01$ ). Gevşeme miktarı, LPS+agmatin-3 grubunda agmatin-3 grubuna göre azalmıştır ( $p<0,0001$ ).

Özetle LPS, SNP yanıtını etkilememiştir.

#### 4.3.3.1.2. Torasik Aorta Verileri



**Şekil 4.11.** Organ banyosu çalışması için hazırlanan, farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait torasik aorta preparatlarının SNP aracılı gevşeme yanıtı verilerinin karşılaştırılması (*Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için two-way ANOVA testi; çoklu karşılaştırma için Dunnett post-hoc testi kullanılmıştır. † simgesi LPS'e göre; Δ simgesi kontrole göre; Φ simgesi*

*LPS+Agmatin'e göre anlamlılığı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası, n=6-9).*

LPS grubunun torasik aorta preparatlarına ait veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kümülatif SNP dozuna bağlı doku ağırlığı başına düşen gevşeme miktarı azalmıştır ( $p<0,05$ ).

LPS+agmatin-3 grubunun torasik aorta preparatındaki gevşeme miktarı, LPS grubuna istatistiksel fark göstermemiştir; kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,05$ ) (**Şekil 4.11A**). Benzer şekilde, LPS+agmatin-10 grubunda gevşeme miktarı, LPS grubuna göre fark göstermemiştir; kontrol grubuna göre azalmıştır ( $p<0,05$ ) (**Şekil 4.11B**). LPS ardından agmatin 3 ve 10 enjeksiyonu uygulanan gruplar arasında istatistiksel fark tespit edilmemiştir.

Gevşeme miktarı, agmatin-3 veya agmatin-10 gruplarında kontrol grubuna göre fark göstermemiştir. Bahsedilen agmatin grupları LPS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark bulunmuştur (sırasıyla  $p<0,05$  ve  $p<0,05$ ). Gevşeme miktarı, LPS+agmatin gruplarında sadece agmatin gruplarına göre azalmıştır (sırasıyla  $p<0,01$  ve  $p<0,01$ ).

Özetle LPS, SNP yanıtını baskılamıştır. LPS ardından uygulanan agmatin tedavileri bozulmuş SNP yanıtını etkilememiştir.

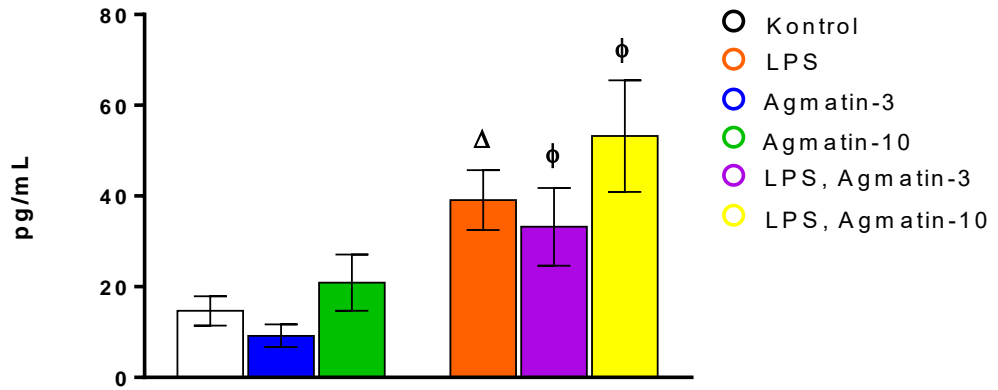
#### **4.3.3.1.3. Agmatin Enjeksiyonu Uygulanan Grupların Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarına Ait SNP Yanıtının Özeti**

Abdominal aorta preparatına ait gevşeme verileri incelendiğinde kümülatif SNP uygulamasına bağlı doku ağırlığı başına düşen gevşeme miktarı gruplar arasında fark göstermemiştir. LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 grupları arasında istatistiksel fark bulunmamıştır (**Şekil 4.10A-B**). Torasik aorta preparatına ait gevşeme verileri incelendiğinde gevşeme miktarı LPS, LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 gruplarında kontrol grubuna göre düşüktür (sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$  ve  $p<0,05$ ). LPS+Agmatin-3 ve LPS+Agmatin-10 grupları arasında istatistiksel fark bulunmamıştır (**Şekil 4.11A-B**).

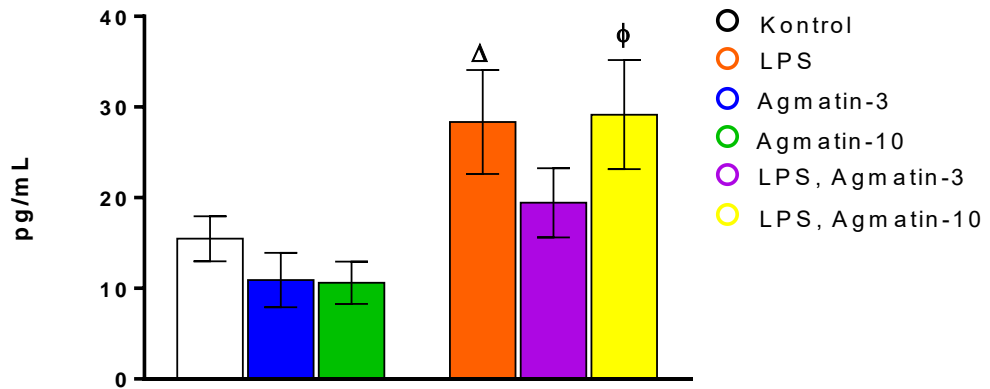
#### 4.4. Moleküler Ölçümün Sonuçları

##### 4.4.1. Serum TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Konsantrasyonunun Verileri

A. Serum TNF- $\alpha$  Konsantrasyonu



B. Serum IL-1 $\beta$  Konsantrasyonu



**Şekil 4.12.** Farklı tedavi gruplarındaki sıçanlara ait serum örneklerinde TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonlarının karşılaştırılması. (Veri dağılımı, Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arası istatistiksel inceleme için t testi kullanılmıştır.  $\Delta$  simgesi kontrole göre,  $\Phi$  simgesi LPS+Agmatin'e göre anlamlılığı ifade etmek için kullanılmıştır. Aritmetik ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası, n=6-9).

LPS grubunda (39,11 $\pm$ 6,58 pg/mL), kontrol grubuna (14,69 $\pm$ 3,23 pg/mL) göre serum TNF- $\alpha$  konsantrasyonunu artmıştır (p<0,05) (**Şekil 4.12A**). Serum konsantrasyonu, LPS +agmatin-3 grubunda (33,20 $\pm$ 8,55 pg/mL) agmatin-3 grubuna (9,19 $\pm$ 2,52 pg/mL) göre artmıştır (p<0,05).

LPS+agmatin-10 grubunun serum TNF- $\alpha$  konsantrasyonu (53,21 $\pm$ 12,59 pg/mL), agmatin-10 grubuna (20,90 $\pm$ 6,21 pg/mL) göre artmıştır (p<0,05).

LPS grubunda (26,41 $\pm$ 5,86 pg/mL), kontrol grubuna (15,47 $\pm$ 2,86 pg/mL) göre serum IL-1 $\beta$  konsantrasyonunu artmıştır (p<0,05) (**Şekil 4.12B**). Serum konsantrasyonu, LPS+agmatin-3 enjeksiyonu (19,43 $\pm$ 3,82 pg/mL) agmatin-3 grubuna (10,92 $\pm$ 3,00 pg/mL) göre artırmış; fakat istatistiksel fark bulunmamıştır.

LPS+agmatin-10 grubunun serum IL-1 $\beta$  konsantrasyonu (29,16 $\pm$ 6,03 pg/mL), agmatin-10 grubuna (10,62 $\pm$ 2,33 pg/mL) göre artmıştır (p<0,05).

## 5. TARTIŞMA

Kardiyovasküler parametrelerin sepsisteki değişiklikleri ve agmatinin değişikliklere etkileri, bu çalışmanın temel konusunu oluşturmuştur. Tez çalışmasında, agmatinin sepsis sebebiyle bozulan vasküler yanıt verebilirliğe etkisi incelenmiştir. LPS, bu tez çalışmasında sistolik, diyastolik ve ortalama kan basıncını düşürmüştür; kalp atım sayısını artırmıştır. Sistolik ve ortalama kan basıncı kontrol grubuna göre istatistiksel fark gösterirken diyastolik kan basıncı ve kalp atım sayısı istatistiksel fark göstermemiştir. LPS grubunda superior mezenter arter kan akımı azalmıştır, superior mezenter arter'in norepinefrin yanıtı baskılanmıştır. Fenilefrin, asetilkolin yanıtları abdominal aorta ve torasik aorta preparatında; SNP yanıtı sadece torasik aorta preparatında baskılanmıştır. Serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonu LPS ile artmıştır. LPS ardından agmatin-3 veya 10 tedavileri ise sistolik, diyastolik, ortalama kan basıncını artırmıştır; fakat istatistiksel fark göstermemiştir. Agmatin-3 ve 10 tedavileri superior mezenter arter kan akımını LPS grubuna göre artırmıştır; yalnızca LPS+agmatin-3 grubu kan akımını istatistiksel olarak kontrol seviyesine çekmiştir. Baskılanmış norepinefrin yanıtı agmatin-3 ve 10 tedavileri ile geri kazanılmıştır. Baskılanmış fenilefrin, asetilkolin yanıtları abdominal aorta preparatında agmatin tedavisi ile geri kazanılmıştır; torasik aorta preparatında ise değişmemiştir.

Deney hayvanının hemodinamik sepsis profili, i.p. LPS enjeksiyonu ardından oluşmuştur. Klinikte gözlemlenen sepsis profilinin hipodinamik evresini yansıtması, süreç içinde proinflatuvar sitokin miktarının artması kullanılan sepsis modelinin tercih edilmesinin sebebi olmuştur (122). Ön çalışmamızda, iki farklı LPS dozunun kan basıncına saatlik etkisi incelenmiş; ortalama kan basıncı LPS 4 mg/kg i.p. enjeksiyonu uygulanan grupta dördüncü saatte, bazal kan basıncı değerine göre, 16,44 mmHg azalmış ve istatistiksel fark göstermiştir. Benzer şekilde Sprague Dawley sıçanın, LPS 4 mg/kg i.p. enjeksiyonunun ardından, saatlik kardiyovasküler parametre değişikliklerini takip eden çalışmada dördüncü saatteki ortalama kan basıncı değeri 9,00 mmHg azalmış ve bazal ölçüm değerine göre istatistiksel fark göstermiştir (123). Bulgu, ön çalışmamızın sonucunu desteklemiştir. LPS 1 mg/kg dozunun ise ortalama kan basıncını azaltmadığı ön çalışmamız ile gösterilmiştir. Düşük LPS dozunun, erken

dönemde ortalama kan basıncını geçici olarak düşürdüğü; fakat basınç değerinin süreç içinde yükseldiği gösterilmiştir (124). Homeostazı sağlayan barorefleks mekanizmaları sıçanda kısa vadede tetiklemek ve incelemek amacıyla düşük LPS dozları tercih edildiği tartışılmıştır. Ortalama kan basıncını süreç içinde değiştirmemesi, homeostatik mekanizmalar ile geçici kan basıncı değişikliğinin kompanse edilebilmesi sebebiyle LPS 1 mg/kg dozu tercih edilmemiştir.

Sıçanın ortalama kan basıncı, anestezi uygulaması ardından *femoral arter*'in kateterizasyonu ile ölçülmüştür. Rodentte aort basıncını doğrudan yansıtması (125), *a. carotis communis* ölçümleri ile fark göstermemesi sebebiyle *femoral arter* yoluyla kan basıncı ölçümü tercih edilmiştir (126). Bu tez çalışmasında, kloralhidrat anestezisi altında ölçülen Wistar türü sıçanın sistolik kan basıncı değeri  $106,6 \pm 3,03$  mmHg; diyastolik kan basıncı  $72,34 \pm 2,42$  mmHg; ortalama kan basıncı değeri  $86,90 \pm 2,96$  mmHg hesaplanmıştır. Wistar türü sıçanların ortalama kan basıncını benzer anestezi ve cerrahi yöntem ile değerlendiren başka çalışmada *femoral arter*'ten ölçülen sistolik kan basıncı  $114,2 \pm 8,9$  mmHg; diyastolik kan basıncı  $82,5 \pm 10,9$  mmHg; ortalama kan basıncı  $96,5 \pm 10,7$  mmHg şeklindedir (127). Cerrahi metot uygulaması esnasında anesteziklerin vital bulgulara etkilerini inceleyen, *femoral arter* ortalama kan basıncı kloralhidrat eşliğinde  $88 \pm 3$  mmHg sunan makalede ve tez çalışmamızda kloralhidratın tercih edilmesinin sebebi, cerrahi öncesi ve esnasında ortalama kan basıncındaki değişikliğin diğer anesteziklere göre istatistiksel fark göstermemiş olmasıdır (128). Ayrıca ortalama kan basıncı ölçümü eşliğinde superior mezenter arter kan akımının değerlendirilecek olması etki süresi nispeten uzun olan kloralhidrat (1-3 saat) kullanımını uygunlaştırmıştır.

### **5.1. LPS Enjeksiyonunun Kan Basıncına ve Superior Mezenter Arter Kan Akımına Etkileri**

Kardiyovasküler parametreleri inceleyen sepsis çalışmasında, arteriyel uyumu yansıtan hemodinamik belirteçler arteriyel yapının proksimalinden (torasik aorta) distaline (*femoral arter*) değerlendirilmiştir (129). Aynı çalışmada otonom sinir sistemi işlevinin sepsisteki değişimi ise "*barorefleks hassasiyeti*" ve "*kalp atış hızı değişkenliği*"



(*kardiyak varyabilite*)” aracılığıyla değerlendirilmiştir. Sepsis sebebiyle, barorefleks işlevi baskılanmıştır ve taşikardi tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında LPS enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturulan sıçanın dakikadaki kalp atım sayısı  $404,8 \pm 26,39$  hesaplanmış ve kontrol grubuna göre artmıştır; fakat gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Dakikadaki kalp atım sayısı verisi, sepsis sürecinde homeostatik mekanizmaların baskılanması ile ilişkilendirilebilmiştir. Endojen katekolaminlerin kardiyak varyabilite ve sitokinler ile ilişkisini sepsis modelinde inceleyen başka çalışmada, LPS enjeksiyonu (2 mg/kg, i.p.) uygulanan sıçanın dördüncü saatte dakikadaki kalp atım sayısı 429,9 hesaplanmıştır; değer, kontrol grubunun dakikadaki kalp atım sayısı ile istatistiksel fark göstermemiştir (130). Yüksek katekolamin konsantrasyonuna rağmen kan basıncı fizyolojik değere çekilmemiştir; endojen katekolaminin sepsisin ilerleyen sürecinde kardiyovasküler sisteme doğrudan etkili olmadığı düşünülmüştür. Bahsedilen çalışmanın ve bu tez çalışmasının dördüncü saatte ölçülen düşük ortalama kan basıncı değerine rağmen yükselmeyen kalp hızı, sepsis modeli aracılı bozulmuş kardiyovasküler refleks mekanizmaları ile ilişkilendirilebilmiştir. Ayrıca sepsis sürecinde sentezi artabilen, zaman içinde konsantrasyonu azalmayan endojen katekolaminlerin sempatik *over-stimülasyonda* ve aşırı uyarılma ardından meydana gelen baskılanmış hemodinamik yanıtta rol oynayabileceği düşünülmüştür. Katekolamin sentezinin son basamak olduğu HPAA değişikliklerini sıçan sepsis modelinde inceleyen çalışma, LPS’in subpirojenik ve pirojenik dozlarının enjeksiyonunun ardından ikinci saatte, plazma kortikosteron ve ACTH konsantrasyonunun; dördüncü-altıncı saat aralığında plazma norepinefrin konsantrasyonunun arttığını ve en yüksek düzeye ulaştığını göstermiştir (131). Süreç içinde, konsantrasyon korunmuştur; bu sebeple endojen katekolaminlerin kardiyovasküler sisteme etkisini yitirdiği düşünülmüştür. Endojen katekolamin ve sepsiste katekolamin desteğinin kardiyovasküler parametrelere etkisini inceleyen klinik çalışmada, yeterli miktarda kortizol sentezini sepsis sürecinde gerçekleştiren bireylerin hidrokortizon tedavisi ardından kan basıncı ve plazma katekolamin konsantrasyonu gerçekleştiremeyen bireyler ile istatistiksel fark göstermemiştir. Özetle plazmada yeterli endojen katekolamin konsantrasyonuna ulaşılmasına rağmen

katekolamin işlevinde yetersizlik ve destek katekolamin ihtiyacı gösterilmiştir (132). Bulgu, sepsis sürecinde endojen katekolaminlerin işlev kaybının varlığını, katekolaminlere yanıtın baskılandığını desteklemiştir. Tez çalışmasına ait verilerin, bahsedilen mekanizmalar ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Hipodinamik fazın belirteçlerinden biri olan perfüzyon düşüklüğü superior mezenter arter kan akımının dördüncü saatte ölçülmesi ile değerlendirilmiştir. İntraperitoneal 4 mg/kg LPS enjeksiyonu ile sepsis modeli oluşturulan sıçanların dördüncü saatte dakikadaki kan akımı miktarı  $6,38 \pm 1,76$  mL/dk ölçülmüş; değer, kontrol grubuna göre azalmıştır. Sepsis sürecinin sistemlere özgül kan akımı dağılımına etkisini inceleyen çalışma, homeostazı sağlayan işlevini yitirmemiş mekanizmalar aracılığıyla kan basıncının düzenlenebildiği hiperdinamik evrede metabolik ihtiyacı fazla olan, superior mezenter arterin dahil olduğu splanknik dolaşıma perfüzyonun yani kan akımının yönlendiğini göstermiştir (133). Hipodinamik evrede ise, total kan akımını ifade eden kardiyak indeksin ve superior mezenter arter kan akımının orantılı biçimde azaldığı gösterilmiştir (134, 135). Bulgu, bu tez çalışmasında elde edilen düşük superior mezenter arter kan akımı değerini desteklemiştir.

Literatür, kan akımının metabolik ihtiyaca ve arteriyel oksijen içeriğine göre otonom sinir sistemindeki değişiklikler ile bölgesel ayarlanabildiğini; kalbin kasılma işlevi ile ilişkili ortalama kan basıncının ise, kan akımını yönlendirmek adına arteriyel sistemin tamamına eşit dağıldığını özetlemiştir (136). Özetle, otonom sinir sisteminin vasküler sisteme doğrudan etkisi incelenebilmiştir. Sepsis, otonom sinir sistemi tarafından uyarılabilirliğinin kardiyovasküler sistemde baskılandığı süreç olarak tanımlanmıştır. Başlangıçta sempatik sistemin baskın etkisi tespit edilmiş; fakat zaman içinde sempatik ve parasempatik sistemin etkisini yitirdiği gösterilmiştir (137, 138). Eş zamanlı etki kaybı, kardiyovasküler kompartmanlara kan hacmi dağılımında değişikliklere sebep olmuştur. Sempatik sistemin baskın uyarısı aracılığıyla total kan akımının dolaylı göstergesi kardiyak indeks sepsisin erken döneminde artmıştır (139). Sempatik ve parasempatik sistem uyarısının etkisini yitirdiği dönemde ise kardiyak indeks azalmıştır (140). Bu tez çalışmasında hipodinamik evrede splanknik dolaşım

sisteminin azalmış kan akımının etkisiz sempatik ve parasempatik sistem uyarısı ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Kardiyovasküler sistemin otonom sinir sistemi ile ilişkili parametreleri, kardiyak indeks ilişkili KO ve dakikadaki kalp atım sayısı dışında atım hacmi (SV) ve ilişkili ön/art yük değerleri sepsis sürecinde değişiklik göstermiştir (141). Bahsedilen değişiklikler, hacim değişikliğini ifade etmiştir. Sepsis, vasküler sistemin doku bütünlüğünü bozan süreç olarak tanımlanmıştır. Kardiyak ve vasküler bütünlüğü sepsis modelinde inceleyen çalışma, vasküler sızıntıyı histolojik boyama tekniği ile nesnelleştirmiş; vasküler sistem içindeki hacmin sızıntı sebebiyle kaybindan dolayı kalbin ön yükünün, sonuçta atım hacmi ve total perfüzyonun, azaldığını göstermiştir (142). Bu tez çalışmasının azalmış kan akımının, sempatik ve parasempatik sistem uyarısının etkisizliği dışında, vasküler sistem bütünlüğünün bozulması ve intravasküler hacim kaybı ile ilişkilendirilebileceği düşünülmüştür.

Sepsis sürecinde, sistemik yanıtlar yanı sıra, bölgesel endojen vazoaaktif maddelerin konsantrasyonundaki değişiklikler ile homeostaz desteklenmiştir veya kaybolmuştur. Sepsis süreci ve vazoaaktif maddeleri değerlendiren ve bahsedilen çalışmayı destekleyici nitelikteki çalışmada, nitrik oksit ve endotelinin plazma konsantrasyonu eş zamanlı hiperdinamik evrede artmıştır; homeostaz kardiyovasküler parametrelerin fizyolojik düzeyde tutulması ve devam etmesi ile ifade edilmiştir (143). Vasküler tonus ve bölgesel kan akışının vazoaaktif maddeler aracılığıyla dengelenmesinin homeostazı sağladığı düşünülmüştür. Kan basıncının ve kardiyak hızın değiştiği hipodinamik evrede ise endotelin konsantrasyonu zaman içinde azalmış; yüksek nitrik oksit konsantrasyonu düzeyini korumuştur. Nitrik oksit öncül aminoasidi olan arjininin konsantrasyonundaki sepsis eşliğinde azalma, sentezdeki artışın göstergesi kabul edilmiştir (144). Periferal arterlerde vazomotor tonusun dengeleyicisi nitrik oksit konsantrasyonu eNOS enziminin aktivitesi ile artmış; immün hücre ve hepatositte bulunan sepsis sebebiyle tetiklenen iNOS enziminin aktivitesi ile yüksek konsantrasyonunu korumuştur (4). Splanknik dolaşımda endotel hücrelerinin yüksek kan basıncına yanıtını inceleyen çalışmada superior mezenter arterdeki NOS aktivitesi, diğer mikrodolaşım sistemlerine göre, erken dönemde

artmıştır ve iNOS hakimiyetine geçmiştir (37). Ayrıca, fizyolojik koşulda artan konsantrasyonunu endotel aracılı *negative-feedback* mekanizması ile dengeleyen nitrik oksit, sepsis sürecinde meydana gelen kısmi endotel hasarı sebebiyle baskılanamamış ve patofizyolojik sentezi ile etkisi devam etmiştir (145). Tez çalışmasında hipodinamik fazı yansıtan model ile azalan kan akımı miktarı, vazomotor tonusu düzenleyen madde miktarının dengesini kaybetmesi ve işlevinin körelmesi ile ilişkilendirilmiştir. Nitrik oksitin plazma konsantrasyonunun incelenmesi ile hipodinamik evre hipotezinin desteklenebileceği düşünülmüştür.

## **5.2. LPS Enjeksiyonu Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun Ortalama Kan Basıncına ve Superior Mezenter Arter Kan Akımına Etkileri**

LPS enjeksiyonu ardından ikinci saatte 3 veya 10 mg/kg agmatin enjeksiyonu uygulanan grubun ortalama kan basıncı sırasıyla  $81,66 \pm 6,27$  ve  $78,17 \pm 5,87$  mmHg ölçülmüştür. Kan basıncı değeri, kontrol grubu ile istatistiksel fark göstermemiştir. Ayrıca LPS grubuna göre istatistiksel fark göstermese bile artmıştır. Literatür, ortalama kan basıncına agmatinin etkisini farklı enjeksiyon modelleri ile özetlemiştir. Agmatin, sistemik intravenöz enjeksiyon aracılığıyla ortalama kan basıncını doz bağımlı düşürmüştür; tepe etkisini 30 saniyede göstermiştir ve hipotansif etkisi 250 saniye sonra sona ermiştir (146, 147). İntravenöz agmatin enjeksiyonunu tercih eden başka çalışmada ise, hemorajik şok modeli oluşturulan sıçanın ortalama kan basıncının arttığı gösterilmiştir (148). Sepsis modelinde, agmatin i.p. enjeksiyon aracılığıyla ortalama kan basıncını artırmış; etkisi altı saatlik süre boyunca devam etmiştir (149). Özetle, agmatinin uygulama yöntemine göre ortalama kan basıncına etkisi değişiklik göstermiştir. Tez çalışmasında, i.p. enjeksiyonu uygulanan agmatinin kan basıncını düzenleyen merkezi sistemlere etki edebileceği düşünülmüştür. Arteriyel basınç ve sempatik sinir aktivitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma, sıçana uygulanan intravenöz SNP ile ortalama kan basıncı azaldıkça sempatik sinirin ateşleme oranının arttığını; kan basıncındaki geçici artış ile ateşleme oranının azaldığını göstermiştir. İntrasisternal agmatin enjeksiyonu ardından ise, kan basıncının ve sempatik sinir aktivitesinin agmatin dozuna bağımlı arttığı; sempatik sinir aktivitesinde, ortalama kan

basıncındaki değişiklik ile ilişkili hassasiyetin azaldığı gözlemlenmiştir. Baroreseptör uyarı aracılı depresör veya presör yanıtı düzenleyen RVLM uygulanan agmatin enjeksiyonu ortalama kan basıncını ve sinir aktivitesini etkilememiştir. Bolus intravenöz agmatin enjeksiyonu ise ortalama kan basıncını doz bağımlı azaltmış; etki beş dakika içinde sonlanmıştır. İntravenöz etkinin, postgangliyonik sempatik sinir aktivitesinin agmatin aracılı baskılanmasına bağılı olduğu gösterilmiştir (92). Özetle, agmatinin kan basıncını arttıran etkisinin santral sisteminde basıncı düzenleyen merkezler aracılı olduğu; doğrudan vazomotor nöronlar üzerinden olmadığı düşünülmüştür. Benzer şekilde sepsis modeli LPS enjeksiyonu ile oluşturulan sıçan grubunda agmatinin sistemik i.p. enjeksiyon ardından kan basıncına etkisini inceleyen çalışma, ortalama kan basıncının arttığını göstermiştir (149). Bahsedilen çalışma, nitrik oksit sentezinin LPS enjeksiyonu ardından dördüncü saatte eNOS hakimiyetinde olduğunu ancak iNOS hakimiyetine geçişin 4.-6. saat aralığına rastladığını tartışmıştır (150). Agmatin etkisinin dördüncü saatine ait ortalama kan basıncı değerinin septik gruba göre değişmemesi fakat sekizinci saatinde değerin artışı, iNOS inhibisyonunun agmatin etkisinde ana yolak olduğunu düşündürmüştür. Tez çalışmasında LPS-agmatin grubunun ortalama kan basıncının artması fakat istatistiksel fark göstermemesi, LPS enjeksiyonu ardından dördüncü saatte ölçümün yapılmasıyla ilişkilendirilmiştir.

Sistemik enjeksiyon yöntemiyle uygulanan agmatinin etkileri, kan beyin bariyerini geçebilme özelliği ile açıklanabilmiştir. Arteriyel basınç ve sinir aktivitesini agmatin eşliğinde inceleyen çalışmada, intravenöz enjeksiyondan bir saat sonra agmatinin kan basıncı arttırıcı etkisinin gözlemlenmemesi “intakt kan beyin bariyerini geçemediği” hipotezini oluşturmuştur (92). Ancak agmatin ve kompartman dağılımını inceleyen çalışmada ise, periferal i.p. enjeksiyon ardından farenin homojenize beyin dokusunda agmatin ölçümü gerçekleştirilmiş; birinci saatte ölçülen konsantrasyonun, kontrol ölçümüne ve üçüncü saat konsantrasyonuna göre, yüksek olması sonucu agmatinin kan beyin bariyerini geçebildiği ve santral kompartmanda metabolize olabildiği gösterilmiştir (84). Bahsedilen çalışmada farenin beyin homojenatındaki agmatin konsantrasyonu, periferal enjeksiyonun dozuna (10-50-300-600 mg/kg, i.p.) bağımlı artmıştır. Periferal i.p. enjeksiyonun inflamatuvar sıçan modellerindeki etkili

dozu ise, fareye uygulanan doza göre daha düşüktür (110, 151, 152). Tez çalışmasında etkisi araştırılan agmatinin tercih edilen dozlarının kan beyin bariyerini aştığı düşünülmüştür. Sepsis sürecinde, endotel hasarına benzer şekilde, kan beyin bariyeri hasarlanmıştır (153). İntraperitoneal agmatin enjeksiyonunun kan beyin bariyeri hasarına etkisini inceleyen çalışmada, membran stabilizatör etki histopatolojik ve MR görüntüleme teknikleri ile gösterilmiştir (98, 154).

### **5.3. LPS Enjeksiyonunun Superior Mezenter Arterde Norepinefrin Yanıtına Etkileri**

Tez çalışmasının kontrol grubunda norepinefrin 10-30 µg/kg ile bazale göre kan akımında azalma saptanmış; LPS enjeksiyonu, superior mezenter arterin norepinefrine yanıtını baskılamıştır. LPS+agmatin-3 ve LPS+agmatin-10 gruplarında ise norepinefrinin 1-3-10-30 µg/kg dozuna yanıt gösterilmiştir. Metabolik ihtiyaca ve arteriyel oksijen içeriğine göre homeostatik mekanizmalar aracılığıyla bölgesel denetlenebilen kan akımı miktarının veya hızının sepsis sürecinin hipodinamik evresinde azalması, direnç artışına sebep olmaktadır.

İntravenöz kümülatif vazoaaktif müdahale eşliğinde incelenen superior mezenter artere ait akım hızının norepinefrin dozuna bağımlı azalışı, LPS enjeksiyonu uygulanan grupta kaybolmuştur; fakat kontrol grubu ile istatistiksel fark göstermemiştir. Vasküler yanıtı sıçan sepsis modelinde vazoaaktif tedaviler eşliğinde inceleyen çalışma, superior mezenter arter yanıtının kontrol grubuna göre fenilefrin eşliğinde arttığı; norepinefrin eşliğinde ise değişmediğini göstermiştir (155). Bulgu, tez çalışmasını desteklemiştir. Benzer protokolü uygulayan başka çalışma ise yüksek doz norepinefrinin infüzyon uygulaması eşliğinde kontrol grubuna göre anlamlı farkı ifade etmiştir (156). Norepinefrin dozunun yükseltilmesi, uygulama yönteminin değiştirilmesi veya fenilefrin gibi vasküler afinitesi yüksek vazoaaktif tedavinin tercihi ile vasküler yanıtızlığın açıkça gösterileceği düşünülmüştür (157). Tez çalışmasında doz bağımlı yanıtın LPS grubunda görülmemesi, norepinefrin etkisine yanıtızlığın dolaylı göstergesi kabul edilmiştir.

#### **5.4. LPS Enjeksiyonu Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun Superior Mezenter Arterde Norepinefrin Yanıtına Etkileri**

Agmatin tedavisi ile, LPS sebebiyle baskılanan norepinefrin dozuna bağımlı yanıt geri kazanılmıştır; fakat gruplar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Vasküler yanıt sıçan sepsis modelinde vazoaktif tedaviler eşliğinde inceleyen çalışma, superior mezenter arter yanıtının kontrol grubuna göre fenilefrin eşliğinde arttığı; norepinefrin eşliğinde ise değişmediğini göstermiştir (155). Fenilefrin eşliğinde yanıtların net şekilde incelenebileceği düşünülmüştür.

#### **5.5. LPS Enjeksiyonunun Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarında Fenilefrin, Asetilkolin, SNP Yanıtına Etkileri**

Tez çalışmasında, fizyolojik organ banyosu çalışması için hazırlanan abdominal aorta ve torasik aorta preparatının kasılma yanıtı kümülatif fenilefrin uygulaması eşliğinde doz bağımlı artmıştır. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyon uygulanan iki preparat arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Fenilefrin, vasküler düz kasta bulunan  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptöre seçici etkileşimi ile kasılmaya sebep olmaktadır. Aortun olası segmental farklılığını  $\alpha$ -adrenerjik reseptör aracılığıyla inceleyen çalışma, iki preparatın fenilefrin eşliğindeki kasılma yanıtının aynı reseptör alt tipi etkileşimi sonucu açığa çıktığını göstermiştir (158). Bulgu, iki preparatın kasılma yanıtındaki benzerliği desteklemektedir.

LPS enjeksiyonu uygulanan sıçanın, fenilefrin eşliğinde abdominal aorta ve torasik aorta kasılma yanıtı azalmıştır; doz bağımlı yanıt kaybolmuştur. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyonu sağlanan iki preparat arasında, LPS enjeksiyonu ile ilişkilendirilmiş fark gözlemlenmemiştir. Hipodinamik fazı CLP modelinde inceleyen çalışma, fenilefrinin kümülatif enjeksiyonunun ortalama kan basıncını artırmadığını;  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonistine vasküler yanıtızsızlığı göstermiştir (6). Bahsedilen çalışma, fenilefrin etkisindeki körelmeyi sepsisin hipodinamik fazında artan NO-sGC yükü ile ilişkilendirmiştir; hipotansiyon gözlemlenen geç dönemde, sGC baskılanması ortalama kan basıncı değerini fenilefrin eşliğinde artırmıştır. Tez çalışmasında,

hipodinamik fazı yansıtmak amacıyla LPS enjeksiyonu uygulanan grupta azalan fenilefrin aracılı kasılma yanıtı, artmış nitrik oksit yükü ile ilişkilendirilebilir.

Tez çalışmasında, fizyolojik organ banyosu çalışması için hazırlanan abdominal aorta ve torasik aorta preparatının gevşeme yanıtı kümülatif ACh uygulaması eşliğinde doz bağımlı artmıştır. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyon uygulanan iki preparat arasında anlamlı fark bulunmamıştır. ACh, endotel hücrelerinde bulunan eNOS aktivitesini tetikleyerek gevşemeye sebep olmaktadır. Aortun olası segmental farklılığını endotel işlevi aracılığıyla inceleyen çalışma, iki intakt preparatın ACh eşliğindeki gevşeme yanıtında istatistiksel fark göstermemiştir (159). Veri, tez çalışmasını desteklemektedir.

LPS enjeksiyonu uygulanan sıçanın, ACh eşliğinde abdominal aorta ve torasik aorta kasılma yanıtı azalmıştır; doz bağımlı yanıt kaybolmuştur. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyonu sağlanan iki preparat arasında, LPS enjeksiyonu ile ilişkilendirilmiş fark gözlemlenmemiştir. Sepsis sürecinin vasküler yanıt takibi ile incelendiği çalışmada, süreç içinde endotel ile ilişkili gevşeme yanıtlarının baskılandığı gösterilmiştir (160). Sepsis sürecinde tetiklenen ve bölgesel eNOS etkisini baskılayan, endotel, vasküler düz kas, bağışıklık sistemi hücrelerinden sentezlenen iNOS vasküler etkiden ziyade sitotoksik veya sistemik etki göstermektedir; hasar sebebiyle vasküler yapının gevşeme yanıtı alınamamaktadır (161). Bahsedilen çalışmada ve tez çalışmasında elde edilen veriler, bu mekanizma ile ilişkilendirilmiştir.

Tez çalışmasında, fizyolojik organ banyosu çalışması için hazırlanan abdominal aorta ve torasik aorta preparatının vasküler düz kasının gevşeme yanıtı kümülatif SNP uygulaması eşliğinde doz bağımlı artmıştır. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyon uygulanan iki preparat arasında anlamlı fark bulunmamıştır. SNP, vasküler düz kasta NO donörü olması sebebiyle gevşemeye sebep olmaktadır. Aortun olası segmental farklılığını gevşeme yanıtları aracılığıyla inceleyen çalışma, iki preparatın SNP eşliğindeki gevşeme yanıtını eş bulmuştur (162). Bulgu, tez verisini desteklemiştir.

LPS enjeksiyonu uygulanan sıçanın, SNP eşliğinde abdominal aorta ve torasik aorta gevşeme yanıtı azalmıştır; doz bağımlı yanıt kaybolmuştur. Fakat abdominal



aorta preparatında kontrol grubu ile istatistiksel fark hesaplanmamış; torasik aorta preparatında hesaplanmıştır. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyonu sağlanan iki preparat arasında, LPS enjeksiyonu ile ilişkilendirilmiş fark gözlemlenmemiştir. SNP etkisi ve sitokinler arasındaki ilişkiyi LPS stimülasyonu ardından inceleyen *in vitro* çalışmada, SNP'nin sGC aracılığıyla NO konsantrasyonunu artırdığı; fakat LPS veya IL-1 $\beta$  inkübasyonunda artışın baskılandığı gösterilmiştir (163). Tez çalışmasında SNP yanıtının kontrol ve LPS gruplarına ait torasik aorta preparatında fark göstermesi, bu mekanizma ile ilişkilendirilmiştir. Aortun olası segmental farkını inceleyen çalışmada, abdominal aorta preparatının NO aracılı mekanizma dışında gevşeme yanıtı oluşturabileceği tartışılmıştır (162). Vasküler örnekler incelendiğinde, damarın yarıçapı azaldıkça hiperpolarizasyona yol açan mekanizmaların, prostasiklinin vazodilatasyon işlevinde yer aldığı; sepsis sürecinde ise körelen NO aracılı mekanizmanın yerini aldıkları gösterilmiştir (164, 165). Tez çalışmasında SNP yanıtının kontrol ve LPS gruplarına ait abdominal aorta preparatında fark göstermemesi, ek mekanizmaların etkisi ile açıklanmıştır.

#### **5.6. LPS Enjeksiyonu Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun Abdominal Aorta ve Torasik Aorta Preparatlarında Fenilefrin, Asetilkolin, SNP Yanıtına Etkileri**

LPS enjeksiyonu uygulanan sıçanın fenilefrin eşliğinde baskılanmış kasılma yanıtı, agmatin enjeksiyonu ardından abdominal aorta preparatında artmış; torasik aorta preparatında değişmemiştir. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyonu sağlanan abdominal preparatların agmatin-3 ve agmatin-10 grupları arasında fark gözlemlenmemiştir. Benzer şekilde, torasik preparatların agmatin-3 ve agmatin-10 grupları arasında fark gözlemlenmemiştir.

Aortun olası segmental farkını ve reseptör dağılımını inceleyen çalışma, endoteli intakt abdominal ve torasik preparatların kasılma yanıtının  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör aracılı olduğunu göstermiştir (158). Kümülatif fenilefrin dozu ve yanıt eğrisini çeşitli antagonistlerin inkübasyonu eşliğinde tekrarlayan çalışma, endoteli sıyrılmış abdominal preparatta kasılma yanıtının azaldığını; torasik preparatta ise yanıtın

değişmediğini göstermiştir. Sonuçta,  $\alpha_1$ -adrenerjik mekanizmaya ek yolların abdominal aorta kasılmasında etkili olabileceği düşünülmüştür.

Fenilefrin aracılı ön kasılmanın gücünü azaltan fakat endotelin veya prostoglandin aracılı kasılmanın gücünü artırabilen kümülatif idazoksan uygulaması, aort preparatının kasılma gücünü kalsiyum içermeyen ortamda; L-tipi  $Ca^{++}$  kanalı inhibitörü tetraetilamoniyum inkübasyonu eşliğinde değiştirmemiştir (166).  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör ve imidazolin ligandlarının kalsiyum aracılığıyla kasılma gücüne etki ettiği düşünülmüştür İmidazolin reseptör ligandlarının, L-tipi  $Ca^{++}$  kanalı ilişkili adrenerjik dışı mekanizma ile sıçan aort preparatının kasılma gücünü artırdığı gösterilmiştir (167, 168). Bu tez çalışmasında, abdominal aorta preparatına ait LPS enjeksiyonu sebebiyle bozulmuş kasılma yanıtının artışı bahsedilen  $Ca^{++}$  aracılı mekanizma ile ilişkilendirilebilir.

$\alpha_2$ -adrenerjik reseptör ve imidazolin ligandlarının ön kasılmaya sebep olan farklı  $\alpha_1$ - adrenerjik reseptör agonisti ve molekülleri eşliğinde inceleyen çalışmada, fenilefrine maruz bırakılmış intakt veya endoteli sıyrılmış torasik aorta preparatının kümülatif agonist klonidin ve antagonist idazoksan uygulaması ile gevşediği gösterilmiştir (169). Benzer şekilde fenilefrine maruz bırakılmış abdominal aorta uzantısı superior mezenter arterin intakt preparatı, NOS inhibitörü ( $N^{\omega}$ -nitro-L-arjinin, L-NA) ve siklooksijenaz inhibitörü (diklofenak) inkübasyonu ardından kümülatif klonidin ve idazoksan uygulaması ile gevşemiştir.  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör ilişkili gevşemenin NO veya prostaglandin ile ilişkili olmadığı düşünülmüştür. Protokol farklı ön kasıcılar eşliğinde tekrarlanmıştır. Prostaglandin- $F_{2\alpha}$  ve endoteline maruz bırakılmış abdominal aorta uzantısı superior mezenter arterin intakt preparatı, kümülatif agonist klonidin ve antagonist idazoksan uygulaması ile kasılma miktarını artırmıştır. Sepsis sürecinde endotelinin ve prostaglandinlerin miktarını artırdığı; fakat süreç içinde yerini iNOS aktivitesi ile sentezlenen NO bıraktığı düşünülürse,  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörde antagonist etki gösterebilen agmatin eşliğinde endotelin veya prostaglandine maruz kalabilmiş abdominal aorta ait kasılma yanıtının desteklendiği düşünülmüştür (170). Agmatinin  $\alpha$ -adrenerjik reseptör etkileşimi ile agonist benzeri etki gösterebildiği tartışılmıştır. Sıçan hemorajik şok modelinde, salin enjeksiyonu

ardından destek tedavi amacıyla uygulanan ve hemodinamik homeostazı sağlayan agmatin etkisinin  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptör antagonisti yohimbin eşliğinde kaybolduğu düşünülmüş; fakat veri kendi kontrolüyle karşılaştırılmamıştır (148). Atriyum, aort ve superior mezenter arter preparatlarında çeşitli imidazolin reseptörü antagonistlerinin parsiyel  $\alpha_1$ -adrenerjik reseptör agonisti olduğu gösterilmiştir (171). Parsiyel agonist etkisiyle abdominal aorta ait kasılma yanıtının desteklendiği düşünülmüştür.

LPS enjeksiyonu uygulanan sıçanın ACh eşliğinde baskılanmış gevşeme yanıtı, agmatin enjeksiyonu ardından abdominal aorta preparatında artmış; torasik aorta preparatında değişmemiştir. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyonu sağlanan abdominal preparatların agmatin-3 ve agmatin-10 grupları arasında fark gözlemlenmemiştir. Benzer şekilde, torasik preparatların agmatin-3 ve agmatin-10 grupları arasında fark gözlemlenmemiştir.

LPS ile indüklenen sepsis modelinde agmatin aracılığıyla nitrik oksit sentazın baskılanması, asetilkolin dozuna bağımlı yanıtın abdominal aortta gözlemlenmesinde olası mekanizma olarak değerlendirilmiştir (172). Sepsis modelini kullanılan çalışmada, aort preparatının bozulan asetilkolin gevşeme yanıtı agmatin ön tedavisi ile düzelmiştir. Aynı çalışmada agmatinin asetilkolin aracılı gevşeme yanıtı düzelirken SNP ile indüklenen vasküler düz kas aracılı gevşeme yanıtı ise düzelmemiştir. Bahsi geçen bulgular, bu tez çalışmasının verileri ile tutarlıdır. NO, vasküler homeostazını sağlamada görev alır. Sepsiste iNOS'un aktive olmasıyla artan NO vasküler yanıtın bozulmasına neden olur. Agmatin, iNOS bloke edici etkisiyle sepsisle artan NO miktarının önüne geçip gevşeme yanıtının düzelmesine yardımcı olmuş olabilir.

LPS enjeksiyonu uygulanan sıçanın SNP eşliğinde baskılanmış gevşeme yanıtı, agmatin enjeksiyonu ardından abdominal aorta ve torasik aorta preparatında değişmemiştir. Yaş doku ağırlığına oranlanarak normalizasyonu sağlanan abdominal preparatların agmatin-3 ve agmatin-10 grupları arasında fark gözlemlenmemiştir. Benzer şekilde, torasik preparatların agmatin-3 ve agmatin-10 grupları arasında fark gözlemlenmemiştir. Agmatin enjeksiyonu uygulanan grupların LPS sebebiyle bozulmuş ACh yanıtını düzenlemesi fakat SNP yanıtını etkilememesi, endotelde ve vasküler düz kasta agmatinin etkileşebileceği reseptör dağılımının olası farklılığını

gündeme getirmiştir. Sıçan aort preparatında imidazolin reseptörünün dağılımını inceleyen çalışma, vasküler düz kas ve endotel hücrelerinin agmatine yüksek afinite gösteren imidazolin I<sub>2</sub> reseptör alt tipine sahip olduğunu göstermiştir (100).

### **5.7. LPS Ardından Uygulanan Agmatin Enjeksiyonunun TNF- $\alpha$ ve IL-1 $\beta$ Konsantrasyonuna Etkileri**

Tez çalışmasında LPS enjeksiyonu uygulanan gruplara ait sıçanların serum TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonları artmıştır; konsantrasyonu azaltmada agmatin etkili olmamıştır. İnflamasyonun akut faz reaktanı olan TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  konsantrasyonunu değerlendiren çalışma, altıncı saatte yapılan ölçümlerde konsantrasyonun agmatin enjeksiyonu sebebiyle azaldığını göstermiştir (173). LPS enjeksiyonu ile tetiklenen hipertermi modelinde, agmatin enjeksiyonunun (20, 40, 80 mg/kg, i.p.) sıçanın yükselmiş vücut sıcaklığını doz bağımlı düşürdüğü gösterilmiştir (110). Tez çalışmasında, düşük agmatin dozu sebebiyle sitokin konsantrasyonunun değişmediği düşünülmüştür.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmasının sonuçları ve önerileri aşağıda yer almaktadır.

I. İntraperitoneal enjeksiyon yöntemi ile sıçana uygulanan LPS'in 4 mg/kg dozu, ortalama kan basıncını düşürmektedir. Uygulama dozu, kardiyovasküler parametreler dahilinde sepsisin hipodinamik evresini yansıtmaktadır. Serum kortikosteron (sıçanda kortizolün karşılığı) konsantrasyonu, noradrenalin konsantrasyonu ölçülerek hipodinamik evrenin; elektrofizyolojik veya santral basınç kaydı yöntemiyle homeostatik mekanizmaların bu evredeki yetersizliği desteklenebilir. Ayrıca sepsis sürecinde inflamatuvar yanıtı ve hasarı yüksek dalak ve karaciğer dokuları histopatolojik inceleme ile değerlendirilebilir; sepsis modelinin tutarlılığı desteklenebilir.

II. LPS, dakikadaki kalp atım sayısını artırmakta fakat istatistiksel fark yaratmamaktadır. Elektrokardiyografi yöntemi ile ölçüm yapılabilir.

III. LPS, dakikadaki superior mezenter arter kan akımı hızını azaltmaktadır. Azalan miktar, 3 mg/kg agmatin dozu ile fizyolojik seviyeye çekilmekte, istatistiksel fark göstermektedir. 10 mg/kg agmatin dozu ile kan akımı hızı değişmekte fakat LPS grubuna göre istatistiksel fark göstermemektedir. Bahsedilen dozun etkisizliğini veya yüksek dozun etkisini inceleyen çalışma planlanarak agmatinin doza bağımlı etkileri araştırılabilir.

IV. LPS, superior mezenter arterin norepinefrine doz bağımlı yanıtını bozmaktadır; fakat istatistiksel fark göstermemektedir. Yanıtlar, vasküler dokuya afinitesi yüksek fenilefrin eşliğinde değerlendirilebilir.

V. Bozulan superior mezenter arterin norepinefrine yanıtı, i.p. enjeksiyon yöntemi ile sıçana uygulanan 3 mg/kg ve 10 mg/kg agmatin dozu ile geri kazanılmaktadır; fakat istatistiksel fark göstermemektedir. Saf vasküler etkisini ve doz bağımlı etkisini incelemek adına, agmatin intravenöz enjeksiyon yöntemi ile uygulanabilir. Tek seferlik intravenöz enjeksiyon akut etkiyi yansıttığından devamlı infüzyon ile agmatinin dirence etkisi incelenebilir.

VI. LPS, abdominal aorta ve torasik aorta preparatlarının fenilefrine doz bağımlı yanıtını bozmaktadır. Abdominal aorta preparatının bozulan yanıtı, 3 mg/kg

ve 10 agmatin dozu ile geri kazanılmaktadır; fakat torasik aorta preparatında değişmemektedir.

VII. LPS, abdominal aorta ve torasik aorta preparatlarının asetilkoline doz bağımlı yanıtını bozmaktadır. Abdominal aorta preparatının bozulan yanıtı, 3 ve 10 mg/kg agmatin dozu ile geri kazanılmaktadır; fakat torasik aorta preparatında aynı kalmaktadır.

VIII. LPS, abdominal aorta preparatının SNP doz bağımlı yanıtını değiştirmemekte; torasik aorta preparatının SNP doz bağımlı yanıtını bozmaktadır. Torasik aorta preparatının bozulan yanıtı, i.p. enjeksiyon yöntemi ile sıçana uygulanan 3 ve 10 mg/kg agmatin dozu ile değişmemektedir. Agmatinin çeşitli arter veya ven preparatlarına ilgisini inceleyen çalışmalar planlanabilir. Olası reseptör etkileşimleri, etkileştiği reseptörlerin dağılımı ve fonksiyonel etkileri antagonistler eşliğindeki fizyolojik organ banyosu çalışmaları, immünohistokimyasal veya moleküler çalışmalar ile değerlendirilebilir.

IX. LPS, serum TNF- $\alpha$  ve IL1- $\beta$  konsantrasyonunu artırmaktadır. Hiperinflamatuvar yanıttan immün baskılanmış döneme geçişi yansıtmadına IL-6 konsantrasyonu ölçülebilir. Sitokin dışında inflamatuvar durumu ve hasarı yansıtan TOS, TAS, NADPH, NO veya NOS aktivitesi vb. ölçümü gerçekleştirilebilir.

X. LPS ile artan serum TNF- $\alpha$  ve IL1- $\beta$  konsantrasyonu, 3 mg/kg ve 10 mg/kg agmatin dozu ile değişmemektedir. Agmatinin hemodinamik homeostaza moleküler düzeydeki katkısı, NO veya NOS alt tipinin aktivite ölçümü ile değerlendirilebilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016;315(8):801-10.
2. Rimmelé T, Payen D, Cantaluppi V, Marshall J, Gomez H, Gomez A, et al. IMMUNE CELL PHENOTYPE AND FUNCTION IN SEPSIS. *Shock* (Augusta, Ga). 2016;45(3):282-91.
3. Zheng X, Chen W, Gong F, Chen Y, Chen E. The Role and Mechanism of Pyroptosis and Potential Therapeutic Targets in Sepsis: A Review. *Frontiers in immunology*. 2021;12:711939-.
4. Landry DW, Oliver JA. The pathogenesis of vasodilatory shock. *New England Journal of Medicine*. 2001;345(8):588-95.
5. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *New England Journal of Medicine*. 1993;328(20):1471-7.
6. Fernandes D, Sordi R, Pacheco LK, Nardi GM, Heckert BT, Villela CG, et al. Late, but not early, inhibition of soluble guanylate cyclase decreases mortality in a rat sepsis model. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2009;328(3):991-9.
7. Hsu W-T, Galm BP, Schrank G, Hsu T-C, Lee S-H, Park JY, et al. Effect of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors on short-term mortality after sepsis: a population-based cohort study. *Hypertension*. 2020;75(2):483-91.
8. Mortensen EM, Restrepo MI, Copeland LA, Pugh JA, Anzueto A, Cornell JE, et al. Impact of previous statin and angiotensin II receptor blocker use on mortality in patients hospitalized with sepsis. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2007;27(12):1619-26.
9. Sharawy N. Vasoplegia in septic shock: do we really fight the right enemy? *Journal of critical care*. 2014;29(1):83-7.
10. Russell JA, Walley KR, Singer J, Gordon AC, Hébert PC, Cooper DJ, et al. Vasopressin versus norepinephrine infusion in patients with septic shock. *New England Journal of Medicine*. 2008;358(9):877-87.
11. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *Jama*. 2016;315(8):801-10.
12. Bangash MN, Kong ML, Pearse RM. Use of inotropes and vasopressor agents in critically ill patients. *British journal of pharmacology*. 2012;165(7):2015-33.
13. Hartmann C, Radermacher P, Wepler M, Nußbaum B. Non-hemodynamic effects of catecholamines. *Shock: Injury, Inflammation, and Sepsis: Laboratory and Clinical Approaches*. 2017;48(4):390-400.
14. Levy B, Bollaert P-E, Charpentier C, Nace L, Audibert G, Bauer P, et al. Comparison of norepinephrine and dobutamine to epinephrine for hemodynamics, lactate metabolism, and gastric tonometric variables in septic shock: a prospective, randomized study. *Intensive care medicine*. 1997;23(3):282-7.
15. Beurton A, Ducrocq N, Auchet T, Joineau-Groubatch F, Falanga A, Kimmoun A, et al. Beneficial effects of norepinephrine alone on cardiovascular function and tissue oxygenation in a pig model of cardiogenic shock. *Shock*. 2016;46(2):214-8.
16. De Backer D, Biston P, Devriendt J, Madl C, Chochrad D, Aldecoa C, et al. Comparison of dopamine and norepinephrine in the treatment of shock. *New England Journal of Medicine*. 2010;362(9):779-89.
17. Rizvić E, Janković G, Kostić-Rajačić S, Savić MM. Atypical sympathomimetic drug lerimazoline mediates contractile effects in rat aorta predominantly by 5-HT<sub>2A</sub> receptors. *Bosn J Basic Med Sci*. 2017;17(3):194-202.

18. Nakamura A, Kawahito S, Kawano T, Nazari H, Takahashi A, Kitahata H, et al. Differential effects of etomidate and midazolam on vascular adenosine triphosphate-sensitive potassium channels: isometric tension and patch clamp studies. *Anesthesiology*. 2007;106(3):515-22.
19. Seemann S, Zohles F, Lupp A. Comprehensive comparison of three different animal models for systemic inflammation. *J Biomed Sci*. 2017;24(1):60-.
20. van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, Netea MG. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets. *Nature Reviews Immunology*. 2017;17(7):407-20.
21. Kumar S, Ingle H, Prasad DV, Kumar H. Recognition of bacterial infection by innate immune sensors. *Crit Rev Microbiol*. 2013;39(3):229-46.
22. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2003;101(10):3765-77.
23. Wallace JL. Nitric oxide as a regulator of inflammatory processes. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2005;100:5-9.
24. Cronkite DA, Strutt TM. The Regulation of Inflammation by Innate and Adaptive Lymphocytes. *J Immunol Res*. 2018;2018:1467538.
25. Deutschman Clifford S, Tracey Kevin J. Sepsis: Current Dogma and New Perspectives. *Immunity*. 2014;40(4):463-75.
26. Cron RQ, Goyal G, Chatham WW. Cytokine storm syndrome. *Annual Review of Medicine*. 2023;74:321-37.
27. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303(5663):1532-5.
28. Evavold CL, Ruan J, Tan Y, Xia S, Wu H, Kagan JC. The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity*. 2018;48(1):35-44.
29. Wu C, Lu W, Zhang Y, Zhang G, Shi X, Hisada Y, et al. Inflammasome Activation Triggers Blood Clotting and Host Death through Pyroptosis. *Immunity*. 2019;50(6):1401-11.e4.
30. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*. 2013;13(12):862-74.
31. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol*. 2011;12(6):492-9.
32. ANDRESEN MC, DOYLE MW, JIN Y-H, BAILEY TW. Cellular Mechanisms of Baroreceptor Integration at the Nucleus Tractus Solitarius. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;940(1):132-41.
33. JE H. Guyton and hall textbook of medical physiology thirteenth edition. Elsevier: Saunders; 2011.
34. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve—an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacological reviews*. 2000;52(4):595-638.
35. Van den Berghe G, Téblick A, Langouche L, Gunst J. The hypothalamus-pituitary-adrenal axis in sepsis-and hyperinflammation-induced critical illness: Gaps in current knowledge and future translational research directions. *EBioMedicine*. 2022;84.
36. Harrison-Bernard LM. The renal renin-angiotensin system. *Adv Physiol Educ*. 2009;33(4):270-4.
37. Wiest R. Splanchnic and Systemic Vasodilation: The Experimental Models. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2007;41:S272-S87.
38. Vasudevan NT, Mohan ML, Goswami SK, Prasad SVN. Regulation of  $\beta$ -adrenergic receptor function: an emphasis on receptor resensitization. *Cell cycle*. 2011;10(21):3684-91.
39. Rockman HA, Koch WJ, Lefkowitz RJ. Seven-transmembrane-spanning receptors and heart function. *Nature*. 2002;415(6868):206-12.



40. Schmidt H, Müller-Werdan U, Hoffmann T, Francis DP, Piepoli MF, Rauchhaus M, et al. Autonomic dysfunction predicts mortality in patients with multiple organ dysfunction syndrome of different age groups. *Critical care medicine*. 2005;33(9):1994-2002.
41. Korach M, Sharshar T, Jarrin I, Fouillot J-P, Raphaël J-C, Gajdos P, et al. Cardiac variability in critically ill adults: influence of sepsis. *Critical care medicine*. 2001;29(7):1380-5.
42. Pancoto JAT, Corrêa PBF, Oliveira-Pelegrin GR, Rocha MJA. Autonomic dysfunction in experimental sepsis induced by cecal ligation and puncture. *Autonomic Neuroscience*. 2008;138(1-2):57-63.
43. Shi K-Y, Shen F-M, Liu A-J, Chu Z-X, Cao Y-L, Su D-F. The survival time post-cecal ligation and puncture in sinoaortic denervated rats. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2007;50(2):162-7.
44. Carrara M, Ferrario M, Bollen Pinto B, Herpain A. The autonomic nervous system in septic shock and its role as a future therapeutic target: a narrative review. *Ann Intensive Care*. 2021;11(1):80.
45. Boldt J, Menges T, Kuhn D, Diridis C, Hempelmann G. Alterations in circulating vasoactive substances in the critically ill—a comparison between survivors and non-survivors. *Intensive care medicine*. 1995;21:218-25.
46. Schmittinger CA, Torgersen C, Luckner G, Schröder DC, Lorenz I, Dünser MW. Adverse cardiac events during catecholamine vasopressor therapy: a prospective observational study. *Intensive care medicine*. 2012;38:950-8.
47. Belletti A, Landoni G, Lomivorotov VV, Oriani A, Ajello S. Adrenergic downregulation in critical care: molecular mechanisms and therapeutic evidence. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*. 2020;34(4):1023-41.
48. Bucher M, Kees F, Taeger K, Kurtz A. Cytokines down-regulate  $\alpha$ 1-adrenergic receptor expression during endotoxemia. *Critical Care Medicine*. 2003;31(2):566-71.
49. Dünser MW, Hasibeder WR. Sympathetic overstimulation during critical illness: adverse effects of adrenergic stress. *Journal of intensive care medicine*. 2009;24(5):293-316.
50. Shen F-M, Guan Y-F, Xie H-H, Su D-F. Arterial baroreflex function determines the survival time in lipopolysaccharide-induced shock in rats. *Shock*. 2004;21(6):556-60.
51. Pålsson J, Ricksten S, Lundin S. Changes in central hemodynamics during experimental septic shock in conscious rats. *Circulatory shock*. 1987;22(1):65-72.
52. Annane D, Pastores SM, Arlt W, Balk RA, Beishuizen A, Briegel J, et al. Critical illness-related corticosteroid insufficiency (CIRCI): a narrative review from a Multispecialty Task Force of the Society of Critical Care Medicine (SCCM) and the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Intensive care medicine*. 2017;43:1781-92.
53. Levy B, Fritz C, Tahon E, Jacquot A, Auchet T, Kimmoun A. Vasoplegia treatments: the past, the present, and the future. *Critical care (London, England)*. 2018;22(1):52-.
54. Annane D, Trabold F, Sharshar T, Jarrin I, Blanc AS, Raphael JC, et al. Inappropriate sympathetic activation at onset of septic shock: a spectral analysis approach. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1999;160(2):458-65.
55. Ghosh S, Liu M-S. Changes in  $\alpha$ -adrenergic receptors in dog livers during endotoxic shock. *Journal of Surgical Research*. 1983;34(3):239-45.
56. Schmidt C, Höcherl K, Kurt B, Moritz S, Kurtz A, Bucher M. Blockade of multiple but not single cytokines abrogates downregulation of angiotensin II type-I receptors and anticipates septic shock. *Cytokine*. 2010;49(1):30-8.
57. Spink J, Cohen J, Evans TJ. The cytokine responsive vascular smooth muscle cell enhancer of inducible nitric oxide synthase: activation by nuclear factor- $\kappa$ B. *Journal of biological chemistry*. 1995;270(49):29541-7.

58. Boillot A, Massol J, Maupoil V, Grelier R, Bernard B, Capellier G, et al. Myocardial and vascular adrenergic alterations in a rat model of endotoxin shock: reversal by an anti-tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody. *Critical care medicine*. 1997;25(3):504-11.
59. Deitch EA. Animal models of sepsis and shock: a review and lessons learned. *Shock*. 1998;10(6):442-3.
60. Chen P, Stanojcic M, Jeschke MG. Differences between murine and human sepsis. *Surgical Clinics*. 2014;94(6):1135-49.
61. de Stoppelaar SF, van't Veer C, Claushuis TA, Albersen BJ, Roelofs JJ, van der Poll T. Thrombocytopenia impairs host defense in gram-negative pneumonia-derived sepsis in mice. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;124(25):3781-90.
62. Mathiak G, Szewczyk D, Abdullah F, Ovadia P, Feuerstein G, Rabinovici R. An improved clinically relevant sepsis model in the conscious rat. *Critical care medicine*. 2000;28(6):1947-52.
63. Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, Sannomiya P. Experimental models of sepsis and their clinical relevance. *Shock*. 2008;30(7):53-9.
64. Traber D, Flynn J, Herndon D, Redl H, Schlag G, Traber L. Comparison of the cardiopulmonary responses to single bolus and continuous infusion of endotoxin in an ovine model. *Circulatory shock*. 1989;27(2):123-38.
65. Pieterse E, Rother N, Yanginlar C, Hilbrands LB, van der Vlag J. Neutrophils Discriminate between Lipopolysaccharides of Different Bacterial Sources and Selectively Release Neutrophil Extracellular Traps. *Front Immunol*. 2016;7:484.
66. Rutledge HR, Jiang W, Yang J, Warg LA, Schwartz DA, Pisetsky DS, et al. Gene expression profiles of RAW264.7 macrophages stimulated with preparations of LPS differing in isolation and purity. *Innate Immun*. 2012;18(1):80-8.
67. Martínez-Sernández V, Orbegozo-Medina RA, Romarís F, Paniagua E, Ubeira FM. Usefulness of ELISA Methods for Assessing LPS Interactions with Proteins and Peptides. *PLoS One*. 2016;11(6):e0156530.
68. Akarsu ES, Mamuk S. Escherichia coli lipopolysaccharides produce serotype-specific hypothermic response in biotelemetered rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2007;292(5):R1846-R50.
69. Watanabe K, Jaffe EA. Comparison of the potency of various serotypes of E. coli lipopolysaccharides in stimulating PGI<sub>2</sub> production and suppressing ACE activity in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1993;49(6):955-8.
70. Zhang S, Zhang S, Rahman M, Herwald H, Thorlacius H. Streptococcal M1 protein-induced lung injury is independent of platelets in mice. *Shock*. 2011;35(1):86-91.
71. Rao TS, Currie JL, Shaffer AF, Isakson PC. In vivo characterization of zymosan-induced mouse peritoneal inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1994;269(3):917-25.
72. DeJager L, Pinheiro I, Dejonckheere E, Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends in microbiology*. 2011;19(4):198-208.
73. Dyson A, Rudiger A, Singer M. Temporal changes in tissue cardiorespiratory function during faecal peritonitis. *Intensive care medicine*. 2011;37:1192-200.
74. Ullah K, Li Y, Lin Q, Pan K, Nguyen T, Aniruddhsingh S, et al. Comparative Analysis of Whole Transcriptome Profiles in Septic Cardiomyopathy: Insights from CLP- and LPS-Induced Mouse Models. *Genes (Basel)*. 2023;14(7).
75. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013;41(2):580-637.

76. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *New England journal of medicine*. 2001;345(19):1368-77.
77. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*. 2020;395(10219):200-11.
78. Varpula M, Tallgren M, Saukkonen K, Voipio-Pulkki L-M, Pettilä V. Hemodynamic variables related to outcome in septic shock. *Intensive care medicine*. 2005;31(8):1066-71.
79. Lamia B, Chemla D, Richard C, Teboul J-L. Clinical review: interpretation of arterial pressure wave in shock states. *Critical Care*. 2005;9(6):1-6.
80. Kimmoun A, Ducrocq N, Levy B. Mechanisms of vascular hyporesponsiveness in septic shock. *Current vascular pharmacology*. 2013;11(2):139-49.
81. Stolk RF, van der Pasch E, Naumann F, Schouwstra J, Bressers S, van Herwaarden AE, et al. Norepinephrine dysregulates the immune response and compromises host defense during sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020;202(6):830-42.
82. Reis DJ, Regunathan S. Is agmatine a novel neurotransmitter in brain? *Trends Pharmacol Sci*. 2000;21(5):187-93.
83. Raasch W, Regunathan S, Li G, Reis DJ. Agmatine is widely and unequally distributed in rat organs. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;763:330-4.
84. PILETZ JE, MAY PJ, WANG G, ZHU H. Agmatine Crosses the Blood-Brain Barrier. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2003;1009(1):64-74.
85. Winter TN, Elmquist WF, Fairbanks CA. OCT2 and MATE1 provide bidirectional agmatine transport. *Mol Pharm*. 2011;8(1):133-42.
86. Clements BM, Peterson CD, Kitto KF, Caye LD, Wilcox GL, Fairbanks CA. **Biodistribution of Agmatine to Brain and Spinal Cord Following Systemic Delivery**. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2023:JPET-AR-2023-001828.
87. Clements BM, Peterson CD, Kitto KF, Caye LD, Wilcox GL, Fairbanks CA. Biodistribution of Agmatine to Brain and Spinal Cord after Systemic Delivery. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2023;387(3):328-36.
88. Shaw J, Hunyor S, Korner P. Sites of central nervous action of clonidine of reflex autonomic function in the unanaesthetized rabbit. *European Journal of Pharmacology*. 1971;15(1):66-78.
89. Bousquet P, Hudson A, García-Sevilla JA, Li J-X. Imidazoline Receptor System: The Past, the Present, and the Future. *Pharmacological Reviews*. 2020;72(1):50-79.
90. Li G, Regunathan S, Barrow CJ, Eshraghi J, Cooper R, Reis DJ. Agmatine: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain. *Science*. 1994;263(5149):966-9.
91. Regunathan S, Reis DJ. Imidazoline receptors and their endogenous ligands. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1996;36:511-44.
92. Sun MK, Regunathan S, Reis DJ. Cardiovascular responses to agmatine, a clonidine-displacing substance, in anesthetized rat. *Clin Exp Hypertens*. 1995;17(1-2):115-28.
93. Zhu MY, Wang WP, Bissette G. Neuroprotective effects of agmatine against cell damage caused by glucocorticoids in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroscience*. 2006;141(4):2019-27.
94. Olmos G, DeGregorio-Rocasolano N, Paz Regalado M, Gasull T, Assumpció Boronat M, Trullas R, et al. Protection by imidazol(ine) drugs and agmatine of glutamate-induced neurotoxicity in cultured cerebellar granule cells through blockade of NMDA receptor. *Br J Pharmacol*. 1999;127(6):1317-26.

95. Kim JH, Yenari MA, Giffard RG, Cho SW, Park KA, Lee JE. Agmatine reduces infarct area in a mouse model of transient focal cerebral ischemia and protects cultured neurons from ischemia-like injury. *Exp Neurol*. 2004;189(1):122-30.
96. Uranchimeg D, Kim JH, Kim JY, Lee WT, Park KA, Batbaatar G, et al. Recovered changes in the spleen by agmatine treatment after transient cerebral ischemia. *Anat Cell Biol*. 2010;43(1):44-53.
97. Ahn SK, Hong S, Park YM, Lee WT, Park KA, Lee JE. Effects of agmatine on hypoxic microglia and activity of nitric oxide synthase. *Brain Res*. 2011;1373:48-54.
98. Ahn SS, Kim SH, Lee JE, Ahn KJ, Kim DJ, Choi HS, et al. Effects of agmatine on blood-brain barrier stabilization assessed by permeability MRI in a rat model of transient cerebral ischemia. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015;36(2):283-8.
99. Roberts JC, Grocholski BM, Kitto KF, Fairbanks CA. Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Studies of Agmatine after Spinal Administration in the Mouse. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2005;314(3):1226-33.
100. Regunathan S, Youngson C, Wang H, Reis DJ. Imidazoline receptors in vascular smooth muscle and endothelial cells. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;763:580-90.
101. Kim Y-H, Jeong J-H, Ahn D-S, Chung S. Agmatine suppresses peripheral sympathetic tone by inhibiting N-type Ca<sup>2+</sup> channel activity via imidazoline I<sub>2</sub> receptor activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2016;477(3):406-12.
102. Pinthong D, Wright IK, Hammer C, Millns P, Mason R, Kendall DA, et al. Agmatine recognizes  $\alpha$ 2-adrenoceptor binding sites but neither activates nor inhibits  $\alpha$ 2-adrenoceptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 1995;351(1):10-6.
103. Cobos-Puc LE, Villalón CM, Ramírez-Rosas MB, Sánchez-López A, Lozano-Cuenca J, Gómez-Díaz B, et al. Pharmacological characterization of the inhibition by moxonidine and agmatine on the cardioaccelerator sympathetic outflow in pithed rats. *European Journal of Pharmacology*. 2009;616(1):175-82.
104. Raasch W, Schäfer U, Qadri F, Dominiak P. Agmatine, an endogenous ligand at imidazoline binding sites, does not antagonize the clonidine-mediated blood pressure reaction. *British Journal of Pharmacology*. 2002;135(3):663-72.
105. Cobos-Puc L, Aguayo-Morales H, Ventura-Sobrevilla J, Luque-Contreras D, Chin-Chan M. Further analysis of the inhibition by agmatine on the cardiac sympathetic outflow: Role of the  $\alpha$ (2)-adrenoceptor subtypes. *Eur J Pharmacol*. 2017;805:75-83.
106. Häuser W, Gütting J, Nguyen T, Dominiak P. Influence of imidazolines on catecholamine release in pithed spontaneously hypertensive rats. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;763:573-9.
107. Regunathan S. Vascular smooth muscle and endothelium express imidazoline receptors and agmatine: a novel endothelial-derived vasoactive agent? *FASEB J*. 1994;8:A556.
108. Hibbs JB, Jr., Taintor RR, Vavrin Z. Macrophage cytotoxicity: role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*. 1987;235(4787):473-6.
109. Li X, Zhu J, Tian L, Ma X, Fan X, Luo L, et al. Agmatine Protects Against the Progression of Sepsis Through the Imidazoline I<sub>2</sub> Receptor-Ribosomal S6 Kinase 2-Nuclear Factor- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Crit Care Med*. 2020;48(1):e40-e7.
110. Aricioglu F, Regunathan S. Agmatine attenuates stress- and lipopolysaccharide-induced fever in rats. *Physiol Behav*. 2005;85(3):370-5.
111. Blenck CL, Harvey PA, Reckelhoff JF, Leinwand LA. The Importance of Biological Sex and Estrogen in Rodent Models of Cardiovascular Health and Disease. *Circ Res*. 2016;118(8):1294-312.
112. Jackson SJ, Andrews N, Ball D, Bellantuono I, Gray J, Hachoumi L, et al. Does age matter? The impact of rodent age on study outcomes. *Lab Anim*. 2017;51(2):160-9.
113. Feleder C, Sertac Yilmaz M, Peng J, Göktalay G, Millington WR. The OVL1 initiates the fall in arterial pressure evoked by high dose lipopolysaccharide: evidence that dichotomous,

- dose-related mechanisms mediate endotoxic hypotension. *J Neuroimmunol.* 2015;285:94-100.
114. Kavuklu B, Iskit AB, Guc MO, Ilhan M, Sayek I. Aminoguanidine attenuates endotoxin-induced mesenteric vascular hyporeactivity. *Br J Surg.* 2000;87(4):448-53.
115. Huang L, Gan L, Pan J, Zhong L, Wang Q, Luo S, et al. Transcriptomics combined with metabolomics analysis of the mechanism of agmatine in the treatment of septic liver injury. *Ann Transl Med.* 2022;10(10):578.
116. Li X, Zhu J, Tian L, Ma X, Fan X, Luo L, et al. Agmatine Protects Against the Progression of Sepsis Through the Imidazoline I2 Receptor-Ribosomal S6 Kinase 2-Nuclear Factor- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Critical Care Medicine.* 2020;48(1):e40-e7.
117. El-Awady MS, Nader MA, Sharawy MH. The inhibition of inducible nitric oxide synthase and oxidative stress by agmatine attenuates vascular dysfunction in rat acute endotoxemic model. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* 2017;55:74-80.
118. Jespersen B, Knupp L, Northcott CA. Femoral arterial and venous catheterization for blood sampling, drug administration and conscious blood pressure and heart rate measurements. *J Vis Exp.* 2012(59).
119. Mella JR, Chiswick EL, King E, Remick DG. Location, location, location: cytokine concentrations are dependent on blood sampling site. *Shock.* 2014;42(4):337-42.
120. Steeland S, Libert C, Vandembroucke R. A new venue of TNF targeting. *International Journal of Molecular Sciences.* 2018;19.
121. Bence AK, Worthen DR, Stables JP, Crooks PA. An in vivo evaluation of the antiseizure activity and acute neurotoxicity of agmatine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 2003;74(3):771-5.
122. Fink MP. Animal models of sepsis. *Virulence.* 2014;5(1):143-53.
123. Fakioglu H, Gelvez J, Torbati D, Glover ML, Olarte JL, Camacho MT, et al. Aminophylline therapy during endotoxemia in anesthetized spontaneously breathing rats. *Pharmacological Research.* 2004;49(1):45-50.
124. Brognara F, Castania JA, Dias DPM, Kanashiro A, Salgado HC. Time Course of Hemodynamic Responses to Different Doses of Lipopolysaccharide in Unanesthetized Male Rats. *Front Physiol.* 2019;10:771.
125. Kurtz TW, Griffin KA, Bidani AK, Davisson RL, Hall JE. Recommendations for Blood Pressure Measurement in Humans and Experimental Animals. *Hypertension.* 2005;45(2):299-310.
126. Wu L, Lin W, Fu X, Li X, Li X, Li Y, et al. Liberating carotid arteries: measuring arterial pressure through femoral artery in mice. *Clinical and Experimental Hypertension.* 2018;41:1-8.
127. Wang Y, Cong Y, Li J, Li X, Li B, Qi S. Comparison of invasive blood pressure measurements from the caudal ventral artery and the femoral artery in male adult SD and Wistar rats. *PLoS One.* 2013;8(4):e60625.
128. Keshavarz S, Nemati M, Saied Salehi M, Naseh M. The impact of anesthetic drugs on hemodynamic parameters and neurological outcomes following temporal middle cerebral artery occlusion in rats. *Neuroreport.* 2023;34(4):199-204.
129. Carrara M, Herpain A, Baselli G, Ferrario M. Vascular Decoupling in Septic Shock: The Combined Role of Autonomic Nervous System, Arterial Stiffness, and Peripheral Vascular Tone. *Front Physiol.* 2020;11:594.
130. Chang YT, Huang WC, Cheng CC, Ke MW, Tsai JS, Hung YM, et al. Effects of epinephrine on heart rate variability and cytokines in a rat sepsis model. *Bosn J Basic Med Sci.* 2020;20(1):88-98.
131. DERIJK R, VAN ROOIJEN N, TILDERS FJH, BESEDOVSKY HO, DEL REY A, BERKENBOSCH F. Selective Depletion of Macrophages Prevents Pituitary-Adrenal Activation in Response to

Subpyrogenic, but not to Pyrogenic, Doses of Bacterial Endotoxin in Rats\*. *Endocrinology*. 1991;129(1):330-8.

132. Oppert M, Reinicke A, Gräf KJ, Barckow D, Frei U, Eckardt KU. Plasma cortisol levels before and during "low-dose" hydrocortisone therapy and their relationship to hemodynamic improvement in patients with septic shock. *Intensive Care Med*. 2000;26(12):1747-55.

133. Lang CH, Bagby GJ, Ferguson JL, Spitzer JJ. Cardiac output and redistribution of organ blood flow in hypermetabolic sepsis. *Am J Physiol*. 1984;246(3 Pt 2):R331-7.

134. Hildebrand LB, Krejci V, Banic A, Erni D, Wheatley AM, Sigurdsson GH. Dynamic study of the distribution of microcirculatory blood flow in multiple splanchnic organs in septic shock. *Crit Care Med*. 2000;28(9):3233-41.

135. Hildebrand LB, Krejci V, Banic A, Erni D, Wheatley AM, Sigurdsson GH. Dynamic study of the distribution of microcirculatory blood flow in multiple splanchnic organs in septic shock. *Critical Care Medicine*. 2000;28(9):3233-41.

136. Wolff CB, Green DW, Paton JFR, Collier DJ. New understanding of circulatory blood flow and arterial blood pressure mechanisms. *Cardiovascular Research*. 2022;118(4):e29-e31.

137. Contreras P, Migliaro ER, Suhr B. Right atrium cholinergic deficit in septic rats. *Autonomic Neuroscience*. 2014;180:17-23.

138. Schulte A, Lichtenstern C, Henrich M, Weigand MA, Uhle F. Loss of vagal tone aggravates systemic inflammation and cardiac impairment in endotoxemic rats. *Journal of Surgical Research*. 2014;188(2):480-8.

139. Cumming AD, Kline R, Linton AL. Association between renal and sympathetic responses to nonhypotensive systemic sepsis. *Crit Care Med*. 1988;16(11):1132-7.

140. Pinto BB, Ritter C, Michels M, Gambarotta N, Ferrario M, Dal-Pizzol F, et al. Characterization of Brain-Heart Interactions in a Rodent Model of Sepsis. *Mol Neurobiol*. 2017;54(5):3745-52.

141. Jianhui L, Rosenblatt-Velin N, Loukili N, Pacher P, Feihl F, Waeber B, et al. Endotoxin impairs cardiac hemodynamics by affecting loading conditions but not by reducing cardiac inotropism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299(2):H492-501.

142. Besnier E, Coquerel D, Kouadri G, Clavier T, Favory R, Duburcq T, et al. Hypertonic sodium lactate improves microcirculation, cardiac function, and inflammation in a rat model of sepsis. *Crit Care*. 2020;24(1):354.

143. Sharma AC, Motew SJ, Farias S, Alden KJ, Bosmann HB, Law WR, et al. Sepsis alters myocardial and plasma concentrations of endothelin and nitric oxide in rats. *J Mol Cell Cardiol*. 1997;29(5):1469-77.

144. Ferrario M, Brunelli L, Su F, Herpain A, Pastorelli R. The systemic alterations of lipids, alanine-glucose cycle and inter-organ amino acid metabolism in swine model confirms the role of liver in early phase of septic shock. *Frontiers in physiology*. 2019;10:11.

145. Buga GM, Griscavage JM, Rogers NE, Ignarro LJ. Negative feedback regulation of endothelial cell function by nitric oxide. *Circulation Research*. 1993;73(5):808-12.

146. Sun MK, Regunathan S, Reis DJ. Cardiovascular Responses to Agmatine, a Clonidine-displacing Substance, in Anesthetized Rat. *Clinical and Experimental Hypertension*. 1995;17(1-2):115-28.

147. Gerová M, Török J. Hypotensive effect of agmatine, arginine metabolite, is affected by NO synthase. *Physiological research*. 2004;53 4:357-63.

148. Gill F, Pelit T, Terzioğlu B, Ekinci O, Gören MZ. Effects of agmatine on the survival rate in rats bled to hemorrhage. *Arzneimittelforschung*. 2011;61(4):229-33.

149. Satriano J, Schwartz D, Ishizuka S, Lortie MJ, Thomson SC, Gabbai F, et al. Suppression of inducible nitric oxide generation by agmatine aldehyde: Beneficial effects in sepsis. *Journal of Cellular Physiology*. 2001;188(3):313-20.

150. Schwartz D, Mendonca M, Schwartz I, Xia Y, Satriano J, Wilson CB, et al. Inhibition of constitutive nitric oxide synthase (NOS) by nitric oxide generated by inducible NOS after lipopolysaccharide administration provokes renal dysfunction in rats. *J Clin Invest.* 1997;100(2):439-48.
151. Turan I, Ozacmak HS, Ozacmak VH, Barut F, Araslı M. Agmatine attenuates intestinal ischemia and reperfusion injury by reducing oxidative stress and inflammatory reaction in rats. *Life Sci.* 2017;189:23-8.
152. Rashidian A, Keshavarz-Bahaghighat H, Abdollahi A, Chamanara M, Faghir-Ghanesefat H, Hoseini-Ahmadabadi M, et al. Agmatine ameliorates acetic acid-induced colitis in rats: involvement of nitrergic system. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2019;41(2):242-9.
153. Esen F, Erdem T, Aktan D, Orhan M, Kaya M, Eraksoy H, et al. Effect of magnesium sulfate administration on blood-brain barrier in a rat model of intraperitoneal sepsis: a randomized controlled experimental study. *Crit Care.* 2005;9(1):R18-23.
154. Bergin DH, Jing Y, Williams G, Mockett BG, Zhang H, Abraham WC, et al. Safety and neurochemical profiles of acute and sub-chronic oral treatment with agmatine sulfate. *Sci Rep.* 2019;9(1):12669.
155. Bernardelli AK, Da Silva R, Corrêa T, Da Silva-Santos JE. Vasoplegia in sepsis depends on the vascular system, vasopressor, and time-point: a comparative evaluation in vessels from rats subjected to the cecal ligation puncture model. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016;94(11):1227-36.
156. Okazaki N, Iguchi N, Evans RG, Hood SG, Bellomo R, May CN, et al. Beneficial Effects of Vasopressin Compared With Norepinephrine on Renal Perfusion, Oxygenation, and Function in Experimental Septic Acute Kidney Injury. *Critical Care Medicine.* 2020;48(10):e951-e8.
157. Adegunloye BI, Sofola OA. Differential responses of rat aorta and mesenteric artery to norepinephrine and serotonin in vitro. *Pharmacology.* 1997;55(1):25-31.
158. Asbún-Bojalil J, Castillo EF, Escalante BA, Castillo C. Does segmental difference in  $\alpha$ 1-adrenoceptor subtype explain contractile difference in rat abdominal and thoracic aortae? *Vascular Pharmacology.* 2002;38(3):169-75.
159. Menendez JC, Casanova D, Amado JA, Salas E, García-Unzueta MT, Fernandez F, et al. Effects of radiation on endothelial function. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics\*Physics.* 1998;41(4):905-13.
160. Wang P, Ba ZF, Chaudry IH. Endothelium-dependent relaxation is depressed at the macro- and microcirculatory levels during sepsis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology.* 1995;269(5):R988-R94.
161. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.* 2012;33(7):829-37, 37a-37d.
162. Jadhav A, Gopalakrishnan V, Shoker A. Comparative in vitro effects of calcineurin inhibitors on functional vascular relaxations of both rat thoracic and abdominal aorta. *Adv Pharmacol Sci.* 2013;2013:718313.
163. Papapetropoulos A, Abou-Mohamed G, Marczin N, Murad F, Caldwell RW, Catravas JD. Downregulation of nitrovasodilator-induced cyclic GMP accumulation in cells exposed to endotoxin or interleukin-1 beta. *Br J Pharmacol.* 1996;118(6):1359-66.
164. Busse R, Edwards G, Féletou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH. EDHF: bringing the concepts together. *Trends in Pharmacological Sciences.* 2002;23(8):374-80.
165. Féletou M, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarizations: past beliefs and present facts. *Annals of medicine.* 2007;39(7):495-516.
166. Serban DN, Serban IL, Nechifor M. Idazoxan effects upon contractile activity in the rat aorta are related to  $\alpha$ 1 adrenoceptors and L-type channels. *Fundamental & Clinical Pharmacology.* 2004;18(6):635-41.

167. Slavica M, Lei L, Patil PN, Kerezy A, Feller DR, Miller DD. Synthesis and biological activities of a new set of irreversibly acting 2-(4'-isothiocyanatobenzyl) imidazoline analogs in rat thoracic aorta. *Journal of medicinal chemistry*. 1994;37(12):1874-81.
168. Lei L, Vaghy PL, Slavica M, De Los Angeles J, Smith B, Miller DD, et al. Activation of L-type calcium channel by tolazoline derivatives: Role of isothiocyanate moiety. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1998;31(5):721-33.
169. Artigues-Varin C, Richard V, Varin R, Mulder P, Thuillez C.  $\alpha$ 2-adrenoceptor ligands inhibit  $\alpha$ 1-adrenoceptor-mediated contraction of isolated rat arteries. *Fundamental & Clinical Pharmacology*. 2002;16(4):281-7.
170. Joffre J, Hellman J, Ince C, Ait-Oufella H. Endothelial Responses in Sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020;202(3):361-70.
171. Raasch W, Chun KRJ, Dendorfer A, Dominiak P. Positive inotropic effects of imidazoline derivatives are not mediated via imidazoline binding sites but alpha1-adrenergic receptors. *Jpn J Pharmacol*. 2000;84(1):1-6.
172. El-Awady MS, Nader MA, Sharawy MH. The inhibition of inducible nitric oxide synthase and oxidative stress by agmatine attenuates vascular dysfunction in rat acute endotoxemic model. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2017;55:74-80.
173. Li X, Fan X, Zheng ZH, Yang X, Liu Z, Gong JP, et al. [Protective effects of agmatine on lipopolysaccharide -induced acute hepatic injury in mice]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*. 2013;25(12):720-4.