

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

**DENEYSEL SEPTİK ŞOK MODELİNDE  
ENDOTELİN VE NİTRİK OKSİT'İN KALP KASI FONKSİYONLARINA ETKİSİ**

**Dr. Erdem Kamil ÖZER**

**UZMANLIK TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.**

**Danışman Öğretim Üyesi  
Prof. Dr. Alper B. İskit**

**ANKARA**

**2013**

## TEŐEKKÖR

Dört yıllık uzmanlık eğitimim boyunca bana vermiş oldukları her türlü destek ve katkıdan dolayı başta danışman hocam Prof. Dr. Alper B. İskit olmak üzere, Farmakoloji Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, yardımcı personeline ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca her zaman yanımda olan aileme de şükranlarımı sunarım.

## ÖZET

**Özer EK., Deneysel Septik Şok Modelinde Endotelin ve Nitrik Oksit'in Kalp Kası Fonksiyonlarına Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi., Ankara 2013.** Bu çalışmada hiperdinamik ve hipodinamik septik şokta kalp kası fonksiyonlarındaki değişimde, NO ve endotelinin olası rolü araştırıldı. İzole atriyum atım hızı, hiperdinamik dönemde değişmezken hipodinamik dönemde artmıştır ( $p<0,001$ ). Hipodinamik dönemde artmış olan atım hızını, bosentan ( $p<0,001$ ) ve L-NAME ( $p<0,05$ ) azaltmışlardır. Bosentan ve L-NAME, atriyum atım hızının izoproterenol doz-cevap eğrisini her iki dönemde de sola kaydırarak, izoproterenol potensini artırmışlardır. Karbakol doz-cevap eğrisini ise sadece hipodinamik dönemde sola kaydırarak, karbakol potensini artırmışlardır. Atriyum kasılması her iki dönemde de azalmıştır ( $p<0,001$ ). Bosentan hiperdinamik ( $p<0,01$ ) ve hipodinamik dönemde ( $p<0,001$ ) atriyum kasılmasında kısmi düzelme sağlarken, L-NAME sadece hipodinamik dönemde kısmi bir düzelme sağlamıştır ( $p<0,001$ ). Bosentan atriyum kasılmasının izoproterenol cevabını hipodinamik dönemde artırmıştır ( $p<0,05$ ). Ayrıca bosentan ve L-NAME, hipodinamik dönemde karbakol doz-cevap eğrisini sola kaydırarak karbakol potensini artırmışlardır. İzole papiller kas kasılması her iki dönemde de değişmemiştir. Bosentan ve L-NAME hiperdinamik dönemde papiller kas kasılmasını artırmışlardır (sırasıyla  $p<0,01$ ,  $p<0,001$ ), hatta L-NAME varlığında meydana gelen artış sonucunda elde edilen değer kontrol grubu değerinin de üzerinde olmuştur ( $p<0,05$ ). Ayrıca L-NAME hipodinamik dönemde de papiller kas kasılmasını artırmıştır ( $p<0,01$ ). Papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı hipodinamik dönemde artmıştır ( $p<0,05$ ), bosentan bu cevabı daha da artırmıştır. Ayrıca L-NAME her iki dönemde de papiller kas kasılmasının karbakol cevabını artırmıştır ( $p<0,05$ ). Bu sonuçlara göre endotelin ve NO, septik şokta atriyumda gelişen pozitif kronotropi ve negatif inotropide rol oynayabilir. Bosentan ve L-NAME adrenerjik ve kolinerjik reseptör upregülasyonu yaparak ve/veya postreseptör faktörler üzerinden atriyum atım hızı ve atriyum kasılması için izoproterenol ve karbakol potensini artırmış olabilirler, ayrıca L-NAME papiller kas kasılmasının karbakol cevabını benzer mekanizmalar üzerinden artırmış olabilir.

Anahtar Kelimeler: Septik şok, NO, endotelin, kalp kası, L-NAME, bosentan

## ABSTRACT

**Özer EK., Effects of endothelin and NO on cardiac muscle functions in an experimental septic shock model, Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Thesis Prepared for the Speciality Degree., Ankara 2013.** In this study, we investigated changes of cardiac muscle functions in both hyperdynamic and hypodynamic septic shock periods and possible roles of NO and endothelin. Atrium beat rate did not change in hyperdynamic period and increased in hypodynamic period ( $p < 0,001$ ). While atrium beat rate is expected to increase in hypodynamic period; bosentan and L-NAME decreased it ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$  respectively). Bosentan and L-NAME shifted response of atrium beat rate to isoproterenol to the left and potency of isoproterenol increased in both periods, and shifted response of atrium beat rate to carbachol to the left in only hypodynamic period and increased the potency of carbachol. Atrium contraction significantly decreased in both periods ( $p < 0,001$ ). While bosentan partially restored atrium contraction in both hyperdynamic ( $p < 0,01$ ) and hypodynamic period ( $p < 0,001$ ), L-NAME partially restored atrium contraction in only hypodynamic period ( $p < 0,001$ ). Bosentan increased response of atrium contraction to isoproterenol in hypodynamic period ( $p < 0,05$ ). Bosentan and L-NAME shifted response of atrium contraction to carbachol to the left in hypodynamic period so increased potency of carbachol. Papillary muscle contraction did not change in both periods. Bosentan and L-NAME increased papillary muscle contraction in hyperdynamic period ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  respectively), insomuch that the value obtained from the increase of L-NAME's effect was greater than the control group ( $p < 0,05$ ). In addition L-NAME increased papillary muscle contraction in hypodynamic period ( $p < 0,01$ ). The response of papillary muscle contraction to isoproterenol in hypodynamic period was increased ( $p < 0,05$ ) and when these dose-response curves are considered as a whole, bosentan increased isoproterenol response. L-NAME increased response of papillary muscle contraction to carbachol in both periods ( $p < 0,05$ ). These results show that NO and endothelin might play a role in positive inotropic and negative chronotropic effects for atrium in septic shock. Bosentan and L-NAME might increase potency of isoproterenol and carbachol for atrium beat rate and atrium contraction and only L-NAME might increase potency of carbachol for papillary muscle contraction in both periods via upregulation of adrenergic and cholinergic receptors and/or through post receptor factors.

**Keywords:** Septic shock, NO, endothelin, cardiac muscle, L-NAME, bosentan

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ii
ŞEKİLLER.....	vi
TABLolar.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sepsis Tanımlamaları.....	2
2.2. Sepsis Epidemiyolojisi.....	4
2.2.1. Sepsis İnsidansı.....	4
2.2.2. Mortalite Oranları.....	5
2.2.3. Predispozan Faktörler.....	5
2.3. Sepsis Etiyolojisi.....	6
2.4. Sepsis Patofizyolojisi.....	7
2.5. Endotel ve Septik Şok.....	9
2.5.1. Endotelin ve Septik Şok.....	11
2.5.2. Nitrik Oksit ve Septik Şok.....	14
2.6. Deneysel Septik Şok Modelleri.....	19
2.6.1. LPS Uygulanmasıyla Oluşturulan Deneysel Septik Şok Modeli.....	19
2.6.2. Bakteri İnfüzyon Modeli.....	21
2.6.3. Peritonit Modeli.....	21
2.7. Kalp Kası.....	22
2.7.1. Sıçan İzole Sağ-Sol Atriyum ve Ventrikül Papiller Kas Preparatları.....	23
2.8. Hipotez.....	24
2.9. Amaç.....	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.2. Etik Kurul İzni.....	25
3.3. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları.....	25
3.4. CLP (Caecal Ligation and Puncture, Çekum Bağlama ve Delme).....	26

3.5. Atriyum ve Ventrikül Papiller Kas Preparatlarının Hazırlanması ve Organ Banyolarına Asılması .....	30
3.6. Deneyleerde Kullanılan Çözelti ve İlaçlar .....	31
3.7. Verilerin Değerlendirilmesi .....	31
4. BULGULAR .....	33
4.1. Kontrol ve Septik Şok Gruplarındaki Sıçanlardan İzole Edilen Atriyumların Bazal Atım Hızları .....	33
4.2. Kontrol ve Septik Şok Gruplarındaki Sıçanlardan İzole Edilen Atriyumların Bazal Kasılma Amplitüdüleri .....	35
4.3. Kontrol ve Septik Şok Gruplarındaki Sıçanlardan İzole Edilen Ventrikül Papiller Kaslarının Bazal Kasılma Amplitüdüleri .....	37
4.4. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim.....	39
4.5. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim.....	41
4.6. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	43
4.7. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	45
4.8. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	47
4.9. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	49
4.10. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	51
4.11. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	53
4.12. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	55
4.13. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	57

4.14. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	59
4.15. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim .....	61
5.TARTIŞMA .....	63
6.SONUÇ ve ÖNERİLER .....	68
KAYNAKLAR.....	70
EK: ETİK KURUL ONAYI .....	79

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACh	Asetilkolin
ADP	Adenozin difosfat
ANP	Atrial natriüretik peptit
APC	Aktif protein C
ATP	Adenozin trifosfat
ATPaz	Adenozin trifosfataz
AV	Atriyoventriküler
BH4	Tetrahidrobiyopterin
BNP	Beyin natriüretik peptit
bpm	Bir dakikadaki atım
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum
CaCl <sub>2</sub>	Kalsiyum klorür
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
CLF	Çekum bağlama ve fekal inokulum
CLP	Çekum bağlama ve delme
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
ÇOYS	Çoklu organ yetmezliği sendromu
DAG	Diaçilgliserol
DNA	Deoksiribonükleik asit
DIK	Dissemine intravasküler koagülasyon



EAS	Elektriksel alan stimölasyonu
EC <sub>50</sub>	Maksimum etkinin %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonu
EDE	Endotelin dönüştürücü enzim
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ET-1	Endotelin 1
ET-A	Endotelin A
FAD	Flavin adenin dinökleotid
FMN	Flavin adenin mononökleotid
g	gram
G	Gauge
GTP	Guanozin trifosfat
H <sup>+</sup>	Hidrojen
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
i.p.	İntraperitoneal
i.v.	İntravenöz
K <sup>+</sup>	Potasyum
KCl	Potasyum klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Potasyum dihidrojen fosfat
KOAH	Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
L-NAME	N <sup>G</sup> -nitro-L-arjinin metil ester
LPS	Lipopolisakkarit

Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum
MgSO <sub>4</sub>	Magnezyum sülfat
MAPK	Mitojenle-aktive protein kinaz
M.Ö.	Milattan önce
Na <sup>+</sup>	Sodyum
NaCl	Sodyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaHCO <sub>3</sub>	Sodyum bikarbonat
NF-κβ	Nükleer faktör-kappa beta
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
NOSİ	Nitrik oksit sentaz inhibitörü
O <sub>2</sub>	Oksijen
PaCO <sub>2</sub>	Arteriyel parsiyel karbondioksit basıncı
PAF	Trombosit aktive edici faktör
PGI <sub>2</sub>	Prostasiklin
PIP <sub>2</sub>	Fosfatidilinozitol bifosfat
PIP <sub>3</sub>	Fosfatidilinozitol trifosfat
PKC	Protein kinaz C
PVR	Periferik vasküler rezistans
SA	Sinoatriyal
sGC	Solubl-guanilat siklaz

SIRS	Sistemik inflamatuvar yanıt sendromu
SVR	Sistemik vasküler rezistans
TLR	Toll-like reseptörler
TNF $\alpha$	Tümör nekrozis faktör alfa

**ŞEKİLLER**

	<b>Sayfa</b>
2.1. Sepsiste organ yetmezliği ve ölüme yol açan inflamasyon ve koagülasyon kaskadında meydana gelen değişiklikler	9
2.2. Sepsis patofizyolojisi, endotel hasarının rolü	10
2.3. ET-1'in yapısı	12
2.4. ET-1'in sentezi, ekspresyonu, etki mekanizması	13
2.5. NO sentezi	14
2.6. NO sentezi ve etki mekanizması	16
2.7. cGMP aracılığıyla gerçekleştiği düşünülen vasküler düz kas relaksasyonunun mekanizması	17
3.1-3.8 CLP uygulaması	28
4.1. İzole sıçan atriyum preparatında bazal atım hızı	34
4.2. İzole sıçan atriyum preparatında bazal kasılma amplitüdü	36
4.3. İzole sıçan papiller kas preparatında bazal kasılma amplitüdü	38
4.4. A, İzole atriyum atım hızının izoproterenol cevabı B, İzoproterenolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	40
4.5. A, İzole atriyum atım hızının izoproterenol cevabı B, İzoproterenolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	42
4.6. A, İzole atriyum atım hızının karbakol cevabı B, Karbakolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	44
4.7. A, İzole atriyum atım hızının karbakol cevabı B, Karbakolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	46
4.8. İzole atriyum kas kasılmasının izoproterenol cevabı	48
4.9. İzole atriyum kas kasılmasının izoproterenol cevabı	50

4.10.	A, İzole atriyum kas kasılmasının karbakol cevabı	52
	B, Karbakolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	
4.11.	A, İzole atriyum kas kasılmasının karbakol cevabı	54
	B, Karbakolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	
4.12.	A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı	56
	B, İzoproterenolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	
4.13.	A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı	58
	B, İzoproterenolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	
4.14.	A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının karbakol cevabı	60
	B, Karbakolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	
4.15.	A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının karbakol cevabı	62
	B, Karbakolün EC <sub>50</sub> değerlerindeki değişim	

**TABLULAR**

	<b>Sayfa</b>
2.1. Sepsis tanımlamaları	3
2.2. Sepsise neden olan mikroorganizmalar	7
2.3. Nitrik oksit sentaz inhibitörü ilaçlar	18
2.4. Endotelin reseptör antagonisti ilaçlar	18
3.1. Deney grupları	26

## 1. GİRİŞ

Sepsis, ABD’de tüm popülasyonda %0,3 görülme sıklığına sahip olan (1), %28-50 oranında mortaliteyle seyreden (2), bütün ölüm sebepleri arasında 10. sırada yer alan (3), tüm ölümlerin %9’unu teşkil eden, kardiyak olmayan yoğun bakım ünitelerinde en önde gelen ölüm sebebi olan önemli bir sağlık problemidir (4). Birçok organda akut yetmezliğe neden olması (5), oldukça progresif ve ölümcül seyretmesi (6), yıllık 17 milyar dolar civarında büyük bir ekonomik yük getirmesi (1) önemini daha da artırmaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sepsis Tanımlamaları

Sepsis, Yunanca'da "pislenmek" anlamına gelmektedir. Sepsis kelimesine ilk olarak M.Ö. 7. yüzyılda "sepo" şeklinde Homer'in şiirlerinde rastlanılmaktadır. O dönemlerde "sepo" kelimesi organik materyallerin çürümesi ve bozulması anlamında kullanılmıştır (7). Ayrıca bu terim Hipokrat tarafından MÖ. 4. yüzyılda yazılmış "Corpus Hippocraticum" adlı eserde de geçer ve bu eserde sepsis, "vücutta meydana gelen tehlikeli, kötü kokulu, biyolojik çürüme" olarak tanımlanmıştır (8). Bununla birlikte bir tarihçi-felsefeci Rönesans yazarı olan Niccolo Machiavelli (1469–1527) 1513 yılında "The Prince" isimli kitabında, sepsisle ilgili olarak "yüksek ve değişken ateşle seyreden, başlangıçta teşhis edilebilirse tedavisi kolay, teşhis etmekte geç kalınırsa tedavisi zor bir durum" tanımlamasını yapmıştır (9).

Son yüzyılda sepsisi klinik olarak daha iyi anlayabilmek için birçok tanım yapıldı. İlk olarak ortaya atılan görüşe göre; sepsis, bir enfeksiyona konağın sistemik cevabıdır (10). Aslında bu tanım ABD'li doktor William Osler (1849–1919) tarafından "insanlar enfeksiyonun kendisinden dolayı değil vücudun bu enfeksiyona karşı vermiş olduğu cevaptan dolayı ölmektedir" şeklinde ifade edildi. Bu düşünce modern çağa en uygun düşünceydi ve 1972 yılında "hastalığın sebebi bizim vücudumuzun vermiş olduğu cevaptır" şeklinde Thomas L. Germs tarafından da ifade edilmiştir (11). Genel yaklaşım, sepsisin bir zehirlenme türü olduğu, daha çok kan zehirlenmesi olduğu ve bu durumun patojenik mikroorganizmaların ve onların toksinlerinin vücutta hazır bulunmasıyla gerçekleştiği yönünde olmuştur. Bütün bu tanımlamalar sepsis teşhisinde yol gösterici olsa da yeterli değildi (12). Bu yüzden 1992 yılında "American College of Chest Physicians" ve "Society for Critical Care Medicine" kuruluşları "Uzlaşma Konferansı (Consensus Conference)" adı altında yaptıkları konferans ile sepsisle ilgili yeni tanımlamalar ve sınıflandırmalar getirmişlerdir. Kabul edilen terminolojiye göre tanımlamalar Tablo-2.1'de gösterilmektedir (13).



**Tablo-2.1:** Sepsis tanımlamaları

<b>Enfeksiyon</b>	Mikroorganizmaların konakçı dokularında bulunmasına bağlı olarak gelişen inflamatuvar yanıttır.
<b>Bakteriyemi</b>	Canlı bakterinin kanda bulunması durumudur.
<b>Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS= Systemic Inflammatory Response Syndrome )</b>	Enfeksiyöz veya enfeksiyöz olmayan (pankreatit, yanık, çoklu travma gibi) nedenlere bağlı olarak aşağıdaki bulgulardan en az ikisinin bulunduğu klinik tablodur. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipertermi &gt;38 °C veya hipotermi &lt;36 °C</li> <li>• Kalp hızı &gt;90 atım/dk</li> <li>• Solunum hızı &gt;20 solunum sayısı/dk veya PaCO<sub>2</sub> &lt;32 mmHg</li> <li>• Beyaz küre sayısı &gt;12.000/μL veya &lt;4.000/μL ya da genç hücre oranı &gt; %10</li> </ul>
<b>Sepsis</b>	Enfeksiyöz bir olaya bağlı olarak gelişen SIRS tablosudur. Enfeksiyon etkeninin kan kültürü ile kanıtlanmış olması gerekir.
<b>Ağır Sepsis</b>	Sepsisle birlikte; aşağıdakilerden birisinin bulunmasıdır. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Organ disfonksiyonu</li> <li>• Perfüzyon bozukluğu (hipoperfüzyon) ve buna bağlı olarak gelişebilecek laktik asidoz, oligüri veya akut mental değişiklikler</li> <li>• Hipotansiyon (sistolik kan basıncının 90 mmHg'nin altında olması veya daha önceki düzeyin 40 mmHg altına düşmesi)</li> </ul>

<b>Septik Şok</b>	Sepsis bulguları bulunan ve yeterli sıvı tedavisine rağmen perfüzyon bozukluğunun devam etmesi ve hipotansiyonun sürmesi ile ortaya çıkan tablodur.
<b>Yanıtsız Septik Şok</b>	Sıvı tedavisine ve vazopressör ajanlara cevap vermeyen, bir saatten daha uzun süren septik şoktur.
<b>Çoklu Organ Yetmezlik Sendromu (ÇOYS)</b>	Sepsis ve SIRS sonucu iki veya daha fazla organ ya da organ sisteminin ilerleyici fizyolojik bozukluğudur.

Tablo-2.1 devamı

Bu tanımlamalar tıp dünyasında kabul görmüş ve bu şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Ancak ilerleyen yıllarda klinikte bu tanımlamaların bazı sınırlamalar getirdiğinin anlaşılması üzerine 2001 yılında "Uluslararası Sepsis Tanımlamaları Konferansı (International Sepsis Definitions Conference)" yapıldı. Bu konferansta tıpkı kanserde olduğu gibi sepsiste de evreleme sisteminin kullanılması önerildi ve sepsis evrelerini belirlemek için PIRO (*predisposition*=yatkınlık, *infection*=sepsise neden olduğu bilinen bir enfeksiyon, *response*=sistemik inflamatuvar yanıt, *organ failure*= organ yetmezliği) sistemi geliştirildi (14). Ancak evreleme sistemi sepsis tanımlamalarında yetersiz kalmıştır, bu yüzden Uzlaşma Konferansındaki tanımlamalar bugün hala geçerliliğini korumaktadır (15).

## 2.2. Sepsis Epidemiyolojisi

**2.2.1. Sepsis İnsidansı:** Sepsis ve septik şok insidansını saptamak oldukça zordur. Ülkelerin gelişmişlik düzeyleri arasındaki farklar, hastaneye ulaşabilme imkanı, sepsis tanısını koyma ve bunu kayıt altına alma durumu, istatistik biliminin gelişmişlik düzeyi bu zorlukların başlıca nedenleridir. Bununla birlikte yapılan pek çok çalışma, sepsis insidansının tüm dünya

genelinde gittikçe arttığını göstermektedir (16,17). Çeşitli toplumlar arasında önemli farklılıklar göstermekle beraber, sepsisin toplumda görülme sıklığının %0,05 ile %0,3 arasında değiştiği (4,18) hastaneye yatan olgularda ise bu oranın %0,95 ile %3,3 arasında olduğu bildirilmiştir (1,4,19). Amerikan toplumunda yapılan bir çalışma, ağır sepsis görülen hasta sayısının yıllık %1,5 arttığını ve bu artışın nüfus artış oranından daha fazla olduğunu göstermektedir (1). Ülkemizde 1990'lı yıllarda yapılan bir çalışmada ise hastanede yatan hastalarda sepsis insidansı %0,42 olarak tespit edilmiştir (20). Yoğun bakım ünitelerine yatırılan hastaların ise %14-37'sinde sepsis, %10-27'sinde ağır sepsis saptanmaktadır (1,18,21). Ağır sepsisli vakaların yaklaşık yarısının yoğun bakım ünitelerinde tedavi edilmek zorunda kaldığı ve yoğun bakım ünitelerinde yatış sürelerinin en az 2-3 hafta olduğu düşünüldüğünde, sepsisin önemli bir halk sağlığı sorunu olduğu ayrıca ciddi bir ekonomik yük getirdiği yapılan çalışmalarda ifade edilmiştir (1,22).

**2.2.2. Mortalite Oranları:** Günümüzde sepsisle ilgili mortalite oranları, yoğun bakım ünitelerindeki teknik donanım, antimikrobik ve destekleyici tedavilerdeki gelişmeler sonucunda azalma eğilimine girmiştir. Sağlık alanındaki gelişmelerle birlikte sepsisteki sağkalımda önemli oranda artışlar sağlanmış olsa da yaşam süresinin uzaması, immünsupresif ilaçların kullanımının artması, AIDS ve kanser gibi immün sistemi bozan hastalıkların artması, cerrahi ve invazif işlemlerin artması gibi nedenlerden dolayı sepsis insidansında ciddi artışlar meydana gelmiştir (23).

2000 ile 2007 yılları arasında ABD'de yapılan bir çalışmaya göre; hastanede yatan sepsisli hastalarda mortalite oranı 2000 yılında %39,6 iken 2007 yılında %27,3'e gerilemiştir. Bununla birlikte, ciddi sepsis görülen vaka sayısı 2000 yılında 300.270 (hastanede yatanların %0,99'u) iken 2007 yılında bu sayı 781.725 (hastanede yatanların %2,38'i) olmuştur. Artış %160 olmuştur (24).

**2.2.3. Predispozan Faktörler:** Kanser hastaları, herhangi bir malignite nedeniyle kemoterapi uygulanan hastalar, organ transplantasyonuna bağlı

immünesupresif tedavi alan hastalar, AIDS gibi bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar, prematüre bebekler, yaşlılar, genetik yatkınlığı olanlar ve kronik böbrek yetmezliği, diabetes mellitus, KOAH gibi kronik hastalığı bulunan hastalar, yoğun bakım ünitesinde yatan hastalar ve invaziv girişim uygulanan hastalar (i.v. kateter, yara drenajı gibi) sepsis gelişimi açısından büyük risk taşımaktadırlar (25,26).

### 2.3. Sepsis Etiyolojisi

Sepsis tanımlamalarından da anlaşılacağı üzere septik tablo mikrobiyolojik yönden bilgi vermeden hastaların klinik durumunu yansıtan bir tablodur. Nitekim sepsis bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitler gibi enfeksiyöz nedenlerden kaynaklanabileceği gibi pankreatit, travma gibi enfeksiyon dışı nedenlerin de bir sonucu olabilir (27).

Sepsise neden olan mikroorganizmaların sıklığına bakıldığında; 1950'li yıllarda *S. aureus* ve *S. pyogenes* başta olmak üzere gram-pozitif bakterilerin sepsiste en sık saptanan etkenler olduğu, 1960, 1970 ve 1980'li yıllarda ise bu mikroorganizmalar üzerine etkili pek çok antibiyotik kullanımına girmesiyle gram-pozitif bakterilerin sıklığının azalmaya başladığını ve gram-negatif bakterilerin gittikçe artan oranlarda sepsis etkeni olarak izole edilmeye başladığını görülmektedir (4,28). Ancak 1990'lı yıllarda 3. kuşak sefalosporinler ve kinolonlar gibi gram-negatif mikroorganizmalar üzerine etkili güçlü antibiyotiklerin kullanılmaya başlanması, intravasküler kateter uygulamalarının artması, kalp kapakçığı ve eklem protez kullanımının artması gibi nedenlerden dolayı gram-pozitif bakteriler yeniden sepsiste en sık rastlanan etken olmuştur (29,30). ABD'de yapılan bir çalışmada bir yılda gram-negatif bakterilerin neden olduğu sepsis vakası sayısı 150.000 iken gram-pozitif bakterilerin neden olduğu sepsis vakası sayısı 200.000 olarak tespit edilmiştir (4). Bununla birlikte son yıllarda mantarlara bağlı sepsis vakalarında çok hızlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Özellikle *Candida albicans* önemli bir etken olarak görülmektedir (31,32). Ayrıca sepsise neden olan etken enfeksiyonun nereden edinildiğine göre de etkenler değişiklikler gösterir. Toplumdan edinilmiş sepsiste sıklıkla rastlanan etkenler streptokoklar, *S.*

*aureus* ve *E. coli* iken, hastanelerden edinilmiş sepsiste karşılaşılan etkenler sıklıkla *Pseudomonas*, *Proteus* ve *Klebsiella* türleri ile *E. coli*, *S. aureus* ve enterokoklardır. Hastanede sepsis gelişen hastaların %20'sinde birden fazla mikroorganizma izole edilebilmektedir (Tablo-2.2).

**Tablo-2.2:** Sepsise neden olan mikroorganizmalar (33).

Gram (+) bakteriler	%30-50	Metisiline duyarlı <i>S. aureus</i>	%14-24
		Metisiline dirençli <i>S. aureus</i>	%5-11
		Diğer stafilokok türleri	%1-3
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	%9-12
		Diğer streptokok türleri	%6-11
		Enterokok türleri	%3-12
		Anareoblar	%1-2
		Diğer gram-pozitif bakteriler	%1-5
Gram (-) bakteriler	%25-30	<i>E. coli</i>	%9-27
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	%8-15
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	%2-7
		Diğer Enterobakter türleri	%6-16
		<i>Haemophilus influenzae</i>	%2-10
		Anaerob bakteriler	%3-7
		Diğer gram-negatif bakteriler	%3-12
Mantarlar	%3-6		
Parazitler	%1-3		
Virüsler	%2-4		

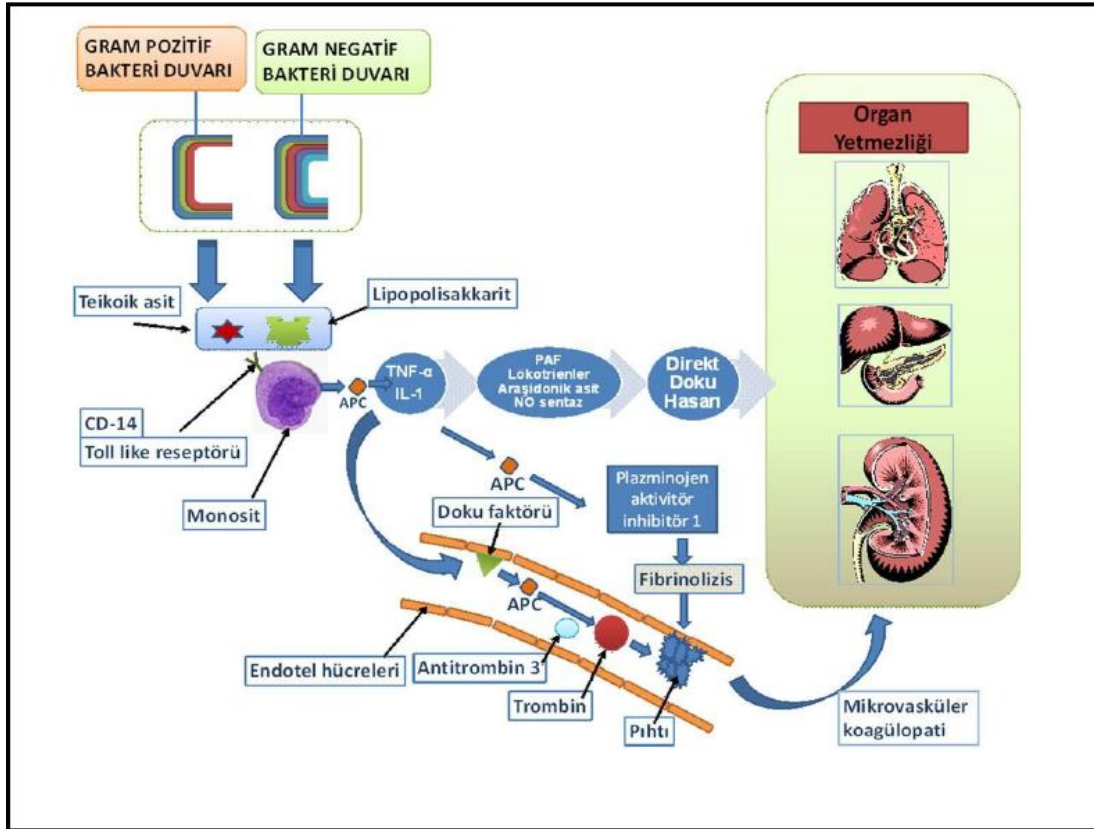
#### 2.4. Sepsis Patofizyolojisi

Etyolojik faktör ve enfeksiyonun başlangıç noktası ne olursa olsun septik şok hepsinde benzer bir patofizyolojik sürece sahiptir (28). Başta bakteriler olmak üzere virüsler, mantarlar, parazitler gibi mikroorganizmaların vücuda girmesi ve kana karışması ile birlikte; gram-negatif bakterilerin hücre duvarında bulunan lipopolisakkarit yapısındaki endotoksin, gram-pozitif bakterilerin hücre duvarında yer alan teikoik asit/peptidoglikan kompleksi,

mantarlardaki mannan, zymosan benzeri yapılar, virüsler ve parazitlerdeki çeşitli antijenik yapılar konaktaki değişik biyolojik sistemleri aktive ederek inflamatuvar bir yanıt oluşturmaktadırlar (33). Mikroorganizmalardan salıverilen membran komponentleri, monosit ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin yüzeylerinde yer alan CD14 reseptörlerine bağlanırlar. Sinyal daha sonra, yakın zamanda tanımlanmış olan, toll-like reseptörleri (TLR) aracılığıyla hücreye iletilir ve hücre uyarılarak tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar mediyatörler, sitokinler ve serbest radikaller inflamatuvar hücrelerden salıverilirler (34). TLR, sitokin ve diğer mediyatörlerin sentez ve salıverilmesine öncülük eden sinyal yollarını aktive etmektedir (35). TLR, nükleer faktör-kappa beta'yı (NF- $\kappa\beta$ ) aktive eden 1kappa $\beta$ kinaz enzimi ve başka bir takım sitozol enzimlerini aktive eder. p50 ve p65 (NF- $\kappa\beta$ 'nın 2 alt üniti) nükleusa göç ederek sitokin ve mediyatör sentezi için kopyalama işlemini başlatırlar (16,36).

Başlangıçta sentezlenen bu inflamatuvar mediyatörler, sitokinler ve serbest radikaller mikroorganizmaların ortadan kaldırılması için vücudun vermiş olduğu fizyolojik bir cevaptır. Ancak sepsiste olduğu gibi ortamda çok sayıda mikroorganizma olunca bu inflamatuvar mediyatörler, sitokinler ve serbest radikaller masif ve kontrolsüz bir biçimde salıverilirler. Daha sonra bu mediyatör ve sitokinler, trombosit aktive edici faktör (PAF) konsantrasyonunun yükselmesine, nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinde artışa, dokulara nötrofil infiltrasyonunun artmasına ve nötrofil aktivitesinin uyarılmasına yol açarak, serbest radikallerin aşırı oluşumu ile birlikte direkt doku hasarı oluştururlar ve birçok organda yetmezliğe yol açarlar (37,38). Yine inflamatuvar mediyatör ve sitokinlerin etkisine bağlı olarak, koagülasyonun ekstrensek yolunun ilk aşamasını oluşturan doku faktörü, endotelial hücre ve monosit yüzeyinde eksprese olmaya başlar. Doku faktörü endotelial pro-inflamatuvar özelliği de olan trombin üretimini artırarak damar içi pıhtı oluşumuna neden olur. Sepsis sürecinde, IL-1 ve TNF $\alpha$ , ayrıca güçlü bir fibrinoliz inhibitörü olan, "plazminojen aktivatör inhibitör-1" oluşumunu artırarak fibrinolizisin bozulmasına da neden olmaktadır. Bu iki farklı yolak damar içi pıhtı oluşumu ve mikrovasküler koagülopatiyeye yol açar.

Özetle septik şok hipotansiyon, mikrovasküler hasar, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) ile başta beyin, karaciğer, akciğer, kalp, böbrek olmak üzere vital organlara giden kan akımında azalma ve böylece birçok organda yetmezlikle sonuçlanan oldukça ölümcül bir patofizyolojik sürece sahiptir (Şekil-2.1), (28).



**Şekil-2.1:** Sepsiste organ yetmezliği ve ölüme yol açan inflamasyon ve koagülasyon kaskadında meydana gelen değişiklikler. APC, aktif protein C; PAF, platelet (trombosit) aktive edici faktör; TNF $\alpha$ , tümör nekrozis faktör  $\alpha$ ; IL-1, interlökin-1 (33).

## 2.5. Endotel ve Septik Şok

Kan damarlarının en iç tabakasını oluşturan endotel tabakası septik şok patofizyolojisinde anahtar role sahiptir.

Endotelden saliverilen NO, endotelin, prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) vasküler homeostazın düzenlenmesini sağlarlar. Endotelin damar düz kaslarını güçlü bir biçimde kasarken, NO ve PGI<sub>2</sub> damarlarda gevşeme yapar. Septik şokta mikroorganizmalardan saliverilen endotoksin, ekzotoksin gibi yapılar özellikle endoteli hedef alarak hasara uğratılmaktadırlar (39). Hayvan deneyleri (40) ve klinik çalışmalar (41) göstermektedir ki endotelden masif ve kontrolsüz bir biçimde saliverilen NO ve endotelin septik şok patogeneğinde rol alan iki önemli mediyatördür (Şekil-2.2), (42).



**Şekil-2.2:** Sepsis patofizyolojisi, endotel hasarının rolü.

Yapılan çalışmalar sonucunda septik şoktaki hastaların etyolojiden bağımsız olarak benzer klinik özellikler gösterdiği tespit edilmiştir. Birbirini takip

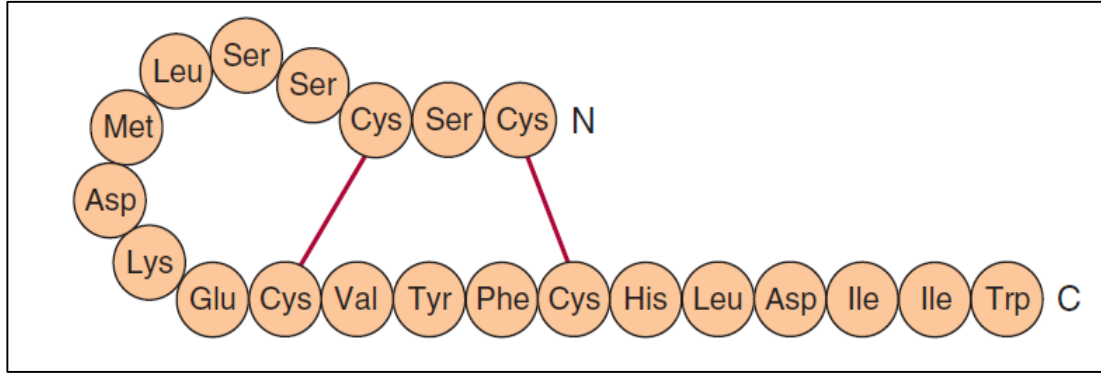


eden ve birbirinden zıt karakteristik özelliklere sahip olan, hiperdinamik ve hipodinamik dönemler diye adlandırılan bu evreler septik şokun patofizyolojik sürecini yansıtırlar (43). Hiperdinamik dönem; "erken", "kompanse", "sıcak" dönem olarak da adlandırılabilir. Hipodinamik dönem ise; "geç", "dekompanse", "soğuk" dönem olarak da adlandırılabilir. Hiperdinamik dönemde artmış olan NO'nun etkisiyle vazodilatasyon, vasküler rezistansta azalma, kalp debisinde artış olmaktadır (44). Hipodinamik dönemde ise artmış olan endotelinin etkisiyle vazokonstriksiyon, vasküler rezistansta artış, kalp debisinde azalma (45), vasküler geçirgenlikte artış, ekstrasvasküler alanlara sıvı kaybı olmaktadır (46). Endotelden salınan NO ve endotelinin septik şokun iki farklı döneminin sorumlu mediyatörleri olduğunun tespit edilmesiyle birlikte NO ve endotelin sentezi ve etkisi üzerine etki eden ilaçlar çok sayıda çalışmaya konu olmuşlardır.

### **2.5.1. Endotelin ve Septik Şok**

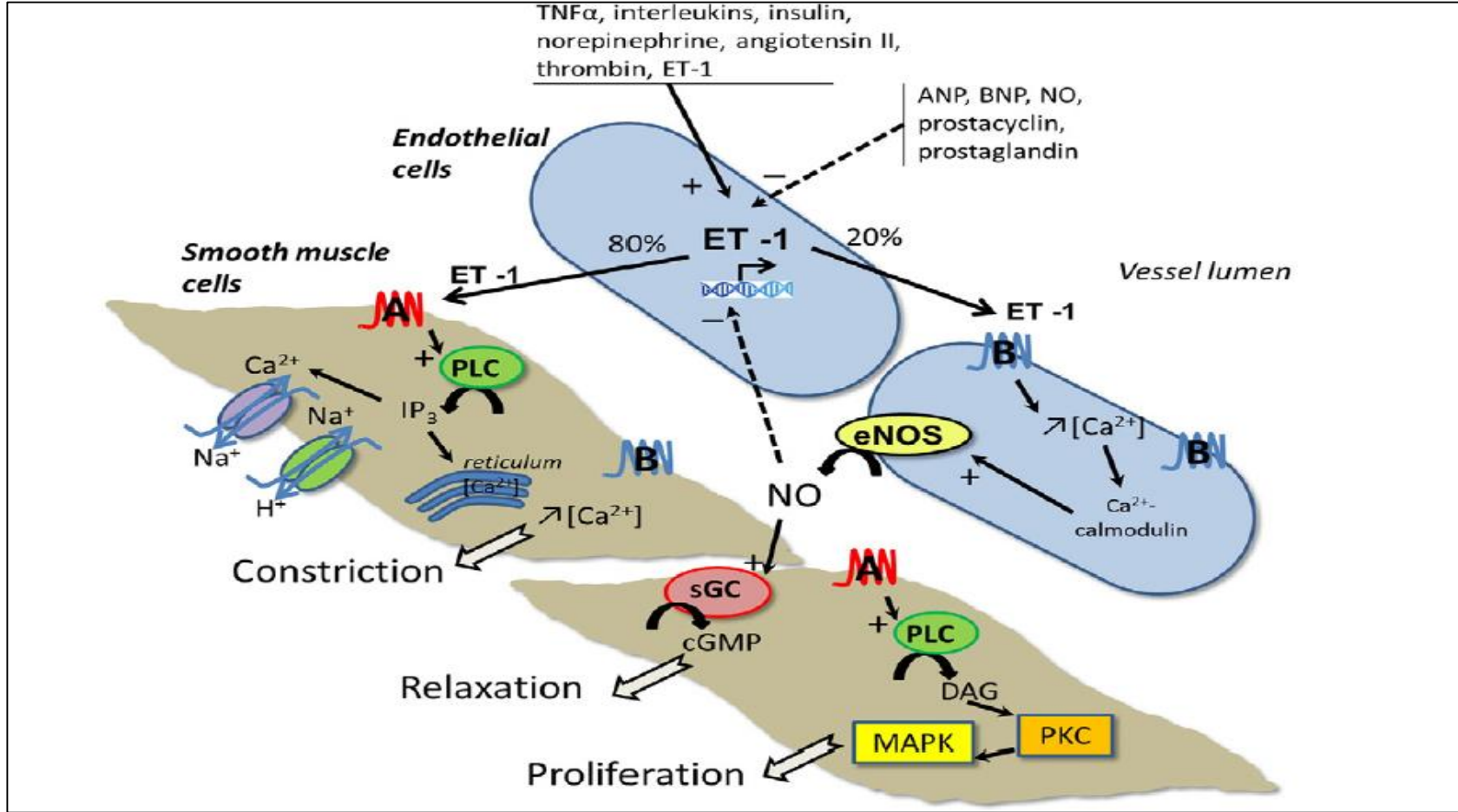
Endotelin 1988 yılında Yanagisawa tarafından domuz aortik endotel hücrelerinden izole edilmiştir (47).

Endotelinin ET-1, ET-2 ve ET-3 olmak üzere birbirine benzeyen 3 izoformu vardır. Her bir izoform farklı bir gen tarafından sentezlenmektedir. Üç izoform da prepropeptitden sentezlenen peptitlerdir. Vasküler endotelyumdan sentezlenen majör endotelin ET-1'dir (48). ET-2 özellikle böbreklerde ve bağırsaklarda bulunurken, ET-3 daha çok beyinde bulunmaktadır (49). İnsan plazma ve dokularında bulunan hakim form ET-1'dir (50). ET-1 oluşumu sırasıyla 212 aminoasit (aa) içeren prepropeptidin endopeptidaz aracılığıyla 38 aa içeren propeptide, propeptidin de EDE (endotelin dönüştürücü enzim) aracılığıyla 21 aa içeren ET-1 peptidine dönüşmesi şeklinde olur (51).



**Şekil-2.3:** ET-1'in yapısı.

Endotelinin ET-A ve ET-B olmak üzere 2 tip reseptörü vardır. Bu reseptörler G proteini ile ( $G_q$ ) kenetli reseptörlerdir (52,53). Damarlarda ET-A reseptörleri damar düz kas hücrelerinde eksprese edilirken ET-B reseptörleri ise endotel hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde eksprese edilmektedir. ET-A reseptörü ET-1'e daha yüksek afinite gösterir. ET-B reseptörü ise ET-1, ET-2 ve ET-3'e eşit afinite gösterir. ET-1 en potent vazokonstriktör maddelerden biridir. ET-1'in esas etkisi ET-A reseptörleri üzerinden damarların kasılması ve proliferasyonudur, daha zayıf etkisi ise ET-B reseptörleri üzerinden damarların gevşemesidir (54). ET-1, ET-A reseptörlerini uyararak fosfolipaz C enzimini aktive eder. Bu enzim de fosfatidilinozitol bifosfat ( $PIP_2$ )'in iki ayrı ikinci haberci ürüne, inozitol trifosfat ( $PIP_3$ ) ve diaçilgliserol (DAG)'e parçalanmasını katalize eder.  $IP_3$ , mitokondri ve endoplazmik retikulumdan  $Ca^{+2}$  iyonlarının serbestleştirerek ve  $Na^+/Ca^{+2}$  değiştiricisi aracılığıyla hücre içerisinde  $Ca^{+2}$  artışıını sağlar.  $Na^+/H^+$  değiştiricisi de hücre iini alkali hale getirerek  $Na^+/Ca^{+2}$  değiştiricisinin aktivitesini artırır (55).  $Ca^{+2}$ , kalmoduline bağlanarak miyozin kinazı aktive eder. Bu enzim de miyozin başını fosforilleyerek kas kasılmasını sağlar (56). DAG ise protein kinaz C'yi aktive ederek bir takım proteinleri fosforiller ve mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK) aracılığıyla damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu sağlar. ET-1'in ET-B reseptörlerini aktive edip NO sentezini artırarak damarlarda gevşeme yapması zayıf bir etkidir.  $TNF\alpha$ , IL'ler, Anjiyotensin II, ET-1, trombin ET-1 sentezini artırırken NO, ANP,  $PGI_2$  azaltmaktadır (Şekil-2.4), (54).

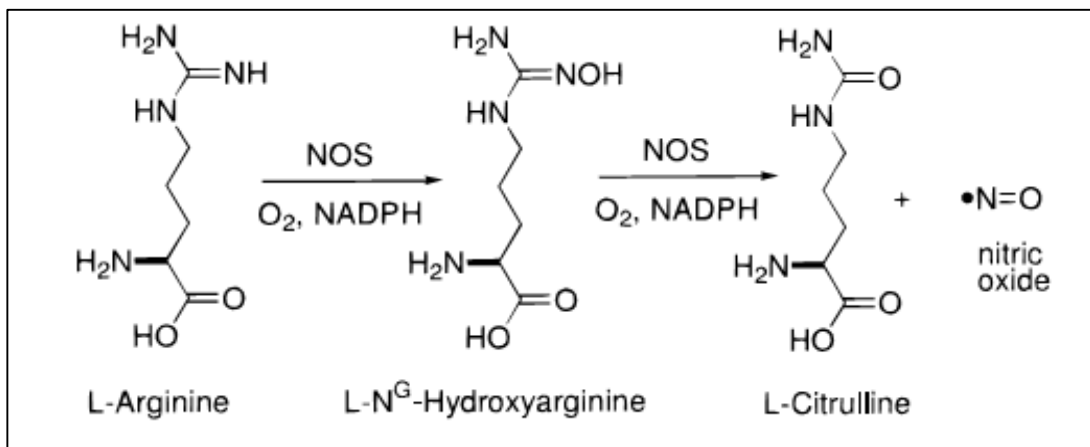


**Şekil-2.4:** ET-1'in sentezi, ekspresyonu, etki mekanizması. NO, nitrik oksit; eNOS, endotelial nitrik oksit sentaz; PLC, fosfolipaz C; sGC, solubl guanilat siklaz; IP<sub>3</sub>, inozitoltrifosfat; cGMP, siklik guanozin monofosfat; TNF $\alpha$ , tümör nekroz faktör alfa; ANP, atrial natriüretik peptid; BNP, beyin natriüretik peptid (54).

### 2.5.2. Nitrik Oksit ve Septik Şok

NO, suda ve yağda çözünürlüğü oldukça yüksek olan dolayısıyla membranlardan kolaylıkla difüze olabilen, 3-5 saniye gibi oldukça kısa bir yarı ömre sahip olan, bir azot ve bir oksijen atomu içeren ayrıca esterleşmemiş bir elektrona sahip olan, küçük, yüksüz, renksiz bir maddedir. NO, atmosferde kirlenici role sahip, sigara dumanı ve egzoz gazlarında tespit edilen ve karsinojenik özelliği olan N-nitrozamin türevlerine dönüşerek zararlı etkiler gösterebilmektedir. Ancak NO'nun birçok memeli hücresinde sentezinin gösterilmesiyle birlikte, NO'nun birçok fizyolojik ve patolojik olayda rolü olduğu gösterilmiştir (57-59).

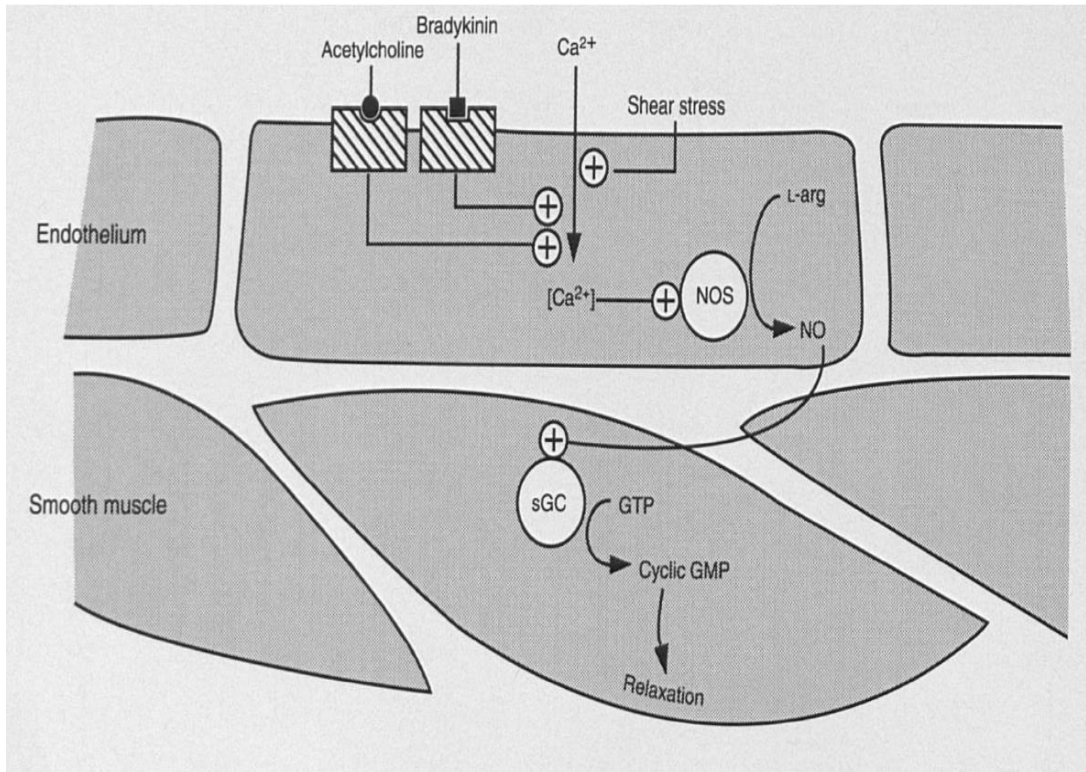
NO, sitokrom p-450 redüktaz enziminin homoloğu olan, NOS (nitrik oksit sentaz) enzimi aracılığıyla, birbirinden bağımsız iki monooksijenizasyon reaksiyonu ile sentezlenmektedir. Yan ürün olarak L-sitrüllin oluşur. NO sentezi düşük miktarda ve devamlı olarak gerçekleşmektedir. L-Arjinin seviyesi sürekli salıverilen NO sentezi için yeterlidir. NO sentezinde yan ürün olarak oluşan L-sitrüllin, bir azotla birleşerek tekrar L-Arjinine dönüşür ve bu suretle de L-Arjinin temin edilmiş olur. L-Arjinin'den NO sentezinde, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP), kalmodulin, oksijen ve dört kofaktör (hem, flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve tetrahidrobiopterin (BH<sub>4</sub>) görev almaktadır (Şekil-2.5), (60,61).



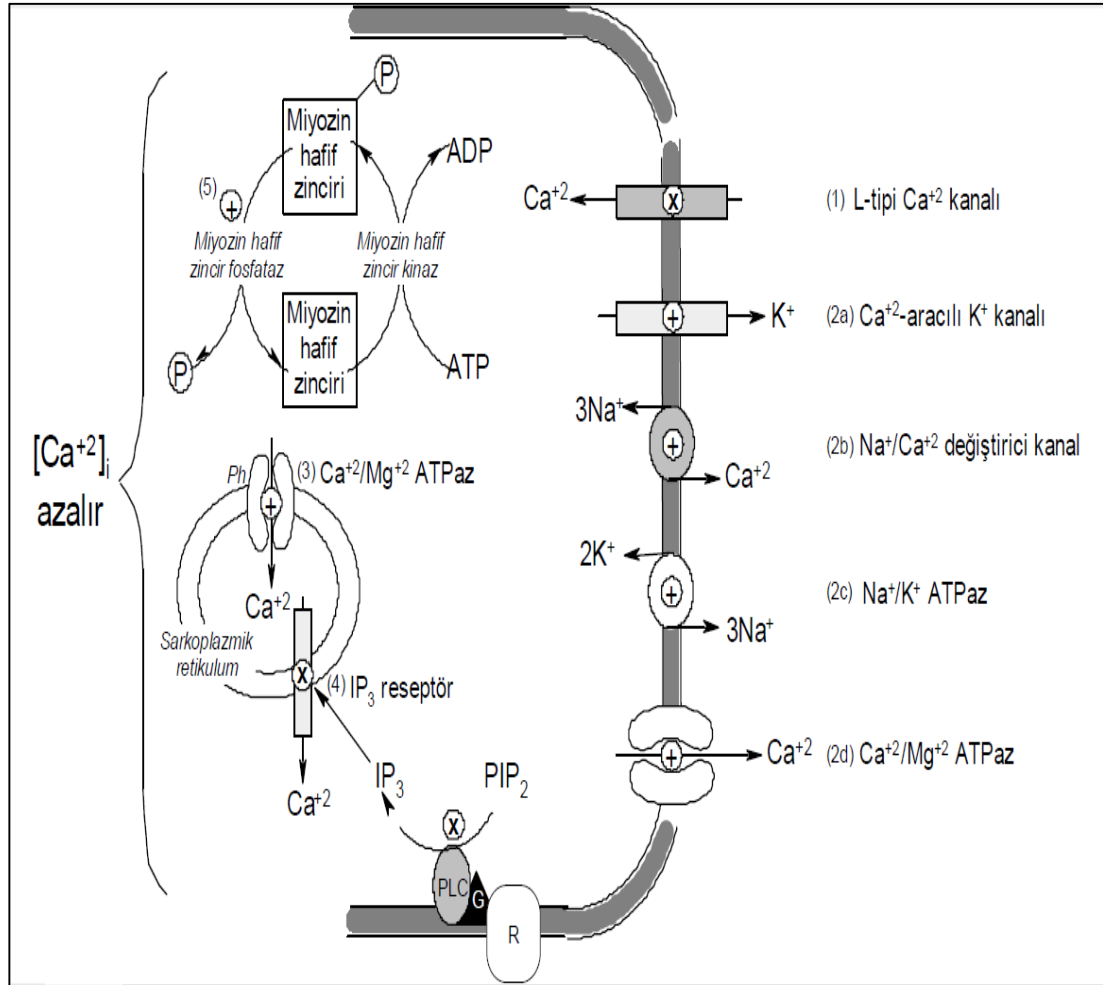
Şekil-2.5: NO sentezi (60).

Nitrik oksit sentezini katalizleyen NOS enziminin 3 izoformu vardır; nöronal NOS (nNOS, NOS1), indüklenebilir NOS (iNOS, NOS2) ve endotelial NOS (eNOS, NOS3). eNOS ve nNOS konstitütif olarak hücrelerden eksprese edilirken iNOS indüklenecek şekilde eksprese edilmektedir. nNOS nöronlarda, eNOS ise vasküler endotel hücrelerinde, trombositlerde, kardiyak miyositlerde, mast hücrelerinde, nötrofillerde konstitütif olarak eksprese edilirler, alt birim olarak  $Ca^{+2}$ /kalmodulin kompleksine ihtiyaç duyarlar. nNOS ve eNOS devamlı olarak NO salıverilmesini sağlarlar, kan akımının hızlanması yani "shear stress (sürtünme stresi)" gibi fiziksel faktörler bu enzimlerin aktivasyonundaki en önemli etkidir. Bununla birlikte asetilkolin, bradikinin, histamin, serotonin gibi endojen maddeler de aktivasyona katkı sağlayan faktörlerdir. Bu enzimlerin aktivasyonu sonucu oluşan NO düşük miktardadır (pmol) ve daha çok fizyolojik etkiler göstermektedir. iNOS ise özellikle makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerden ayrıca damar düz kas hücrelerinden, damar endotelinden, kardiyak miyositlerden, hepatositlerden, hava yolu epitel hücrelerinden indüklenecek şekilde eksprese edilmektedir. Bu enzim özellikle sitokinler, endotoksinler, oksidanlar tarafından indüklenebilir. iNOS aktivasyonu sonucu çok daha yüksek miktarda NO oluşmaktadır (nmol) ve daha çok patolojik etkiler göstermektedir. nNOS ve eNOS aktivasyon için  $Ca^{+2}$ 'a ihtiyaç duyarken iNOS'un aktivasyonu  $Ca^{+2}$ 'dan bağımsızdır (62,63).

NO'nun esas etkisi cGMP aracılığıyla vazodilatasyondur. Bunun için NO endotel hücreleri tarafından sentezlendikten sonra difüzyonla düz kas hücrelerine geçerek guanilat siklaz enzimini aktive eder. Böylece cGMP seviyesi artmış olur. cGMP ise hücre içi  $Ca^{+2}$  düzeyini azaltarak ve protein kinaz G üzerinden miyozin hafif zincirinin defosforilasyonuna neden olarak damar düz kaslarında gevşeme yapar (Şekil-2.6, Şekil-2.7), (64-68).



**Şekil-2.6:** NO sentezi ve etki mekanizması (67).



**Şekil-2.7:** cGMP aracılığıyla gerçekleştiği düşünülen vasküler düz kas gevşemesinin mekanizması. cGMP,  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonunu ve kontraktil aparatın  $\text{Ca}^{2+}$  'a hassasiyetini düşürerek düz kas gevşemesini sağlamaktadır. cGMP, L-tipi  $\text{Ca}^{2+}$  kanallarından  $\text{Ca}^{2+}$  girişini engelleyerek (1) ve  $\text{Ca}^{2+}$  pompalayan ATPaz (2d) ve  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  değiştirici kanallar (2b) aracılığıyla hücre dışına  $\text{Ca}^{2+}$  atılımını sağlayarak  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonunu azaltmaktadır. Ayrıca cGMP,  $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$  ATPaz (2c) ve  $\text{K}^{+}$  kanallarını (2a) aktive edip hiperpolarizasyona sebep olarak  $\text{Ca}^{2+}$  'un  $\text{Na}^{+}/\text{Ca}^{2+}$  değiştirici kanallarla atılımına, sarkoplazmik retikulumda (3)  $\text{Ca}^{2+}$  pompalayan ATPaz (Ph, fosfolamban) ile  $\text{Ca}^{2+}$  tutulmasında da aracılık yapabilmektedir. Ayrıca  $\text{IP}_3$  oluşumunu (4) ve sarkoplazmik retikulumdaki  $\text{IP}_3$  reseptörünü de inhibe etmektedir. cGMP bu etkiler neticesinde miyozin hafif zincir fosfatazı aktive edip 20kDa'lık miyozin hafif zincirini defosforile ederek damar düz kaslarında gevşeme yapmaktadır (65).

Septik şok patofizyolojisinde anahtar role sahip olan NO ve endotelin septik şokta birbirinden farklı karakteristik iki dönemin (hiperdinamik ve hipodinamik) oluşmasından sorumludurlar. Bundan dolayı septik şokta NO ve endotelinin etkisini azaltan ilaçların terapötik etkinliği, çok sayıda çalışmaya konu olmuştur (43,44,46,69).

NO etkisini azaltmak için sentezi sağlayan NOS enzimini inhibe eden NOS inhibitörü (NOSİ) ilaçlar geliştirilmiştir (70). Bu ilaçlardan bazıları;

**Tablo-2.3:** NOSİ ilaçlar

Non-selektif NOSİ	<b>L-NAME</b> (N <sup>G</sup> -nitro-l-arjinin metil ester)
	L-NMMA (N <sup>G</sup> -monometil-l-arjinin)
	L-NNA (NG-nitro-l-arjinin)
Selektif iNOSİ	L-kanavanin
	Aminoguanidin
	İzotiyüüre
	1400W (N-3-aminometil-benzil-asetamidin)

Endotelinin etkisini azaltmak için endotelin reseptörlerini bloke eden ilaçlar geliştirilmiştir (71-74). Bu ilaçlardan bazıları;

**Tablo-2.4:** Endotelin reseptör antagonisti ilaçlar

Non-selektif antagonistler	<b>Bosentan</b> , tezosentan, masitentan
Selektif ET-A reseptör antagonistleri	Sitaksentan, ambrisentan, atrasentan, BQ-123, zibotentan
Selektif ET-B reseptör antagonistleri	BQ-788, A192621



Daha önceki çalışmalarda ilaçların deneysel septik şok modellerinde sağkalım, mezenterik iskemi, organ hasarı ve kardiyak fonksiyonlar üzerine olan etkileri araştırılmıştır (39,42,75-78). Bu çalışmalar genellikle *in vivo* çalışmalardır.

L-NAME, deneysel septik şok modellerinde sağkalımı artıramamıştır (69), azalmış mezenterik kan akımını ise artırmıştır (79), bununla birlikte karaciğer, pankreas gibi organlarda meydana gelen hasarı daha da artırmıştır (77). L-NAME, sepsiste azalan kalp debisini daha da azaltmıştır, artan pulmoner vasküler rezistansı (PVR) ve sistemik vasküler rezistansı (SVR) daha da artırmıştır, hiperdinamik dönemde artan kalp hızını daha da artırmıştır (75).

Bosentan, deneysel septik şok modellerinde sağkalımı artırmıştır (76), azalmış mezenterik kan akımını artırmıştır (42), bununla birlikte karaciğer, böbrek ve dalak gibi organlarda meydana gelen hasarı düzeltmiştir (76). Bosentan, sepsiste azalan kalp debisini anlamlı olarak artırmıştır, artan PVR ve SVR'yi azaltmıştır, kalp hızına ise anlamlı bir etkisi olmamıştır (78).

Septik şokta bosentan ve L-NAME'nin kardiyak fonksiyonlar (kalp hızı, kalp debisi gibi) üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok *in vivo* çalışmalardır. Bu tez çalışmasında ise kalp kaslarının kasılması, kalp hızı gibi fonksiyonlar *in vitro* deney preparatlarında değerlendirilmiştir.

## 2.6. Deneysel Septik Şok Modelleri

Bilimsel araştırmalarda kullanılan deneysel septik şok modelleri esasen 3 ana başlık altında toplanabilir; 1- LPS uygulanmasıyla oluşturulan deneysel septik şok modeli, 2- Bakteri infüzyon modeli, 3- Peritonit modeli.

### 2.6.1. LPS Uygulanmasıyla Oluşturulan Deneysel Septik Şok Modeli

Gram-negatif bakterilerin hücre duvarındaki endotoksinin yapısında proteinler, lipidler, lipoproteinler ve lipopolisakkarit (LPS) yer almaktadır. Endotoksin ısıya dirençli yüksek molekül ağırlıklı bir maddedir. Endotoksin içerisindeki LPS bileşeni, endotoksikoz oluşturmakta kullanılan, dayanıklı

yapısı ile liyofilize halde depolanabilen, genelde liyofilize toz halinde ticari olarak temin edilebilen, gerektiğinde bolus veya sürekli infüzyon şeklinde uygulanabilen ve bu nedenlerle sepsis çalışmalarında sıklıkla tercih edilen bir moleküldür. LPS, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi birçok gram-negatif bakteriden elde edilmesine rağmen deneysel septik şok çalışmalarında özellikle *E. coli*'den elde edilen LPS'ler üzerine yoğunlaşmıştır. *E.coli*'den elde edilen LPS'lerin O26:B6, O55:B5, O111:B4 gibi farklı serotiplere sahip farklı suşlardan elde edilmiş türleri vardır (80,81). LPS'nin intraperitoneal (i.p.) veya i.v. olarak deney hayvanlarına verilmesi sepsis benzeri bir tablonun oluşmasına neden olmaktadır (82). Literatür incelendiğinde uygulanacak dozun 1 mg/kg ile 80-100 mg/kg aralığında geniş bir doz aralığına sahip olduğu gözlenebilir (42,83). Ayrıca hayvanların endotoksine verdiği cevap türler arasında büyük farklılıklar göstermekte, aynı tür içinde yaş, cinsiyet, ağırlık gibi faktörlerden de etkilenebilmektedir. İnsan, tavşan, koyun ve domuzlar LPS'ye karşı oldukça duyarlı iken sıçanlar ve babunlar gibi bazı türler LPS'nin etkilerine karşı göreceli olarak daha dirençlidir (84).

LPS ile deneysel olarak oluşturulan sepsis ile klinik sepsis arasında önemli farklar vardır (85,86). Klinikte sepsisli hastalarda sırasıyla hiperdinamik dönem ve hipodinamik dönem olmak üzere iki ayrı hemodinamik evre gözlenmektedir. Ancak LPS verilmesiyle oluşturulan deneysel septik şok modelinde çoğunlukla hiperdinamik dönem oluşmadan direkt olarak hipodinamik dönem gelişmekte ve inflamatuvar sitokinlerde hızlı fakat geçici bir yükseliş olmaktadır (82). Klinikte ise inflamatuvar sitokinlerdeki artış daha geç ve göreceli olmaktadır ve kandaki seviyeleri daha uzun süreli yüksek kalmaktadır (80). Klinik sepsiste TNF $\alpha$  ve IL-1 gibi sitokinlerdeki artış LPS uygulanmasıyla oluşturulan deneysel septik şok modelindeki kadar bariz değildir. TNF $\alpha$  antikorlarıyla TNF $\alpha$  blokajının sağlanması LPS uygulanmasıyla oluşturulan deneysel septik şok modelinde sağkalımda düzelme sağlarken klinik sepsiste düzelme sağlamamıştır (87).

LPS uygulanmasıyla oluşturulan deneysel septik şok modelinde sadece gram negatif bakterilerin neden olduğu sepsis tablosu oluşur. Bununla birlikte

burada klinikte olmadığı kadar vücut aşırı miktarda LPS'ye maruz kalmaktadır. Klinik sepsisle uyumsuzluk LPS uygulanmasıyla oluşturulan deneysel septik şok modelinin en önemli dezavantajıdır (88,89).

### 2.6.2. Bakteri İnfüzyon Modeli

Bu model türünde laboratuvar şartlarında elde edilmiş bakteri izolatları i.p. veya i.v. olarak hayvanlara verilmiştir. Daha çok *E.coli*, *Pseudomonas* gibi gram negatif bakteriler ve *S.aureus*, grup *B streptokok* gibi gram pozitif bakteriler kullanılmıştır (90). Ancak oluşan septik şok tablosu verilen bakterinin miktarına, cinsine, veriliş yoluna, veriliş süresine göre çok ciddi farklılıklar göstermektedir. Bu modelde verilen bakteri miktarı klinik sepsisteki bakteri miktarından oldukça fazla olmaktadır. Bu yüzden bazı çalışmalarda verilen bakteri miktarını azaltmak için feçes, müsin, fibrin, agar gibi yardımcı maddeler kullanılmıştır. Ancak bu maddelerle ve bakterilerle kontaminasyon riski modelin dezavantajıdır. Bununla birlikte klinik sepsisle uyumsuzluk, modeli sınırlandırmaktadır (81,90-92).

### 2.6.3. Peritonit Modeli

Peritonit modeli olarak esasen çekum bağlama ve delme (cecal ligation and puncture=CLP) metodu kullanılmaktadır. CLP modeli, insanlardaki rüptüre apandisitisi veya perfore divertiküliti taklit eden bir yöntem olmasından dolayı deneysel septik şok oluşturmak için oldukça sık kullanılan bir model olarak göze çarpmaktadır. Başlangıçta sıçanlar üzerinde geliştirilmiş bir yöntem olsa da fare, koyun ve domuz gibi diğer türlerde de başarı ile uygulanabilmektedir (81,92,93). CLP modelinde karın orta hattından yapılan 2 cm'lik bir insizyon ile çekum ortaya çıkarılmakta, ileoçekal valf distalinden çekum bağlanmakta ve 18, 20 veya 22 G (gauge) boyutlarındaki bir iğne ile çekumda iki delik oluşturularak fekal içeriğin batın içine geçmesi sağlanmaktadır (94-96). Kullanılan iğne kalınlığı, çekumun bağlanma yüzdesi ve hayvanın yaşı oluşan septik şok tablosunu etkileyebilmektedir. Bu durum az da olsa modeli sınırlandırabilir (80). CLP ile oluşturulan septik şok modelindeki sitokin seviyeleri klinik sepsisle benzer bir seyir göstermektedir (97). Ayrıca sepsiste görülen

erken hiperdinamik dönem ve geç hipodinamik dönemin ikisi de bu yöntemde izlenebilmektedir, yine kliniğe uygun olarak polimikrobiyal bir septik şok tablosu oluşumu söz konusudur (81,98). CLP modelinin invazif ve daha uzun süreli bir yöntem olmasına rağmen klinik sepsise en yakın model olmasından dolayı deneysel septik şok modelleri arasında en ideal yöntemdir (84,92). Bu nedenlerden dolayı bu tez çalışmasında deneysel septik şok modeli olarak CLP tercih edilmiştir.

## 2.7. Kalp Kası

Sağ atriyumda yer alan sinoatriyal (SA) düğüm, kendiliğinden uyarılabilme özelliği sayesinde kalpte otomatik ritmik deşarjlara ve kasılmalara neden olmaktadır. SA düğümden yayılan aksiyon potansiyelinin yayılma hızı, oluşan kasılmanın kuvveti ve hızı, gevşemenin oranı gibi kalp fonksiyonları otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Kalbin innervasyonunu sağlayan parasempatik lifler dorsal vagal çekirdek ve nükleus ambiguus'da yer alan hücre gövdelerinden köken alırlar. Normal istirahat durumunda buralarda yer alan hücreler tonik olarak aktiftirler, bu sayede kalpte vagal tonüs oluşur. Periferdeki baroreseptörlerden gelen afferent sinirler nükleus traktus solitarius'tan medullaya girerler ve vagal sinirlerin aktivitesini modüle ederler. Efferent vagal lifler (pregangliyonik lifler) ise kalbe sol vagus ve sağ vagus sinirleri olarak ulaşırlar. Pregangliyonik efferent lifler kalbin içinde veya kalbe yakın bir bölgede sinaps yaparak küçük bir gangliyon oluştururlar. Bu gangliyondan çıkan kısa postgangliyonik lifler kalpte SA ve atriyoventriküler (AV) düğümleri, iletim yollarını, miyositleri ve koroner damarları innerve ederler. Sempatik sinir sistemine ait sinirler, ilk beş torasik segmentten çıkarlar (pregangliyonik lifler). Daha sonra medulla spinalisten laterale doğru sinaps yapmadan ilerlerler ve orta servikal gangliyon ile servikotorasik gangliyonda (stellat gangliyon) sinaps yaparlar. Liflerin büyük bir kısmı bu ganglionlardan çıkar ve kalbe sempatik sinir lifleri olarak girerler. Kalbe gelen postgangliyonik sempatik lifler SA ve AV düğümleri, iletim sistemini, kardiyak miyositleri ve koroner damarları innerve ederler (99). Sempatik sinirler kalbin tamamına dağılmış halde iken parasempatik sinirler ağırlıklı oranda SA ve AV

düğümde yer almaktadır, daha az miktarda her iki atriyumda ve çok daha az miktarda ventriküllerde yer almaktadır (95). Sıçan atriyumunda sempatik sistemle ilgili  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  ve  $\beta_3$ -adrenerjik reseptörler bulunmaktadır. SA düğümünün bulunduğu sağ atriyumda hem sayı hem de fonksiyon açısından baskın olan adrenerjik reseptör alt tipi  $\beta_1$ -adrenerjik reseptörlerdir (56).  $G_s$ -proteini ile kenetli bu reseptörlerin siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerini artırarak oluşturdukları stimülatör etki oluşturmasıyla pozitif inotropi, pozitif kronotropi, pozitif dromotropi ve pozitif batmotropi görülür.  $\beta_1$ -adrenerjik reseptörler kalpte esas olarak kronotropik etkiden sorumludurlar (100). Parasempatik sinir sisteminin deşarjına bağılı olarak saliverilen asetilkolin, kalpte muskarinik reseptörler aracılığıyla etki gösterir. Muskarinik reseptörler  $M_1, M_2, M_3, M_4$  ve  $M_5$  olmak üzere 5 alt tipi vardır. Kalpte esas olarak bulunan muskarinik reseptör alt tipi  $M_2$  muskarinik reseptör alt tipidir. Atriyumlarda sadece  $M_2$  muskarinik reseptör alt tipi bulunurken, ventriküllerde az oranda da olsa  $M_1$  ve  $M_5$  muskarinik reseptörlerine de rastlanmıştır (101).  $M_2$  muskarinik reseptörleri  $G_i$ -proteini ile kenetli olan reseptörlerdir. cAMP düzeylerini azaltarak negatif inotropi ve negatif kronotropi meydana getirirler (100).

Septik şokta adrenerjik ve muskarinik reseptörlerin değişimi ile ilgili daha önce yapılmış olan çalışmalarda çelişkili sonuçlar vardır. Yapılan bazı çalışmalarda deneysel septik şok modellerinde  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin sayısında artış ve afinitesinde azalma saptanırken, muskarinik reseptörlerin sayısında ve afinitesinde değişiklik saptanmamıştır (102). Bununla birlikte bazı çalışmalarda da  $\beta$ -adrenerjik reseptörlerin sayısında azalma saptanmıştır (103). Bununla birlikte özellikle  $\beta_3$ -adrenerjik reseptörlerin septik şokta upregüle olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (104). Daha önce yapılan bu çalışmalarda kullanılan deneysel septik şok modeli genellikle endotoksin verilmesiyle oluşturulan modellerdir.

### **2.7.1. Sıçan İzole Sağ-Sol Atriyum ve Ventrikül Papiller Kas Preparatları**

İzole sağ-sol atriyum ve ventrikül papiller kas preparatları düzenli yapıdadırlar, kolay hazırlanabilirler ve çeşitli farmakolojik ajanlara hızlıca

cevap verebilen bir sinsityum gibi işlev görürler. Atriyal kas preparatı otonom sinir sistemine ait reseptörler açısından zengin olduğundan, otonomik yanıtların ve bu yanıtların modülasyonunun incelenmesi için değerli bir preparattır. Uygun olarak hazırlanmış bir atriyum preparatı, organ banyosunda 3-5 saat boyunca canlı kalabilmektedir. İzole sağ atriyum ve sağ-sol atriyum preparatlarının, izole sol atriyum preparatına göre bazı avantajları vardır. Sağ atriyumda yer alan SA düğümünden dolayı sağ atriyum spontan olarak kasılabilmektedir. Bundan dolayı sağ atriyumun dahil olduğu preparatlarda görülen spontan kalp atımı doku canlılığı için yerleşik bir kontrol olarak değerlendirilir. Kronotropik etkinin inceleneceği çalışmalarda sağ atriyum preparatları tercih edilirken, kalbin pompa fonksiyonunu yansıtan inotropinin değerlendirileceği durumlarda özellikle ventrikül papiller kas preparatı veya izole sol atriyum kas preparatı tercih edilmektedir (105).

## **2.8. Hipotez**

Endotelin ve NO, septik şokta kalp kası fonksiyonlarında değişikliklere neden olmaktadır.

## **2.9. Amaç**

Bu tez çalışmasında, sıçanda CLP ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde hiperdinamik ve hipodinamik dönemde kalp kası fonksiyonlarında meydana gelen değişiklikleri göstermek ve bu değişikliklerde NO ile endotelinin olası rollerini tespit etmek amaçlanmıştır. Bununla birlikte septik şokta meydana gelen kardiyak disfonksiyonda bosentan ve L-NAME'nin terapötik etkisi de araştırılmak istenmiştir.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Bu tez çalışmasında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı hayvan barınağından temin edilen ve ağırlıkları 200-300 g arasında değişen, 50 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar, standart laboratuvar yemi ve su ile *ad libitum* olarak beslenmiştir. Ayrıca hayvanlar  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'lik sıcaklıkta, %30-70 nem ve 12 saat karanlık/12 saat aydınlık döngüsü uygulanan ortamda barındırılmıştır.

#### 3.2. Etik Kurul İzni

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 03.09.2013 tarih ve 2013/42-01 karar numarası onayı alınarak, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmıştır.

#### 3.3. Deney Protokolü ve İlaç Uygulamaları

Sıçanlar, kontrol, c4 (hiperdinamik dönem, CLP işleminden 4 saat sonra) ve c20 (hipodinamik dönem, CLP işleminden 20 saat sonra) gruplarının yanısıra bosentan veya L-NAME uygulanmış c4+ bosentan, c4+ L-NAME, c20+ bosentan, c20+ L-NAME grupları oluşturulmuştur (Tablo-3.1). Çalışmada kullanılan 50 adet sıçanın dışında, ölen 7 adet sıçan deney protokolünden çıkarılmıştır.

**Tablo-3.1:** Deney grupları

1	Kontrol	kontrol
2	CLP 4. saat (hiperdinamik faz)	c4
3	CLP 20. saat (hipodinamik faz)	c20
4	CLP 4. saat+ Bosentan (30 mg/kg)	c4+ bosentan
5	CLP 20. saat+ Bosentan (30 mg/kg)	c20+ bosentan
6	CLP 4. saat + L-NAME (10 mg/kg)	c4+ L-NAME
7	CLP 20. saat + L-NAME (10 mg/kg)	c20+ L-NAME

c4 grubundaki hayvanların CLP işleminden 4 saat sonra, c20 grubundaki hayvanların CLP işleminden 20 saat sonra, kontrol grubu hayvanların ise doğrudan atriyum ve ventrikül papiller kasları çıkarılarak organ banyolarına yerleştirilmiştir. c4+ bosentan, c4+ L-NAME gruplarındaki hayvanlara CLP işleminden 2 saat sonra grubuna göre bosentan (30 mg/kg, i.p.) veya L-NAME (10 mg/kg, i.p.) uygulaması yapılmıştır, CLP işleminden 4 saat sonra ise atriyum ve ventrikül papiller kasları çıkarılarak organ banyolarına yerleştirilmiştir. c20+ bosentan, c20+ L-NAME gruplarındaki hayvanlara CLP işleminden 2 saat sonra grubuna göre bosentan (30 mg/kg, i.p.) veya L-NAME (10 mg/kg, i.p.) uygulaması yapılmıştır, CLP işleminden 20 saat sonra ise atriyum ve ventrikül papiller kasları çıkarılarak organ banyolarına yerleştirilmiştir.

### 3.4. CLP (Caecal Ligation and Puncture, Çekum Bağlama ve Delme)

CLP işlemi için öncelikle sıçanlar kloralhidrat (400 mg/kg, i.p.) ile anestezi altına alındı, anestezi derinliği parmak veya deri kıstırmaya yanıt ile değerlendirildi. Anestezi sağlandıktan sonra batın alt kadrantların orta hattından sagittal olarak 2-3 cm uzunluğunda sırasıyla cilt ve periton kesilerek abdominal insizyon yapıldı (Şekil-3.1). Bağırsaklar görünür hale getirildi. Abdominal insizyon sırasında en az düzeyde travma oluşturulmaya dikkat edildi. Deri ve karın ön duvarı forsepsle gerilerek sabitlendi. Daha sonra çekum bağırsakların anatomik düzlemlerine dikkat edilerek herhangi bir dönmeye izin



verilmeden steril cerrahi bez üzerine alındı. Bağırsak içeriği çıkan kolondan çekuma doğru yapılan masajla itilerek çekumun fekal içerikle dolması sağlandı. Gergin hale getirilen çekum, ileoçekal valf ve çıkan kolon tekrar tespit edildikten sonra ileoçekal valf altından ve çekum distal ¼'ünden, 3/0 cerrahi iplikle, fekal içeriğin terminal ileumdan çıkan kolona doğru olan seyirini engellenmeyecek biçimde bağlandı (Şekil-3.2). Daha sonra bağlı olan kısmın 2 cm distalinde kalan çekum bölümü 18 G iğne ile antimezenterik serozal yüzden iki ayrı noktadan delindi (Şekil-3.3) ve çekum masajı yapılarak çekum içeriğinin bağırsak lümeni dışına serbestlenmesi sağlandı (Şekil-3.4). Perforasyon oluşturulması esnasında çekum duvarındaki kılcal damarların zedelenmemesine dikkat edildi ve bağırsak duvarından kanama olup olmadığı kontrolü yapıldı. Daha sonra çekum dikkatlice anatomik pozisyonuna yerleştirildi ve batın aseptik olarak iki tabaka halinde 3/0 cerrahi iplikle suture edildi (Şekil-3.5, Şekil-3.6). Cerrahi işlemleri takiben 3ml/100g serum fizyolojik enseden cilt altına verilerek sıvı dengesinin sağlanması amaçlandı (Şekil-3.7). Daha sonra her sıçan kendine ait kafesine bırakıldı ve anesteziden çıkış ve düzelme süreçleri takip edildi. CLP işleminden 2 saat sonra Bosentan (30 mg/kg, i.p.) veya L-NAME (10 mg/kg, i.p.) verilecek gruplara ilaç uygulaması yapıldı (Şekil-3.8).



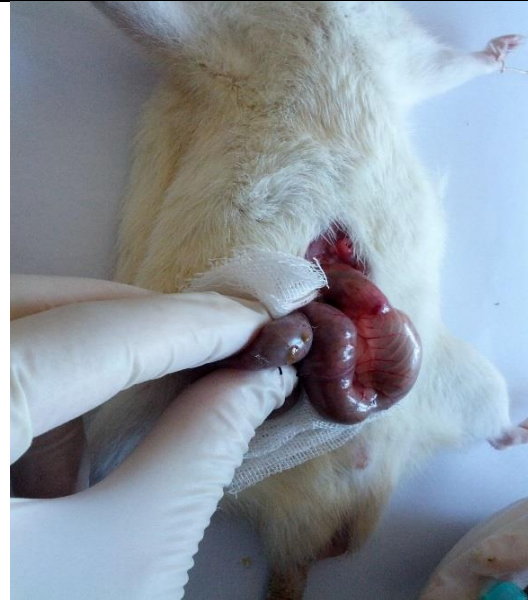
Şekil-3.1



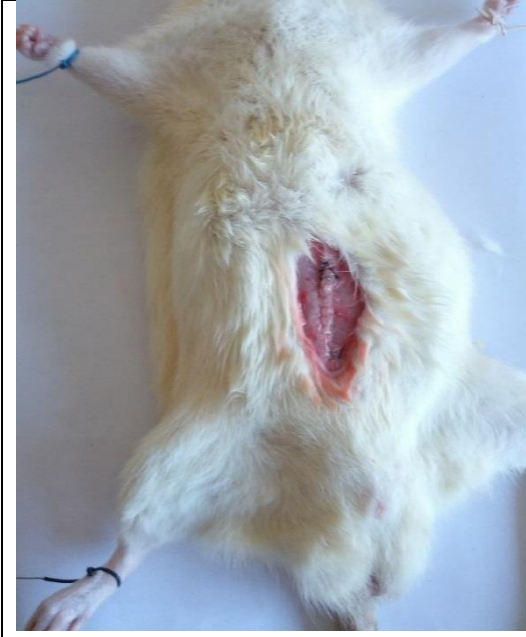
Şekil-3.2



Şekil-3.3



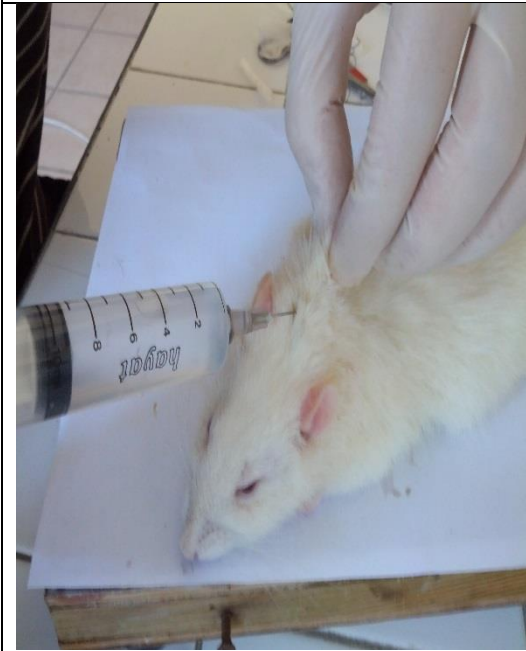
Şekil-3.4



Şekil-3.5



Şekil-3.6



Şekil-3.7



Şekil-3.8

### 3.5. Atriyum ve Ventrikül Papiller Kas Preparatlarının Hazırlanması ve Organ Banyolarına Asılması

c4, c4+ bosentan ve c4+ L-NAME gruplarında CLP işleminden 4 saat sonra, c20, c20+ bosentan, c20+ L-NAME gruplarında ise CLP işleminden 20 saat sonra sıçanlar eter ile anestezi altına alındı. Anestezi altındaki sıçanların her iki karotis arterlerinin kanatılmasından sonra, göğüs boşluğu açılıp spontan atan kalp çevre dokulardan izole edildi ve çıkan aort hizasından ana damarlarla olan bağlantıları kesilerek %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> karışımı ile gazlandırılan, 4°C'deki Modifiye Krebs solüsyonuna alındı. Sağ ve sol atriyum beraberce ventriküllerden ayrılarak, atriyumların her iki ucu ayrı olarak ipe bağlandı. Ayrıca sağ ventrikül içinde yer alan papiller kaslardan birisi dikkatli bir şekilde ventrikülün içinden alınarak papiller kasın her iki ucu ayrı olarak ipe bağlandı. Atriyum ve papiller kastaki bağlardan birisi cam tutucuların altındaki kanca kısmına oturtuldu. Hazırlanan preparatlar tutucular ile 10 ml hacminde, içinde Modifiye Krebs solüsyonu olan, %95 O<sub>2</sub> ve %5 CO<sub>2</sub> karışımı ile sürekli gazlandırılan ve 37±1°C'deki organ banyolarına yerleştirildi. Diğer uçları ise kuvvet transdüserine bağlandı. İzole atriyum ve papiller kas preparatlarına 0,5-0,75 g istirahat gerimi uygulandı ve 45-60 dakika dengelenme döneminin ardından kayıtlara başlandı. Bu süre içerisinde preparatlar her 15 dakikada bir taze solüsyon ile yıkandılar. Bununla birlikte papiller kas preparatına devamlı elektriksel alan stimülasyonu (EAS) uygulanacağı için papiller kas preparatı cam tutucunun ucundaki platin elektrodların tam arasına gelecek şekilde yerleştirildi. Papiller kas preparatına 1 pps (pulse per second, saniyede 1 pulse), 2 ms süreli, 80 volt şiddetinde devamlı olarak EAS uygulandı. Biopac Systems MP150 aracılığıyla atriyum atım hızı, atriyum kasının kasılma amplitüdü ve papiller kasın kasılma amplitüdü bilgisayara kaydedildi. 45-60 dakika boyunca her 15 dakikada bir taze solüsyon ile yıkanan preparatların maksimum kasılmaları ve atriyumun maksimum kasılma hızı not edildi. Not edilen bu değerler bu preparatların normal fonksiyonu olarak kaydedildi. Bu kayıtlardan sonra her iki preparata artan dozlarda izoproterenol (10<sup>-10</sup> M, 3x10<sup>-10</sup> M, 10<sup>-9</sup> M, 3x10<sup>-9</sup> M ... 10<sup>-5</sup> M, 3x10<sup>-5</sup> M) uygulaması yapıldı. İncelenen parametrelerdeki değişiklikler kaydedildi. Kayıtlar alınırken verilen herhangi bir

doz sonrası artan kasılma veya hız plato çizene kadar beklendi ve sonrasında diğer doza geçildi. İsoproterenol cevapları alındıktan sonra preparatlar 45-60 dakika boyunca dinlenmeye bırakıldı, bu arada her 15 dakikada bir preparatlar taze solüsyonla yıkandı. Bu dönemden sonra her iki preparata artan dozlarda karbakol ( $10^{-10}$  M,  $3 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-9}$  M,  $3 \times 10^{-9}$  M ...  $10^{-5}$  M,  $3 \times 10^{-5}$  M) uygulaması yapıldı. Bakılan parametrelerdeki değişiklikler kaydedildi. Kayıtlar alınırken verilen herhangi bir doz sonrası artan kasılma veya hız plato çizene kadar beklendi ve sonrasında diğer doza geçildi. Karbakol cevapları alındıktan sonra deney sonlandırıldı. İzoproterenol ve karbakol doz-cevap eğrileri elde edildikten sonra  $EC_{50}$  değerleri hesaplandı.

İn vitro organ deneylerinde her preparat için bütün parametrelerin değerlendirilebilmesi mümkün olmayabilir. Bu yüzden her bir parametre için incelenen preparat sayısı farklı olabilmektedir, bulgular kısmında preparat sayısı (n) ayrı ayrı belirtilmiştir.

### 3.6. Deneylerde Kullanılan Çözelti ve İlaçlar

Organ banyosu çalışmalarında fizyolojik solüsyon olarak Modifiye Krebs-Henseleit solüsyonu (mM: NaCl 118, KCl 4.7,  $MgSO_4$  1.2,  $CaCl_2$  2,  $KH_2PO_4$  1.2,  $NaHCO_3$  25, Glukoz 10) kullanıldı.

Deneylerde Bosentan (Dr. Martine Clozel tarafından temin edildi, F. Hoffman La Roche, Basel, İsviçre), L-NAME (Sigma Chemical Co, St.Louis, MO, ABD), (-)-isoproterenol hidroklorür (Sigma Chemical Co, St.Louis, MO, ABD) ve karbakol (Sigma Chemical Co, St.Louis, MO, ABD) kullanıldı. Kimyasalların stok çözeltileri, distile suda çözülerek hazırlandı. Dilüsyonlar stok çözeltilerden günlük olarak hazırlandı.

### 3.7. Verilerin Değerlendirilmesi

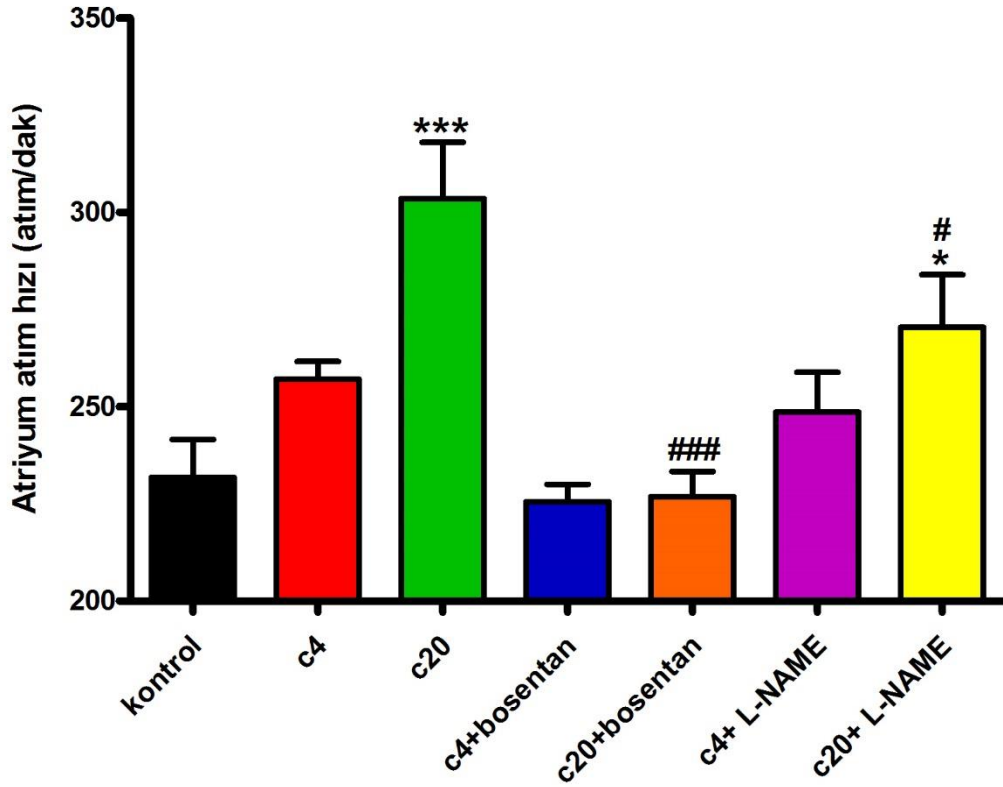
Bulgular aritmetik ortalama  $\pm$  standart hata (S.H.) olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel analizi, iki yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrası *post hoc* Bonferroni testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile yapıldı.  $EC_{50}$  değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA

sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Hesaplanan p değerinin 0,05'den küçük olduğu durumlarda farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Kontrol ve Septik Şok Gruplarındaki Sıçanlardan İzole Edilen Atriyumların Bazal Atım Hızları

Atriyum bazal atım hızı, hiperdinamik septik şokta değişmezken, hipodinamik septik şokta artmıştır ( $p<0,001$ ). Bosentan ve L-NAME atriyum atım hızını, hiperdinamik dönemde etkilemezken hipodinamik dönemde azaltmışlardır (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p<0,001$ ,  $p<0,05$ ). Ancak L-NAME'nin hipodinamik dönemde meydana getirdiği azalma sonucunda elde edilen değer, kontrol grubu değerinin üzerinde olmuştur ( $p<0,05$ ), (Şekil-4.1).

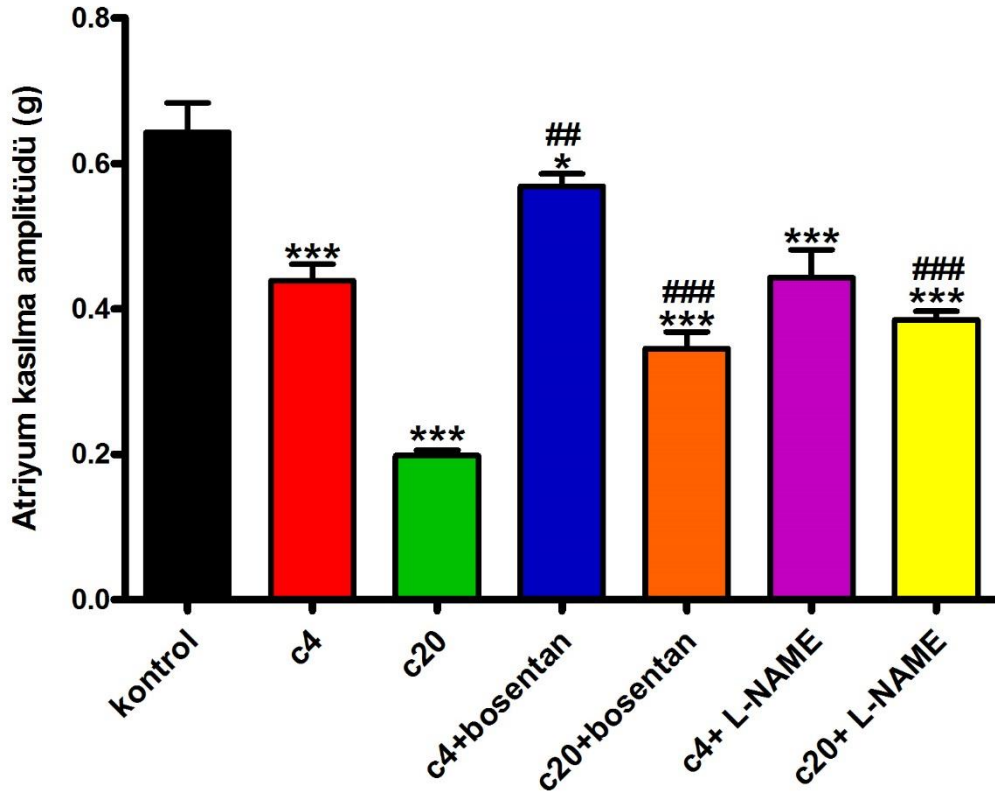


**Şekil-4.1: İzole sıçan atriyum preparatlarında bazal atım hızları.** Atriyum atım hızı, hiperdinamik septik şokta değişmezken hipodinamik septik şokta artmıştır. Bosentan ve L-NAME hiperdinamik dönemde atriyum atım hızını, etkilememişlerdir. Hipodinamik dönemde ise bosentan atriyum atım hızını azaltırken, L-NAME kısmi bir azalma gerçekleştirmiştir. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılık; #, c4 grubu ile c4+ bosentan, c4+ L-NAME grupları ve c20 grubu ile c20+ bosentan, c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (\*,# p<0,05; \*\*\*,###, p<0,001). Gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Bosentan ve L-NAME sırasıyla 30 mg/kg, i.p. ve 10 mg/kg, i.p. olarak uygulanmıştır. Gruplar için n= 6-7.



#### **4.2. Kontrol ve Septik Şok Gruplarındaki Sıçanlardan İzole Edilen Atriyumların Bazal Kasılma Amplitüdüleri**

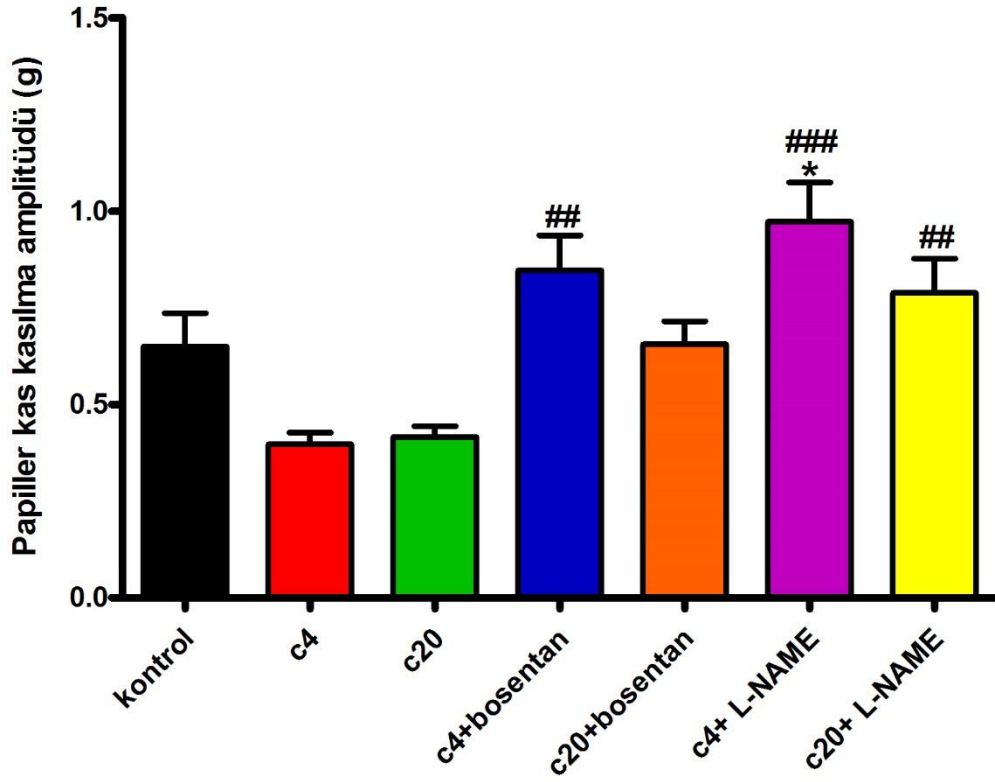
Atriyum bazal kasılma amplitüdü, hipodinamik septik şokta daha fazla olmak üzere hiperdinamik ve hipodinamik dönemde azalmıştır ( $p<0,001$ ). Hiperdinamik dönemde azalmış olan atriyum kasılma amplitüdünü, L-NAME etkilemezken, bosentan artırmıştır ( $p<0,01$ ) ancak bu artış sonucunda elde edilen değer kontrol grubu değerinin altında olmuştur ( $p<0,05$ ). Hipodinamik dönemde azalmış olan atriyum kasılma amplitüdünü ise bosentan ve L-NAME artırmışlardır ( $p<0,001$ ) ancak bu artış sonucunda elde edilen değerler kontrol grubu değerinin altında olmuştur ( $p<0,001$ ), (Şekil-4.2).



**Şekil-4.2: İzole sıçan atriyum preparatlarında bazal kasılma amplitüdüleri.** Atriyum kasılma amplitüdü, hipodinamik septik şokta daha fazla olmak üzere her iki dönemde azalma göstermiştir. Bosentan her iki dönemde de meydana gelen atriyum kasılma disfonksiyonunu kısmen düzeltirken, L-NAME sadece hipodinamik dönemdeki disfonksiyonu kısmen düzeltmiştir. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılık; #, c4 grubu ile c4+ bosentan, c4+ L-NAME grupları ve c20 grubu ile c20+ bosentan, c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (\*,  $p < 0,05$ ; ##,  $p < 0,01$ ; \*\*\*, ###,  $p < 0,001$ ). Gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterilmiştir. Bosentan ve L-NAME sırasıyla 30 mg/kg, i.p. ve 10 mg/kg, i.p. olarak uygulanmıştır. Gruplar için n= 6-7.

### **4.3. Kontrol ve Septik Şok Gruplarındaki Sıçanlardan İzole Edilen Ventrikül Papiller Kaslarının Bazal Kasılma Amplitüdüleri**

Papiller kasın bazal kasılma amplitüdü, hiperdinamik ve hipodinamik septik şokta değişmemiştir. Bununla birlikte hiperdinamik dönemde papiller kas kasılma amplitüdünde, bosentan ( $p<0,01$ ) ve L-NAME ( $p<0,001$ ) artış yapmışlardır, bununla birlikte L-NAME'nin meydana getirdiği artış sonucunda elde edilen değer kontrol grubu değerinin de üzerinde olmuştur ( $p<0,05$ ). Hipodinamik dönemdeki papiller kas kasılma amplitüdünü, bosentan etkilemezken, L-NAME artırmıştır ( $p<0,01$ ), (Şekil-4.3).



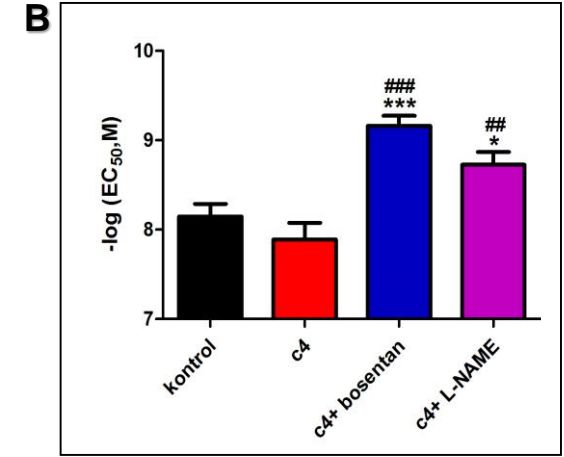
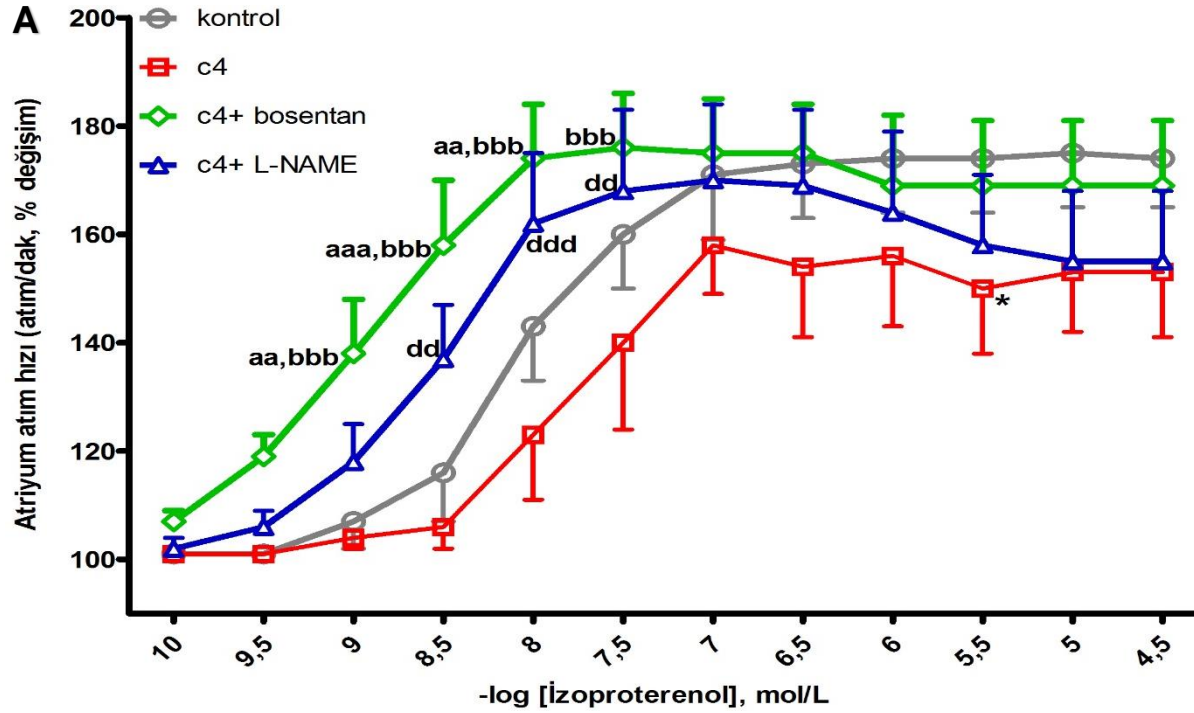
**Şekil-4.3: İzole sıçan papiller kas preparatlarında bazal kasılma amplitüdüleri.** Hiperdinamik ve hipodinamik dönemde papiller kas kasılma amplitüdü değişmemiştir. L-NAME her iki dönemdeki papiller kas kasılma amplitüdünde artış yaparken, bosentan ise sadece hiperdinamik dönemde artış yapmıştır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki anlamlılık; #, c4 grubu ile c4+ bosentan, c4+ L-NAME grupları ve c20 grubu ile c20+ bosentan, c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (\*,  $p<0,05$ ; ##,  $p<0,01$ ; ###,  $p<0,001$ ). Gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Bosentan ve L-NAME sırasıyla 30 mg/kg, i.p. ve 10 mg/kg, i.p. olarak uygulanmıştır. Gruplar için n= 6-9.

#### 4.4. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim

Hiperdinamik dönemde atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,05$ ) konsantrasyonunda azalmıştır. Bosentan hiperdinamik dönemde atriyum atım hızının izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $10^{-9}$  M ( $p < 0,001$ ),  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-8}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-8}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. Bosentan verilmiş hiperdinamik septik şok grubunda atriyum atım hızı cevabı, izoproterenolün  $10^{-9}$  M ( $p < 0,01$ ),  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $10^{-8}$  M ( $p < 0,01$ ) konsantrasyonlarında, kontrol grubu değerlerine göre daha fazla bulunmuştur. L-NAME ise hiperdinamik septik şokta atriyum atım hızının izoproterenol cevabını izoproterenolün  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p < 0,01$ ),  $10^{-8}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-8}$  M ( $p < 0,01$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır.

Atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. Bununla birlikte bosentan ve L-NAME verilmiş hiperdinamik septik şok gruplarında eğriler sola kaymıştır (Şekil-4.4A).

Hiperdinamik dönemde, bosentan daha fazla olmak üzere bosentan ve L-NAME, izoproterenolün atriyum atım hızına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50}, M)$  değerini artırmışlardır (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$ ). Bu artış neticesinde elde edilen değerler, kontrol grubu değerinin de üzerinde bulunmuştur (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$ ), (Şekil-4.4B).



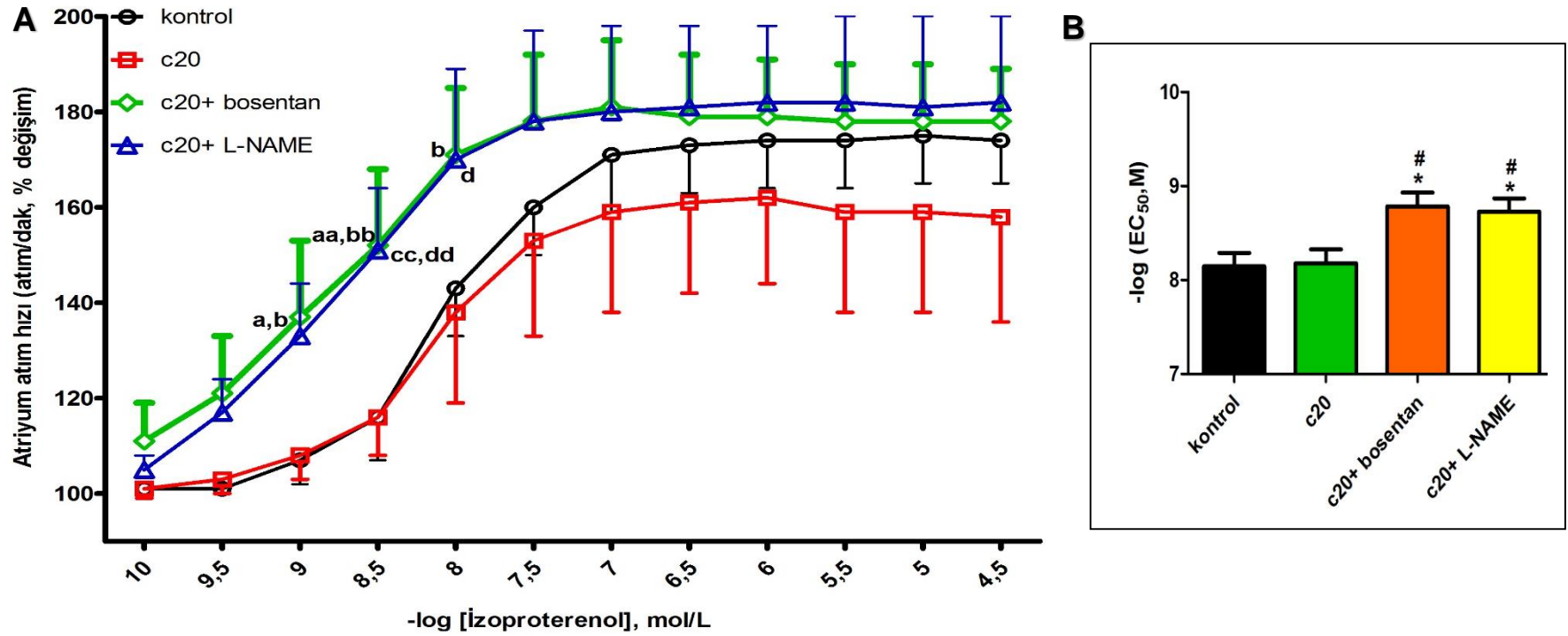
**Şekil-4.4: A, İzole atriyum atım hızının izoproterenol cevabı.** Hiperdinamik septik şokta spontan atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, İzoproterenolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** Hiperdinamik septik şokta bosentan daha fazla olmak üzere bosentan ve L-NAME izoproterenolün potensini artırmışlardır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c4 grupları arasındaki anlamlılık; a, kontrol ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; b, c4 ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; d, c4 ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (\*, p<0,05; aa,dd, p<0,01; aaa,bbb,ddd, p<0,001). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için n=6. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Gruplar için n= 4-6.

#### 4.5. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim

Atriyum atım hızının izoproterenol cevabı hipodinamik septik şokta değişmemiştir. Bosentan hipodinamik dönemde atriyum atım hızının izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $10^{-9}$  M ( $p<0,05$ ),  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p<0,01$ ) ve  $10^{-8}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. Bosentan verilmiş hipodinamik septik şok grubunda atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $10^{-9}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p<0,01$ ) konsantrasyonlarında, kontrol grubu değerlerine göre daha fazla bulunmuştur. L-NAME ise hipodinamik septik şokta atriyum atım hızının izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p<0,01$ ) ve  $10^{-8}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok grubunda atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $3 \times 10^{-9}$  M ( $p<0,01$ ) konsantrasyonunda kontrol grubu değerine göre daha fazla bulunmuştur.

Atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. Bununla birlikte bosentan ve L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok gruplarında eğriler sola kaymıştır (Şekil-4.5A).

Bosentan ve L-NAME, hipodinamik dönemde izoproterenolün atriyum atım hızına etkisi için hesaplanan  $-\log (EC_{50,M})$  değerini artırmışlardır (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ). Bu artış neticesinde elde edilen değerler kontrol grubu değerinin de üzerinde bulunmuştur (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p<0,05$ ,  $p<0,05$ ), (Şekil-4.5B).



**Şekil-4.5: A, İzole atriyum atım hızının izoproterenol cevabı.** Hipodinamik septik şokta spontan atriyum atım hızının izoproterenol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, İzoproterenolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** Hipodinamik septik şokta bosentan ve L-NAME izoproterenolün potensini artırmışlardır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. a, kontrol ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; b, c20 ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; c, kontrol ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; d, c20 ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (a,b,d,  $p < 0,05$ ; aa,bb,cc,dd,  $p < 0,01$ ). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için  $n=6$ . Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Gruplar için  $n= 4-6$ .

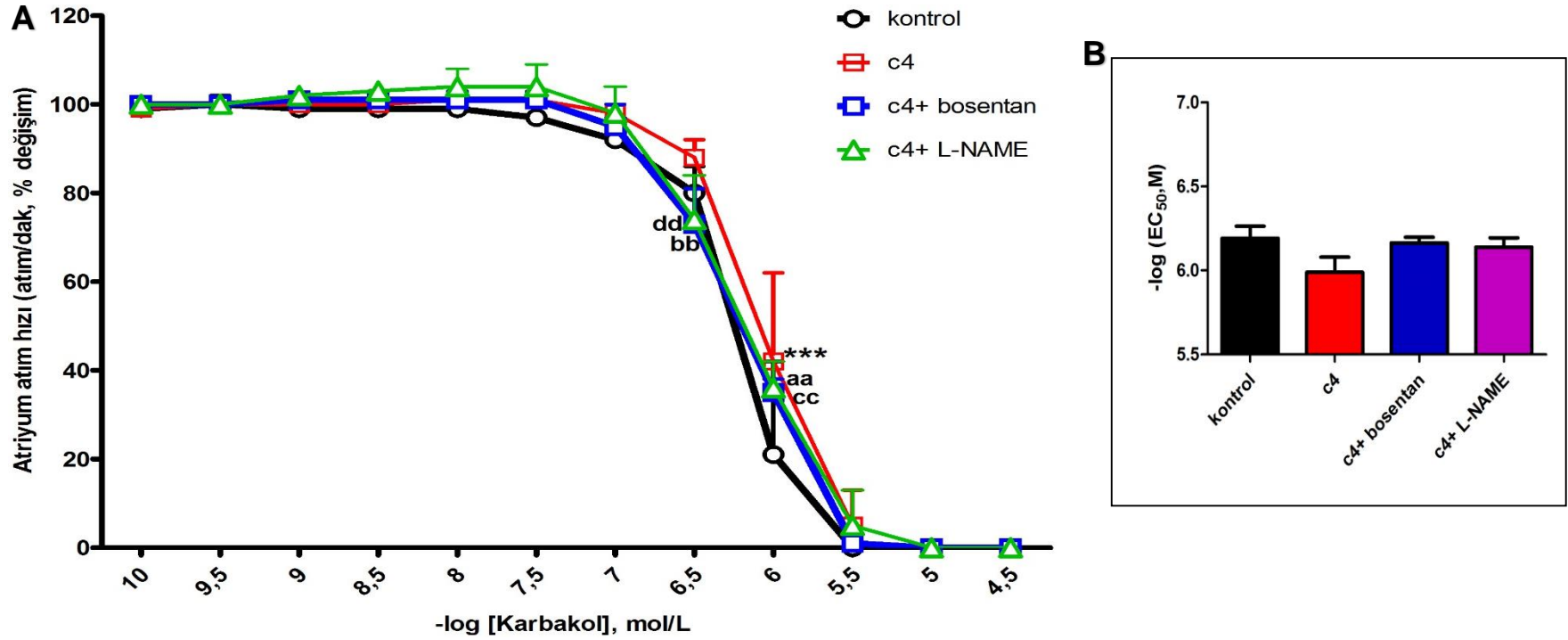


#### **4.6. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim**

Hiperdinamik septik şokta atriyum atım hızının karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M konsantrasyonunda azalmıştır ( $p < 0,001$ ). Bosentan ve L-NAME hiperdinamik dönemde atriyum atım hızının karbakol cevabını, karbakolün  $3 \times 10^{-7}$  M konsantrasyonunda artırmışlardır (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ). Bosentan ve L-NAME verilmiş hiperdinamik septik şok gruplarında atriyum atım hızının karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M konsantrasyonlarında kontrol grubu değerlerine göre daha az bulunmuştur (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ).

Atriyum atım hızının karbakol cevabı gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.6A).

Hiperdinamik septik şokta karbakolün atriyum atım hızına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50,M})$  değerleri, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.6B).



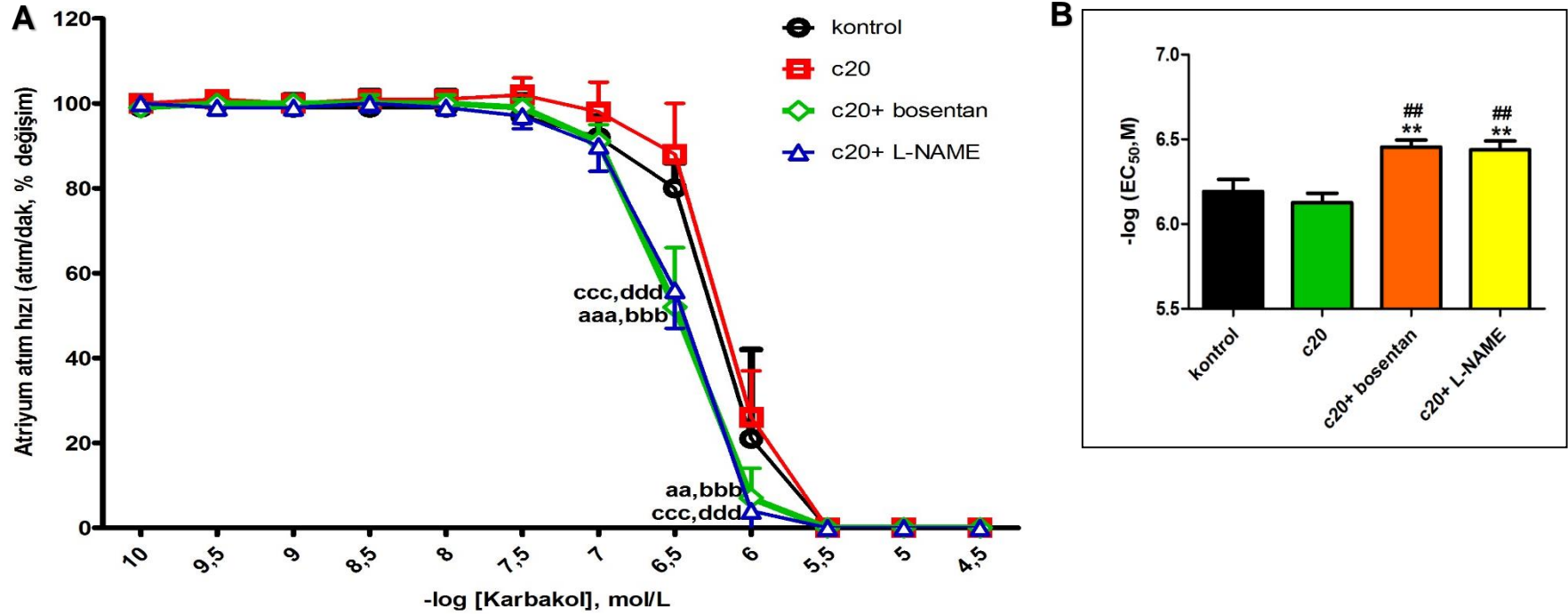
**Şekil-4.6: A, İzole atriyum atım hızının karbakol cevabı.** Hiperdinamik septik şokta spontan atriyum atım hızının karbakol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, Karbakolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** EC<sub>50</sub> değerleri gruplar arasında benzer bulunmuştur. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c4 grupları arasındaki anlamlılık; a, kontrol ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; b, c4 ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; d, c4 ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (aa,bb,cc,dd, p<0,01; \*\*\*, p<0,001). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar, iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark, tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için n=6.

#### **4.7. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Atım Hızlarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim**

Atriyum atım hızının karbakol cevabı, hipodinamik septik şokta değişmemiştir. Bosentan ve L-NAME hipodinamik dönemde atriyum atım hızının karbakol cevabını, karbakolün  $3 \times 10^{-7}$  M (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ) ve  $10^{-6}$  M (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında artırmışlardır. Bosentan ve L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok gruplarında atriyum atım hızının karbakol cevabı, karbakolün  $3 \times 10^{-7}$  M (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ) ve  $10^{-6}$  M (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubu değerlerine daha fazla bulunmuştur.

Atriyum atım hızının karbakol cevabı, gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında benzer bulunmuştur. Bununla birlikte bosentan ve L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok gruplarında eğriler sola kaymıştır (Şekil-4.7A).

Bosentan ve L-NAME, hipodinamik septik şokta karbakolün atriyum atım hızına etkisi için hesaplanan  $-\log (EC_{50,M})$  değerini artırmışlardır (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ). Bu artış neticesinde elde edilen değerler kontrol grubu değerinin de üzerinde bulunmuştur (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$ ), (Şekil-4.7B).

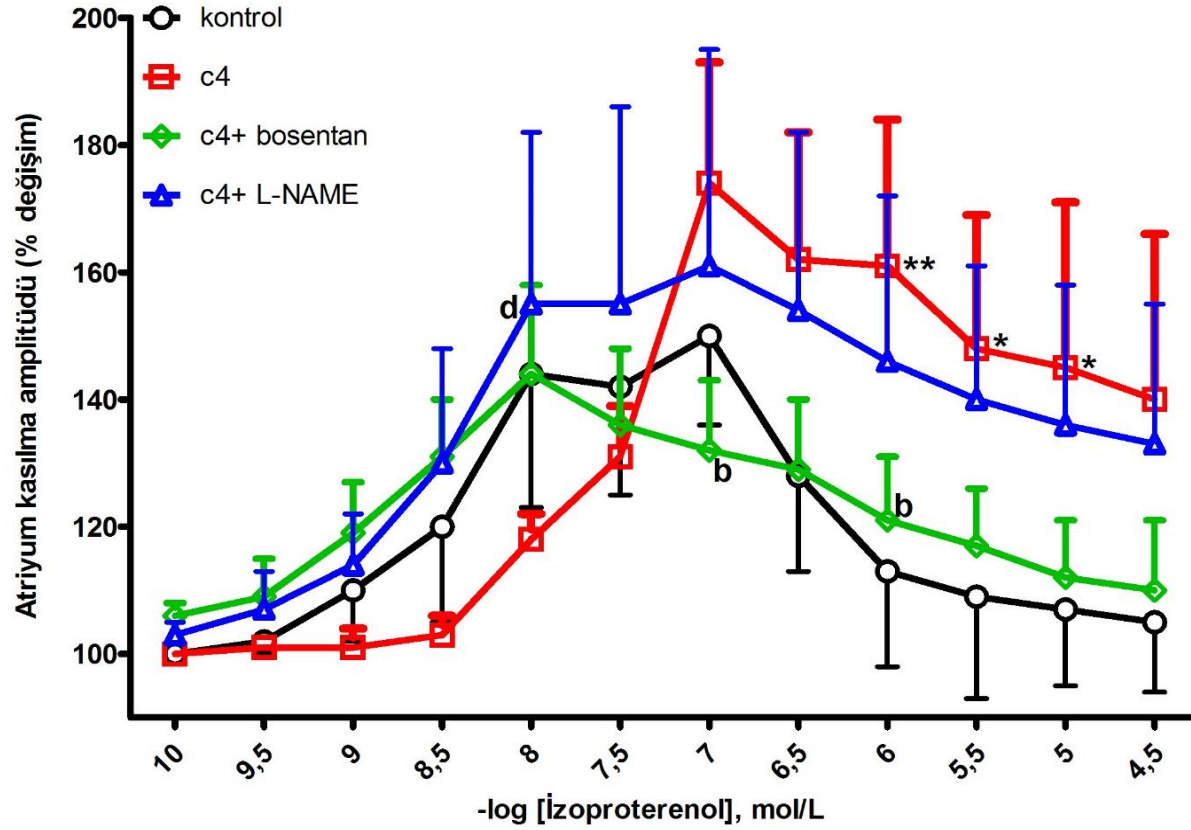


**Şekil-4.7: A, İzole atriyum atım hızının karbakol cevabı.** Hipodinamik septik şokta spontan atriyum atım hızının karbakol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, Karbakolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** Hipodinamik septik şokta bosentan ve L-NAME karbakolün potensini artırmışlardır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. a, kontrol ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; b, c20 ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; d, c20 ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (aa, p<0,01; aaa,bbb,ccc,ddd p<0,001). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar, iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark, tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için n=6.

#### **4.8. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim**

Hiperdinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $10^{-6}$  M ( $p<0,01$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $10^{-5}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında artmıştır. Bosentan, hiperdinamik dönemde atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $10^{-7}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında azaltmıştır. L-NAME, hiperdinamik dönemde atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $10^{-8}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonunda artırmıştır.

Atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık göstermiş olsa da doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde grupların izoproterenol cevabı benzerdir (Şekil-4.8).

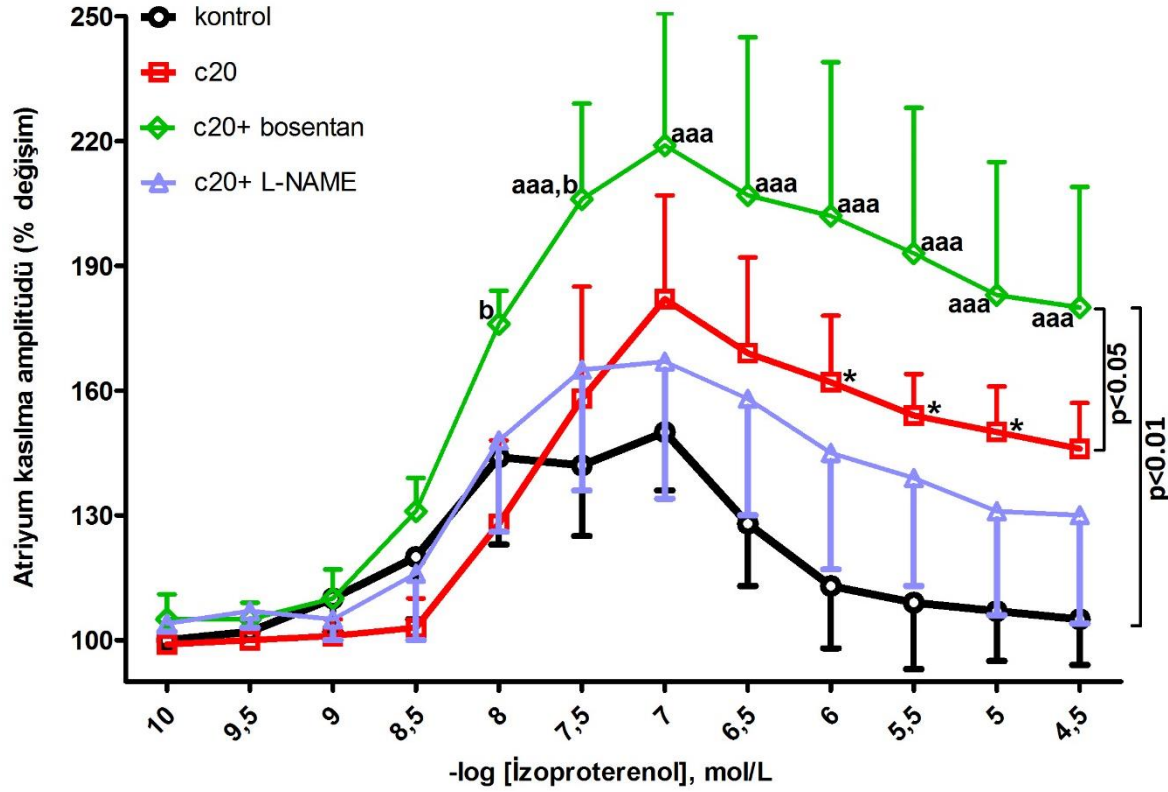


**Şekil-4.8: İzole atriyum kasılmasının izoproterenol cevabı.** Hiperdinamik septik şokta atriyum kasılmasının izoproterenol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c4 grupları arasındaki anlamlılık; b, c4 ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; d, c4 ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (\*,b,d,  $p < 0,05$ ; \*\*,  $p < 0,01$ ). Bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Her grup için n=6.

#### **4.9. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim**

Hipodinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $10^{-5}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında artmıştır. Bosentan hipodinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $10^{-8}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-8}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. Ayrıca bosentan verilmiş hipodinamik septik şok grubunda atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $3 \times 10^{-8}$  M ( $p<0,001$ ),  $10^{-7}$  M ( $p<0,001$ ),  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p<0,001$ ),  $10^{-6}$  M ( $p<0,001$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p<0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p<0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p<0,001$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubu değerlerine göre daha fazla bulunmuştur. L-NAME ise atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabını, hipodinamik septik şokta etkilememiştir.

Doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde, atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı hipodinamik septik şokta değişmemiştir. Bosentan hipodinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabını artırmıştır ( $p<0,05$ ), bu cevap sonrası elde edilen eğri kontrol grubundaki eğriyle karşılaştırıldığında da izoproterenol cevabı daha fazla bulunmuştur ( $p<0,01$ ) (Şekil-4.9).



**Şekil-4.9: İzole atriyum kasılmasının izoproterenol cevabı.** Hipodinamik septik şokta atriyum kasılmasının izoproterenol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde kontrol grubuyla benzerdir. Ancak bosentan izoproterenol cevabını artırmıştır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c20 grupları arasındaki anlamlılık; a, kontrol ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; b, c20 ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; (\*,b, p<0,05; aaa, p<0,001). Bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için n=6.

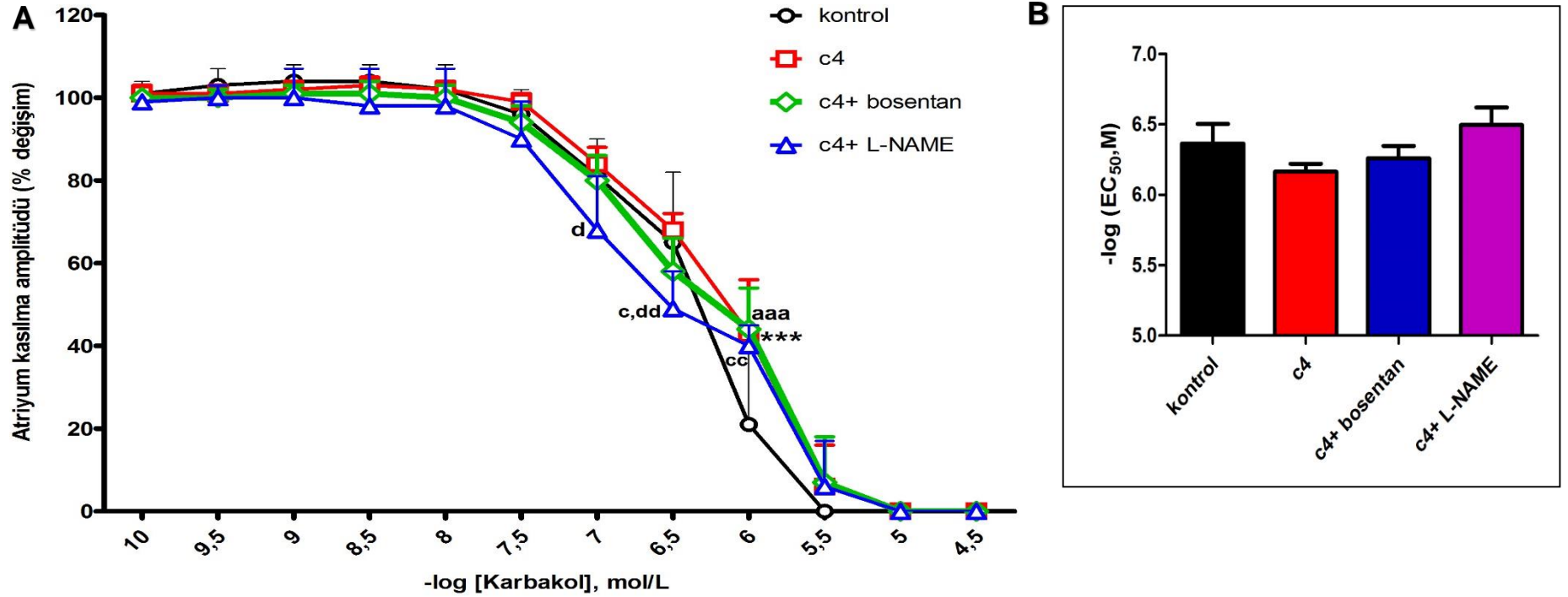


#### 4.10. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim

Hiperdinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonunda azalmıştır. Bosentan verilmiş hiperdinamik septik şok grubunda atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M konsantrasyonunda, kontrol grubu değerine daha az bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). L-NAME, hiperdinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabını karbakolün  $10^{-7}$  M ( $p < 0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p < 0,01$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. L-NAME verilmiş hiperdinamik septik şok grubunda atriyum atım hızının karbakol cevabında karbakolün  $3 \times 10^{-7}$  M konsantrasyonunda kontrol grubu değerine göre artma olurken ( $p < 0,05$ ),  $10^{-6}$  M konsantrasyonunda kontrol grubu değerine göre azalma olmuştur ( $p < 0,01$ ).

Atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabı gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık göstermiş olsa da doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.10A).

Hiperdinamik septik şokta karbakolün atriyum kasılmasına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50},M)$  değerleri, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.10B).



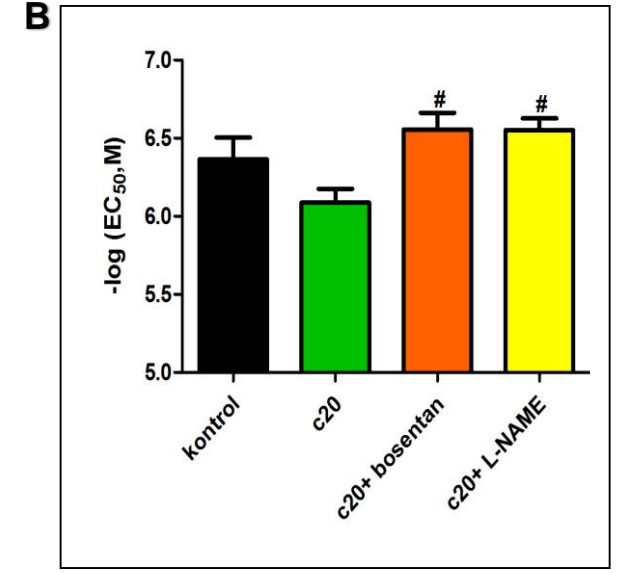
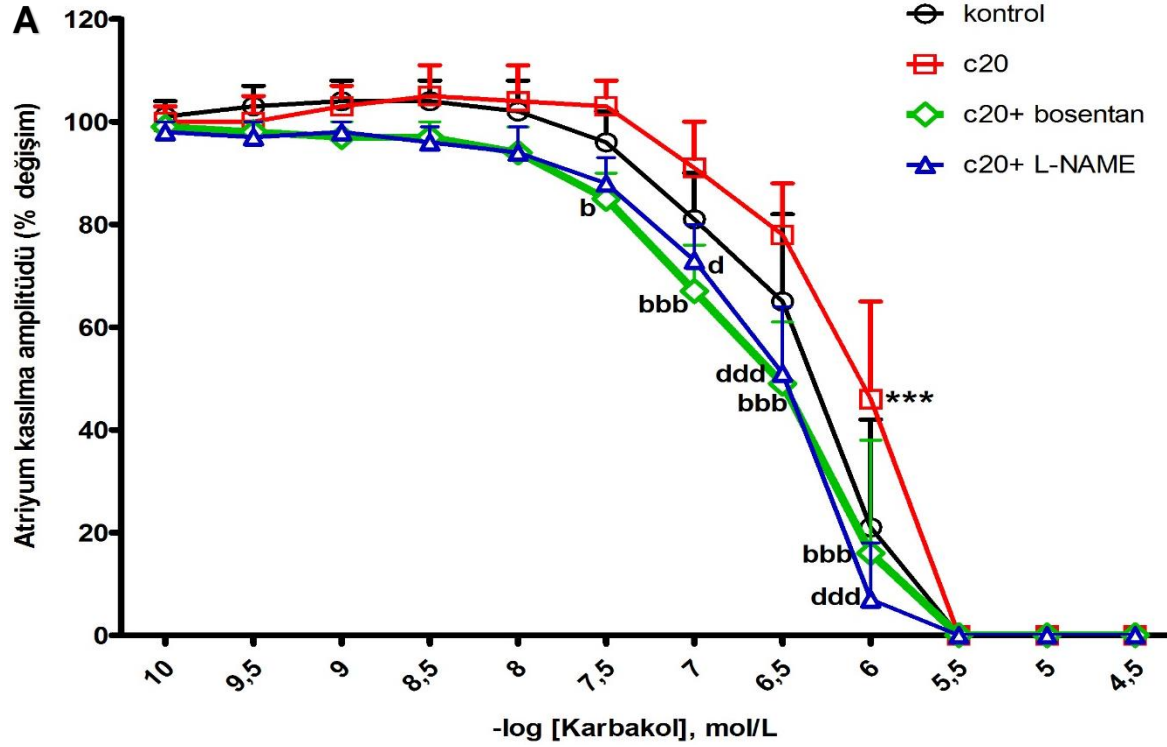
**Şekil-4.10: A, İzole atriyum kasılmasının karbakol cevabı.** Hiperdinamik septik şokta atriyum kasılmasının karbakol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, Karbakolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** EC<sub>50</sub> değerleri gruplar arasında benzer bulunmuştur. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c4 grupları arasındaki anlamlılık; a, kontrol ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; c, kontrol ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; d, c4 ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (c,d, p<0,05; cc,dd, p<0,01; \*\*\*,aaa, p<0,001). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için n=6.

#### 4.11. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Atriyum Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim

Hipodinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M konsantrasyonunda azalmıştır ( $p < 0,001$ ). Bosentan hipodinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabını, karbakolün  $3 \times 10^{-8}$  M ( $p < 0,05$ ),  $10^{-7}$  M ( $p < 0,001$ ),  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. L-NAME ise hipodinamik septik şokta atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabını karbakolün  $10^{-7}$  M ( $p < 0,05$ ),  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır.

Atriyum kasılma amplitüdünün karbakol cevabı gruplar arasında bazı konsantrasyonlarda farklılık göstermiş olsa da doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte bosentan ve L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok gruplarında eğriler sola kaymıştır (Şekil-4.11A).

Hipodinamik septik şokta bosentan ve L-NAME, karbakolün atriyum kasılmasına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50},M)$  değerlerini kontrol grubu değerine göre artırmıştır (bosentan ve L-NAME sırasıyla  $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$ ), (Şekil-4.11B).

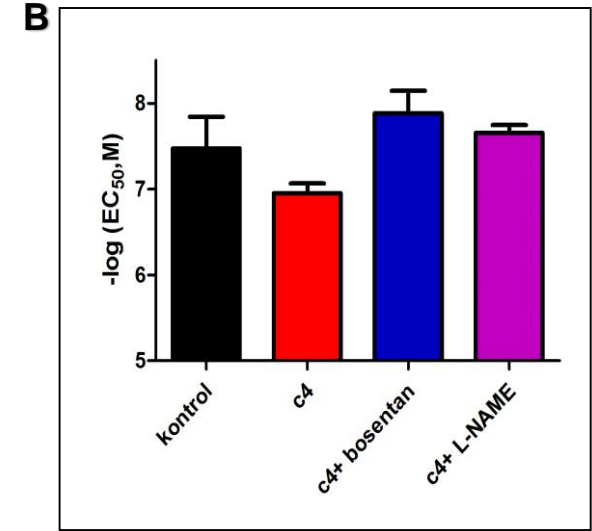
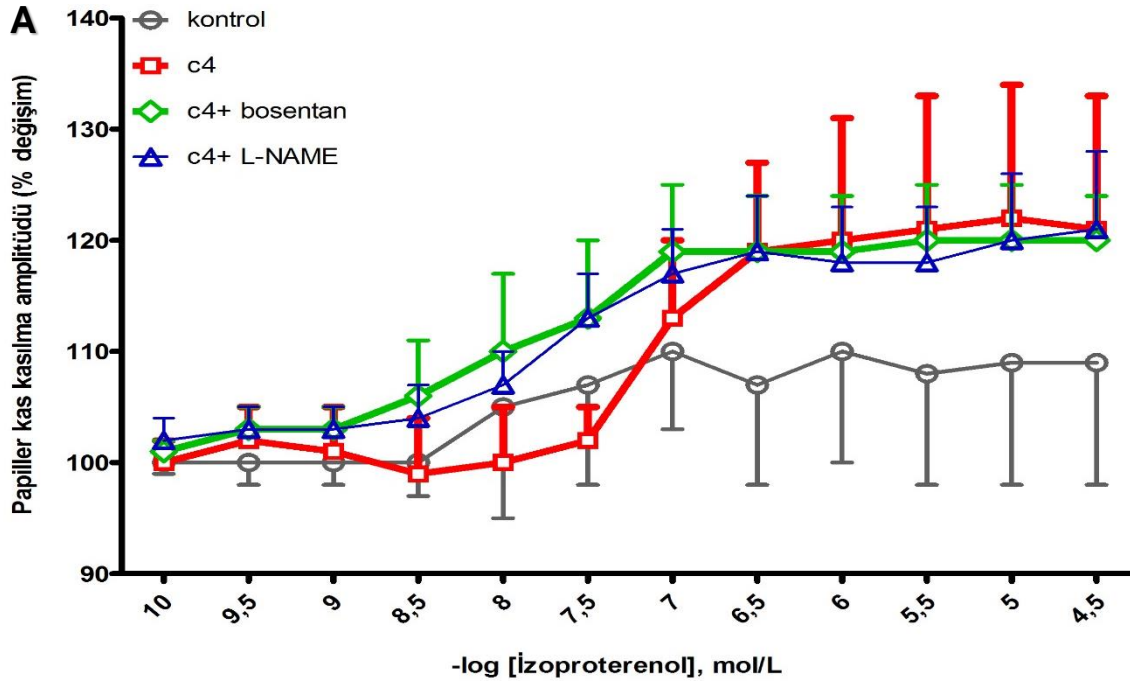


**Şekil-4.11: A, İzole atriyum kasılmasının karbakol cevabı.** Hipodinamik septik şokta atriyum kas kasılmasının karbakol cevabı, doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, Karbakolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** Bosentan ve L-NAME hipodinamik septik şokta karbakolün potensini kısmen artırmışlardır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c20 grupları arasındaki anlamlılık; b, c20 ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; d, c20 ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (b,d, p<0,05; \*\*\*,bbb,ddd, p<0,001). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Her grup için n=6.

#### **4.12. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim**

Hiperdinamik septik şokta papiller kas kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.12A).

Hiperdinamik septik şokta izoproterenolün papiller kas kasılmasına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50,M})$  değerleri, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.12B).



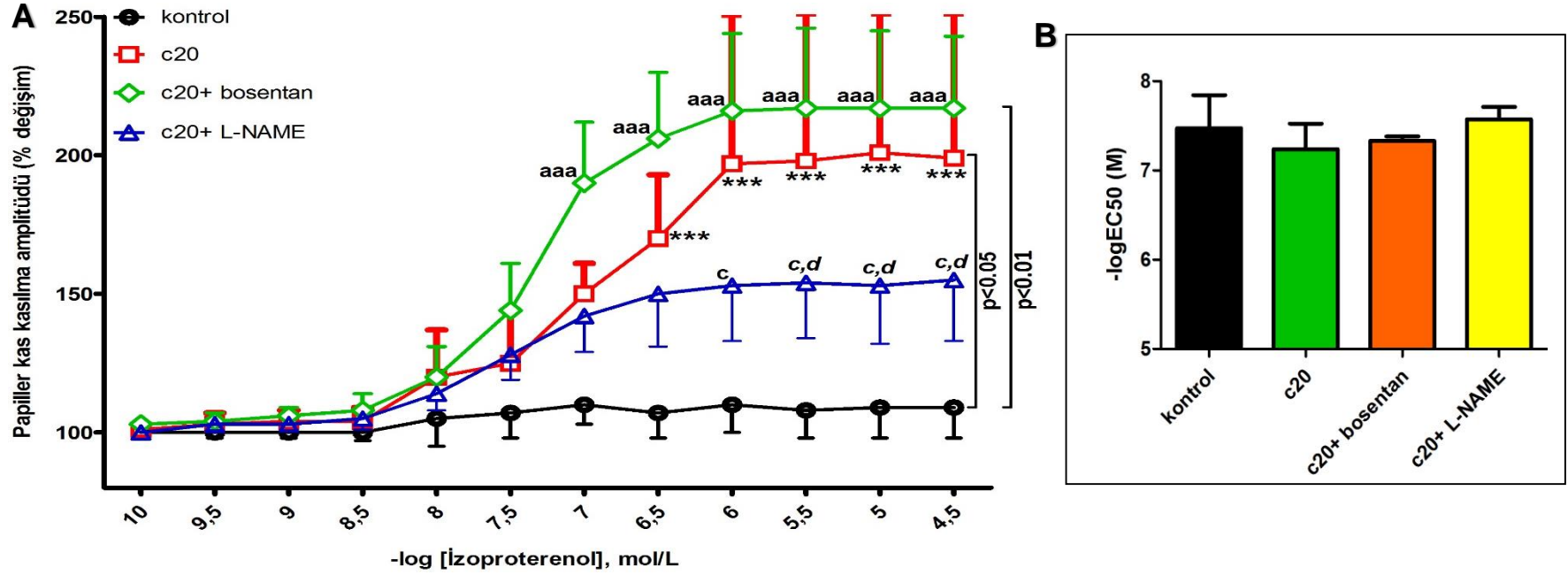
**Şekil-4.12: A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı.** Hiperdinamik septik şokta ventrikül papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde gruplar arasında benzerdir. **B, İzoproterenolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** EC<sub>50</sub> değerleri gruplar arasında benzerdir. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. Şekil A'daki her bir konsantrasyona verilen cevaplar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile değerlendirildi. Eğrilerin bütünü ise tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Gruplar için n= 5-6.

#### 4.13. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının İzoproterenol Cevabındaki Yüzde Değişim

Hipodinamik septik şokta papiller kas kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı, izoproterenolün  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında artmıştır. Bosentan verilmiş hipodinamik septik şok grubunda papiller kas kasılma amplitüdü cevabı, izoproterenolün  $10^{-7}$  M ( $p < 0,001$ ),  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubu değerlerine göre daha fazla bulunmuştur ancak hipodinamik septik şok grubuyla karşılaştırıldığında aralarında fark bulunmamıştır. L-NAME ise hipodinamik septik şokta papiller kas kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabını, izoproterenolün  $10^{-6}$  M ( $p < 0,05$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,05$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,05$ ) konsantrasyonlarında azaltmıştır. Bununla birlikte L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok grubunda papiller kas kasılma amplitüdü cevabı, izoproterenolün  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,05$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,05$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur.

Doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde, papiller kas kasılma amplitüdünün izoproterenol cevabı, hipodinamik septik şokta artırmıştır ( $p < 0,05$ ) ve bosentan verilmiş hipodinamik septik şok grubunda elde edilen eğri kontrol grubu eğrisiyle karşılaştırıldığında izoproterenol cevabı artmış olarak bulunmuştur ( $p < 0,01$ ) (Şekil-4.13A).

Hipodinamik septik şokta izoproterenolün papiller kas kasılmasına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50},M)$  değerleri, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.13B).



**Şekil-4.13: A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı.** Hipodinamik septik şokta ventrikül papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı artmıştır, bosentan bu artışı daha da belirginleştirmiştir. **B, İzoproterenolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** EC<sub>50</sub> değerlerinde gruplar arasında bir fark bulunamamıştır. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. \*, kontrol ve c20 grupları arasındaki anlamlılık; a, kontrol ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; c, kontrol ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; d, c20 ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (c,d, p<0,05; \*\*\*,aaa, p<0,001). Şekil A'daki bazı konsantrasyonlarda ortaya çıkan farklar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile gösterildi. Eğrilerin tamamı değerlendirildiğinde ortaya çıkan fark tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile gösterildi. Gruplar için n= 5-6.

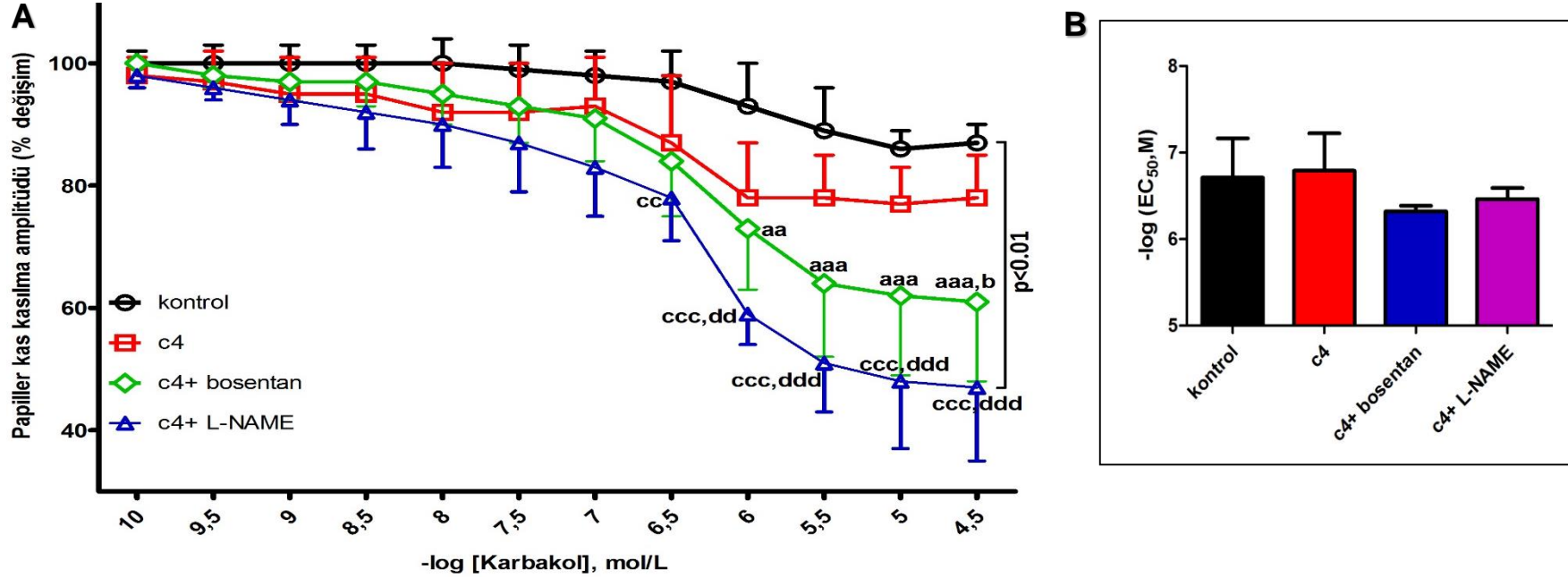


#### 4.14. Kontrol ve Hiperdinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim

Papiller kas kasılmasının karbakol cevabı hiperdinamik septik şokta değişmemiştir. Bosentan hiperdinamik septik şokta papiller kas kasılmasının karbakol cevabını, karbakolün  $3 \times 10^{-5}$  M konsantrasyonunda artırmıştır ( $p < 0,001$ ). Ayrıca bosentan verilmiş hiperdinamik septik şok grubunda papiller kas kasılmasının karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M ( $p < 0,01$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubu değerlerine göre daha fazla bulunmuştur. L-NAME hiperdinamik septik şokta papiller kas kasılmasının karbakol cevabını, karbakolün  $10^{-6}$  M ( $p < 0,01$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. L-NAME verilmiş hiperdinamik septik şok grubunda papiller kas kasılmasının karbakol cevabı, karbakolün  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p < 0,01$ )  $10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p < 0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p < 0,001$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubu değerlerine göre daha fazla bulunmuştur.

Doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde, L-NAME verilmiş hiperdinamik septik şok grubunda papiller kas kasılmasının karbakol cevabı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha fazla bulunmuştur ( $p < 0,01$ ), (Şekil-14.A).

Hiperdinamik septik şokta karbakolün papiller kas kasılmasına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50},M)$  değerleri, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.14B).



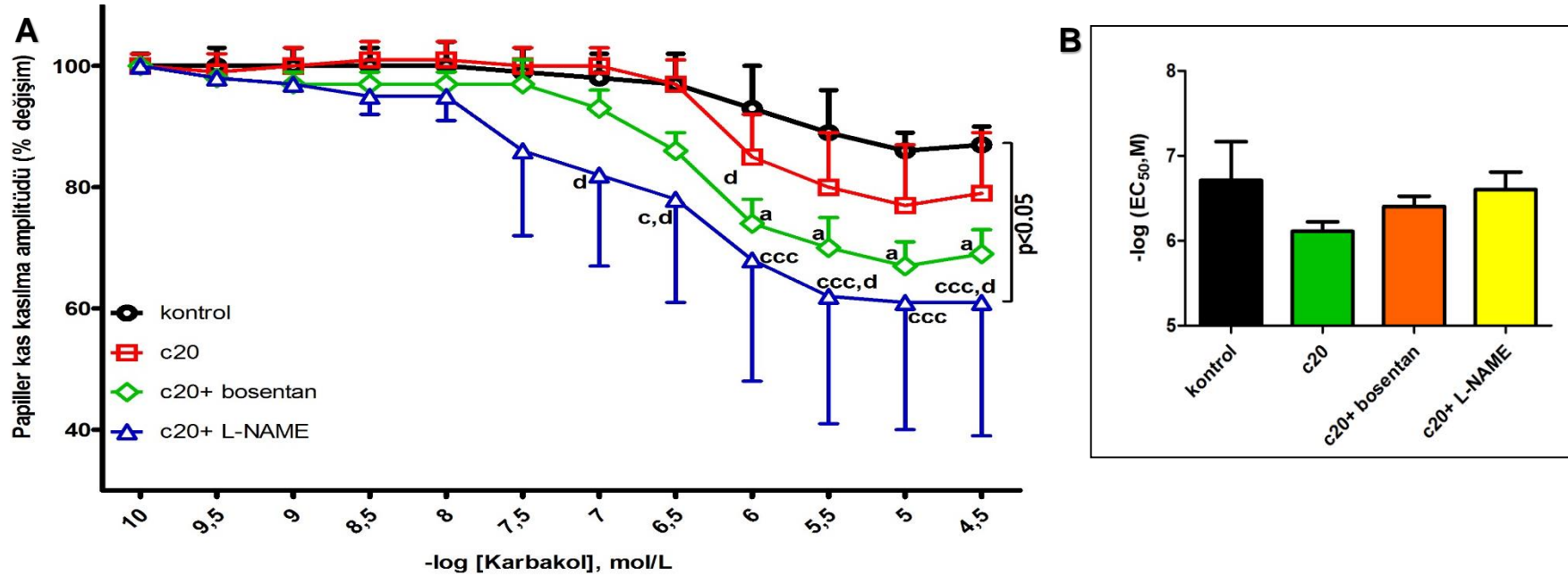
**Şekil-4.14: A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının karbakol cevabı.** Hiperdinamik septik şokta ventrikül papiller kas kasılmasının karbakol cevabı doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde kontrol grubuyla benzerdir. Ancak L-NAME karbakol cevabını artırmıştır. **B, Karbakolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** EC<sub>50</sub> değerleri gruplar arasında benzerdir. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. a, kontrol ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; b, c4 ve c4+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; c, kontrol ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; d, c4 ve c4+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (b, p<0,05; aa,cc,dd, p<0,01; aaa,ccc,ddd, p<0,001). Şekil A'daki her bir konsantrasyona verilen cevaplar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile değerlendirildi. Eğrilerin bütünü ise tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Her grup için n=6.

#### 4.15. Kontrol ve Hipodinamik Septik Şok Gruplarındaki Sıçanların İzole Papiller Kas Kasılmalarının Karbakol Cevabındaki Yüzde Değişim

Papiller kas kasılmasının karbakol cevabı hipodinamik septik şokta değişmemiştir. Bosentan hipodinamik septik şokta papiller kas kasılmasının karbakol cevabını etkilememiştir. Ancak bosentan verilmiş hipodinamik septik şok grubunda papiller kas kasılmasının karbakol cevabı, karbakolün  $10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ),  $10^{-5}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur. L-NAME hipodinamik septik şokta papiller kas kasılmasının karbakol cevabını karbakolün  $10^{-7}$  M ( $p<0,05$ ),  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p<0,05$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p<0,05$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p<0,05$ ) konsantrasyonlarında artırmıştır. Ayrıca L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok grubunda papiller kas kasılmasının karbakol cevabı, karbakolün  $3 \times 10^{-7}$  M ( $p<0,05$ ),  $10^{-6}$  M ( $p<0,001$ ),  $3 \times 10^{-6}$  M ( $p<0,001$ ),  $10^{-5}$  M ( $p<0,001$ ) ve  $3 \times 10^{-5}$  M ( $p<0,001$ ) konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre daha fazla bulunmuştur.

Doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde, L-NAME verilmiş hipodinamik septik şok grubunda papiller kas kasılmasının karbakol cevabı kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha fazla bulunmuştur ( $p<0,05$ ), (Şekil-4.15A).

Hipodinamik septik şokta karbakolün papiller kas kasılmasına etkisi için hesaplanan  $-\log(EC_{50},M)$  değerleri, gruplar arasında benzer bulunmuştur (Şekil-4.15B).



**Şekil-4.15: A, İzole ventrikül papiller kas kasılmasının karbakol cevabı.** Hipodinamik septik şokta ventrikül papiller kas kasılmasının karbakol cevabı doz-cevap eğrilerinin bütünü değerlendirildiğinde kontrol grubuyla benzerdir. Ancak L-NAME karbakol cevabını artırmıştır. **B, Karbakolün EC<sub>50</sub> değerlerindeki değişim.** EC<sub>50</sub> değerleri gruplar arasında benzerdir. Veriler ortalama±S.H. olarak gösterilmiştir. a, kontrol ve c20+ bosentan grupları arasındaki anlamlılık; c, kontrol ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; d, c20 ve c20+ L-NAME grupları arasındaki anlamlılık; (a,c,d, p<0,05; ccc, p<0,001). Şekil A'daki her bir konsantrasyona verilen cevaplar iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Bonferroni testi ile değerlendirildi. Eğrilerin bütünü ise tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Şekil B'deki EC<sub>50</sub> değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Newman Keuls çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırıldı. Her grup için n=6.

## 5.TARTIŞMA

Septik şokun erken ve geç dönemlerinde meydana gelen kalp hızı artışı, hem LPS uygulanmasıyla oluşturulmuş (106-108) hem de CLP ile oluşturulmuş deneysel septik şok modellerinde (109,110) *in vivo* olarak gösterilmiştir. Kalp hızındaki artış, septik şokta refleks olarak meydana gelen sempatik hiperaktivasyonla ve artan bazı inflamatuvar mediyatörlerle ilişkilendirilmiştir (111). Bununla birlikte CLP modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada, hipodinamik septik şokta izole atriyum atım hızının değişmediği gösterilmiştir. İzole atriyum atım hızının aynı kalması ve *in vivo* kalp hızından daha düşük olması, bazal sempatik tonüsün izole atriyum preparatında olmadığına işaret etmektedir (106). Başka bir çalışmada da atriyum atım hızındaki cevabın septik şokta değişmediği ve L-NAME'nin atriyum atım hızına etki etmediği gösterilmiştir (112). Gholami ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise endotoksemili hayvanlarda atriyum atım hızının izoproterenol cevabının değişmediği, karbakol cevabının azaldığı gösterilmiştir. L-NAME'nin antimuskarinik etkisi hem kontrol grubunda hem de LPS verilmiş grupta benzer olarak bulunmuştur (107). Karbakol cevabındaki azalmanın reseptör downregülasyonu ile ilgili olmadığı, postreseptör faktörlerle ilgili olabileceği Jaue ve arkadaşları tarafından ifade edilmiştir (113). Daha önce yapılan bu çalışmalarda septik şokta atriyum atım hızı, atriyum atım hızının adrenerjik ve kolinerjik cevapları, L-NAME'nin bu parametreler üzerine olan etkisi incelenmiştir. Ancak bu parametreler üzerine bosentanın etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bizim çalışmamızda CLP modeli ile hiperdinamik ve hipodinamik dönem ayrı ayrı incelenerek, izole atriyum atım hızında meydana gelen değişiklikler, atriyum atım hızının adrenerjik ve kolinerjik cevaplarında meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklerde NO ve endotelinin olası rolü incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında izole atriyum atım hızının, hiperdinamik septik şokta değişmediği, hipodinamik septik şokta arttığı gösterilmiştir. Bosentan ve L-NAME, hiperdinamik dönemde atriyum atım hızını etkilemezlerken, hipodinamik dönemde artmış olan atım hızını bosentan kontrol grubu

değerlerine kadar indirirken, L-NAME kısmen azaltmıştır. Hiperdinamik ve hipodinamik dönemde atriyum atım hızının izoproterenol ve karbakol cevapları bazı konsantrasyonlarda farklılıklar gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde eğriler kontrol grubu eğrileriyle benzer bulunmuştur. Ancak bosentan ve L-NAME verilmiş hiperdinamik ve hipodinamik septik şok gruplarında atriyum atım hızının izoproterenol doz-cevap eğrileri sola kaymıştır, izoproterenolün potensisi her iki dönemde de artırmıştır. Bosentan ve L-NAME atriyum atım hızının karbakol doz-cevap eğrilerini ise sadece hipodinamik dönemde sola kaydırarak karbakolün potensini artırmışlardır. Bu sonuçlara göre hipodinamik dönemde SA düğüm aktivitesini, endotelin ve NO gibi bir takım inflamatuvar mediyatörler ve sitokinler artırmış olabilir. Bu aktivite artışını ATP duyarlı K<sup>+</sup> kanallarının inhibisyonu, SA düğümün Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>+2</sup> iyonlarını içeriye daha fazla sızdırması, sarkoplazmik retikulumdan Ca<sup>+2</sup> salıverilmesini artırması ile sağlayabilirler. Ayrıca bosentan ve L-NAME adrenerjik ve kolinerjik reseptör upregülasyonu yaparak ve/veya postreseptör faktörler üzerinden atriyum atım hızı için izoproterenol ve karbakol potensini artırmış olabilirler. Bununla birlikte ET-1'in cAMP düzeyini azaltarak izoproterenolün yaptığı pozitif kronotropik etkiyi bloke etmesi (114) ve bosentan tarafından bu etkinin ortadan kaldırılması da bosentanın septik şokta atriyum hızı için izoproterenol cevabını ve potensini artırıcı etkisini açıklayabilir.

Septik şokta atriyum kasılması ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda, atriyum kasılmasının septik şokta azaldığı gösterilmiştir (115-119) ve L-NAME'nin bu azalmayı düzeltmediği ifade edilmiştir. Atriyum kasılmasının izoproterenole verdiği cevapla ilgili yapılan bir çalışmada, LPS ile oluşturulmuş deneysel septik şok modelinde izoproterenol cevabının azaldığı gösterilmiştir ve L-NAME'nin bu azalmayı düzeltmediği ortaya konmuştur (112). Bu çalışmalarda daha çok LPS ile oluşturulmuş deneysel septik şok modeli kullanılarak, septik şokta atriyum kasılması, atriyum kasılmasının adrenerjik cevapları, L-NAME'nin bu parametreler üzerine olan etkisi incelenmiştir. Ancak bu parametreler üzerine bosentanın etkisini gösteren bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bizim çalışmamızda CLP modeli ile hiperdinamik ve

hipodinamik dönem ayrı ayrı incelenerek, atriyum kasılmasında meydana gelen değişiklikler, atriyum kasılmasının adrenerjik ve kolinerjik cevaplarında meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklere bosentan ve L-NAME'nin etkisi incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında atriyum kasılması, hipodinamik dönemde daha fazla olmak üzere her iki dönemde de azalma göstermiştir. Bosentan hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde atriyum kasılmasında kısmi düzelme sağlarken, L-NAME sadece hipodinamik dönemde kısmi bir düzelme sağlamıştır. Hiperdinamik ve hipodinamik dönemde atriyum kasılmasının izoproterenol ve karbakol cevapları bazı konsantrasyonlarda farklılıklar gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde eğriler kontrol grubu eğrileriyle benzerdir. L-NAME atriyum kasılmasının izoproterenol cevabını her iki dönemde de etkilememiştir. Bosentan ise atriyum kasılmasının izoproterenol cevabını hiperdinamik dönemde etkilemezken, hipodinamik dönemde artırmıştır. Bosentan ve L-NAME atriyum kasılmasının karbakol cevabını, hiperdinamik dönemde etkilemezlerken hipodinamik dönemde doz-cevap eğrisini sola kaydırarak karbakol potensini artırmışlardır. Bu sonuçlar bize hiperdinamik septik şok döneminde meydana gelen atriyum kasılma disfonksiyonunda endotelinin rolü olduğunu, hipodinamik dönemde meydana gelen atriyum kasılma disfonksiyonunda ise endotelin ve NO'nun birlikte rol oynadığını düşündürmektedir. Bosentan ve L-NAME septik şokta kalp kası liflerine  $Ca^{+2}$  iyonu girişini ve duyarlılığını artırarak, kasılmaya ilgili enzimlerin ekspresyonunu artırarak, reseptörlerde upregülasyon/downregülasyon yaparak,  $Na^{+}/K^{+}$  ATPaz pompasını inhibe ederek atriyum kasılmasını artırıyor olabilirler. Ayrıca bosentan ve L-NAME adrenerjik ve kolinerjik reseptörlerde upregülasyon yaparak ve/veya postreseptör bir takım mekanizmalar üzerinden atriyum kasılması için izoproterenol ve karbakol potensini artırmış olabilirler. Bununla birlikte ET-1'in cAMP düzeyini azaltarak izoproterenolün yaptığı pozitif kronotropik etkiyi bloke etmesi ve bosentan tarafından bu etkinin ortadan kaldırılması da bosentanın septik şokta atriyum kasılması için izoproterenol cevabını ve potensini artırıcı etkisini açıklayabilir.

Septik şokta izole ventrikül papiller kas kasılmasındaki değişikliği gösteren çalışmalarda, papiller kas kasılmasının azaldığı gösterilmiştir ve L-NAME papiller kas kasılmasındaki bu azalmayı düzeltememiştir (116,119). Bununla birlikte septik şokta izole sıçan ventrikül papiller kasının kasılma amplitüdünün isoproterenol ve karbakol cevaplarıyla ilgili daha önce yapılan bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bizim çalışmamızda CLP modeli ile hiperdinamik ve hipodinamik dönem ayrı ayrı incelenerek, papiller kas kasılmasında meydana gelen değişiklikler, papiller kas kasılmasının adrenerjik ve kolinerjik cevaplarında meydana gelen değişiklikler ve bu değişikliklere bosentan ve L-NAME'nin etkisi incelenmiştir.

Bu tez çalışmasında izole papiller kas kasılması, her iki septik şok döneminde de değişmemiştir. Bosentan ve L-NAME hiperdinamik dönemde papiller kas kasılma amplitüdünü artırmışlardır, hatta L-NAME'nin meydana getirdiği artış sonucunda elde edilen değer kontrol grubu değerinin de üstünde olmuştur. Hipodinamik dönemdeki papiller kas kasılma amplitüdünü, L-NAME artırırken bosentan etkilememiştir. Papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı hiperdinamik dönemde değişmemiştir, bosentan ve L-NAME de buradaki cevaba etki etmemişlerdir. Papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı hipodinamik dönemde artış göstermiştir, bosentan ve L-NAME izoproterenolün bazı konsantrasyonlarında etki göstermekle birlikte doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde bosentan cevabı daha artırırken, L-NAME anlamlı bir etki yapmamıştır. Papiller kas kasılmasının karbakol cevabı hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde değişim göstermemiştir. Bununla birlikte bosentan her iki dönemde de papiller kas kasılmasının karbakol cevabını karbakolün bazı konsantrasyonlarında artırmış olsa da doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir etki yapmamıştır. L-NAME ise her iki dönemde de papiller kas kasılmasının karbakol cevabını artırmıştır. Bosentan ve L-NAME, septik şokta papiller kas liflerine  $Ca^{+2}$  iyonu girişini ve kas liflerinin  $Ca^{+2}$  duyarlılığını artırarak, kasılmayla ilgili enzimlerin ekspresyonunu artırarak, reseptörlerde upregülasyon/downregülasyon yaparak,  $Na^{+}/K^{+}$  ATPaz pompasını inhibe ederek papiller kas kasılmasını artırmış olabilirler. Ayrıca L-NAME, her iki



septik Şok d6neminde de papiller kasta kolinerjik resept6rlerde upregulasyon yaparak ve/veya postresept6r bir takım mekanizmalar 6zerinden papiller kas kasılmasının karbakol cevabını artırmış olabilir.

## 6.SONUÇ ve ÖNERİLER

1. CLP ile oluşturulan deneysel septik şok modelinde izole atriyum hızı hiperdinamik septik şokta değişmezken, hipodinamik septik şokta artmıştır. Bosentan ve L-NAME, hiperdinamik dönemde atriyum atım hızını etkilemezlerken, hipodinamik dönemde artmış olan atım hızını bosentan kontrol grubu değerlerine kadar indirmiştir, L-NAME ise kısmen azaltmıştır. Hiperdinamik ve hipodinamik dönemde atriyum atım hızının izoproterenol ve karbakol cevapları bazı konsantrasyonlarda farklılıklar gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde eğriler kontrol grubu eğrileriyle benzerdir. Bosentan ve L-NAME verilmiş hiperdinamik ve hipodinamik septik şok gruplarında ise atriyum atım hızının izoproterenol doz-cevap eğrileri sola kaymıştır, izoproterenolün potensi her iki dönemde de artmıştır. Bosentan ve L-NAME, atriyum atım hızının karbakol doz-cevap eğrilerini ise sadece hipodinamik dönemde sola kaydırarak karbakolün potensini artırmışlardır.

2. İzole atriyum kasılması hipodinamik dönemde daha fazla olmak üzere hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde azalmıştır. Bosentan hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde atriyum kasılmasında kısmi düzelme sağlarken, L-NAME sadece hipodinamik dönemde kısmi bir düzelme sağlamıştır. Hiperdinamik ve hipodinamik dönemde atriyum kasılmasının izoproterenol ve karbakol cevapları bazı konsantrasyonlarda farklılıklar gösterse de doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde eğriler kontrol grubu eğrileriyle benzerdir. L-NAME atriyum kasılmasının izoproterenol cevabını her iki dönemde de etkilememiştir. Bosentan atriyum kasılmasının izoproterenol cevabını hiperdinamik dönemde etkilemezken, hipodinamik dönemde artırmıştır. Bosentan ve L-NAME karbakol cevabını hiperdinamik dönemde etkilemezken hipodinamik dönemde doz-cevap eğrisini sola kaydırarak karbakol potensini artırmışlardır.

3. İzole papiller kas kasılması hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Hem bosentan hem de L-NAME hiperdinamik dönemde papiller kas kasılma amplitüdünü artırmıştır, hatta L-NAME'nin meydana getirdiği artış sonucunda elde edilen

değer kontrol grubu değerinin de üstünde olmuştur. Hipodinamik dönemdeki papiller kas kasılma amplitüdünü, L-NAME artırırken, bosentan etkilememiştir. Papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı hiperdinamik dönemde değişmemiştir, bosentan ve L-NAME de buradaki cevaba etki etmemişlerdir. Papiller kas kasılmasının izoproterenol cevabı hipodinamik dönemde artış göstermiştir, bosentan ve L-NAME izoproterenolün bazı konsantrasyonlarında etki göstermekle birlikte doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde bosentan cevabı daha da artırırken, L-NAME anlamlı bir etki yapmamıştır. Papiller kas kasılmasının karbakol cevabı hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde değişim göstermemiştir. Bununla birlikte bosentan her iki dönemde de papiller kas kasılmasının karbakol cevabını karbakolün bazı konsantrasyonlarında artırmış olsa da doz-cevap eğrileri bütün olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir etki yapmamıştır.

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar sepsiste meydana gelen kardiyak disfonksiyonda NO ve endotelinin önemli rol oynayabileceğini, bosentan ve L-NAME'nin bazı parametrelerde düzelme yaparak terapotik etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

**4.** Çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlara göre, septik şokta atriyum ve papiller kastaki beta adrenerjik ve muskarinik reseptör yoğunluğun araştırılması gerekmektedir. Bununla birlikte cAMP düzeyi, Ca<sup>+2</sup> düzeyi, sempatik ve parasempatik nörotransmitterlerin düzeyleri hem kanda hem de kalp kaslarında ölçülebilir. ATP duyarlı K<sup>+</sup> kanalları, kas kasılmasında rol alan kinaz ve fosfotaz enzimleri de araştırılması gereken parametrelerdir.

## KAYNAKLAR

1. Angus, D.C., Linde-Zwirble, W.T., Lidicker, J., Clermont, G., Carcillo, J., Pinsky, M.R. (2001) Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, 29 (7), 1303-1310.
2. Centers for Disease, C. (1990) Increase in National Hospital Discharge Survey rates for septicemia--United States, 1979-1987. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 39 (2), 31-34.
3. Kung, H.C., Hoyert, D.L., Xu, J., Murphy, S.L. (2008) Deaths: final data for 2005. *Natl Vital Stat Rep*, 56 (10), 1-120.
4. Martin, G.S., Mannino, D.M., Eaton, S., Moss, M. (2003) The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med*, 348 (16), 1546-1554.
5. Bone, R.C., Grodzin, C.J., Balk, R.A. (1997) Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *Chest*, 112 (1), 235-243.
6. Melamed, A., Sorvillo, F.J. (2009) The burden of sepsis-associated mortality in the United States from 1999 to 2005: an analysis of multiple-cause-of-death data. *Crit Care*, 13 (1), R28.
7. Geroulanos, S., Douka, E.T. (2006) Historical perspective of the word "sepsis". *Intensive Care Med*, 32 (12), 2077.
8. Thurston, A.J. (2000) Of blood, inflammation and gunshot wounds: the history of the control of sepsis. *Aust N Z J Surg*, 70 (12), 855-861.
9. Martin, G.S. (2012) Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 10 (6), 701-706.
10. Riedemann, N.C., Guo, R.F., Ward, P.A. (2003) The enigma of sepsis. *J Clin Invest*, 112 (4), 460-467.
11. Thomas, L. (1972) Germs. *N Engl J Med*, 287 (11), 553-555.
12. Abraham, E., Matthay, M.A., Dinarello, C.A., Vincent, J.L., Cohen, J., Opal, S.M. ve diğ erleri. (2000) Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: time for a reevaluation. *Crit Care Med*, 28 (1), 232-235.
13. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. (1992) *Crit Care Med*, 20 (6), 864-874.
14. Levy, M.M., Fink, M.P., Marshall, J.C., Abraham, E., Angus, D., Cook, D. ve diğ erleri. (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 31 (4), 1250-1256.

15. Howell, M.D., Talmor, D., Schuetz, P., Hunziker, S., Jones, A.E., Shapiro, N.I. (2011) Proof of principle: the predisposition, infection, response, organ failure sepsis staging system. *Crit Care Med*, 39 (2), 322-327.
16. Annane, D., Aegerter, P., Jars-Guincestre, M.C., Guidet, B., Network, C.U.-R. (2003) Current epidemiology of septic shock: the CUB-Rea Network. *Am J Respir Crit Care Med*, 168 (2), 165-172.
17. Esper, A.M., Moss, M., Lewis, C.A., Nisbet, R., Mannino, D.M., Martin, G.S. (2006) The role of infection and comorbidity: Factors that influence disparities in sepsis. *Crit Care Med*, 34 (10), 2576-2582.
18. Guidet, B., Aegerter, P., Gauzit, R., Meshaka, P., Dreyfuss, D., Group, C.U.-R.S. (2005) Incidence and impact of organ dysfunctions associated with sepsis. *Chest*, 127 (3), 942-951.
19. Kieft, H., Hoepelman, A.I., Zhou, W., Rozenberg-Arska, M., Struyvenberg, A., Verhoef, J. (1993) The sepsis syndrome in a Dutch university hospital. Clinical observations. *Arch Intern Med*, 153 (19), 2241-2247.
20. Uzun, O., Akalin, H.E., Hayran, M., Unal, S. (1992) Factors influencing prognosis in bacteremia due to gram-negative organisms: evaluation of 448 episodes in a Turkish university hospital. *Clin Infect Dis*, 15 (5), 866-873.
21. Flaatten, H. (2004) Epidemiology of sepsis in Norway in 1999. *Crit Care*, 8 (4), R180-184.
22. Lee, H., Doig, C.J., Ghali, W.A., Donaldson, C., Johnson, D., Manns, B. (2004) Detailed cost analysis of care for survivors of severe sepsis. *Crit Care Med*, 32 (4), 981-985.
23. Wenzel, R.P., Pinsky, M.R., Ulevitch, R.J., Young, L. (1996) Current understanding of sepsis. *Clin Infect Dis*, 22 (3), 407-412.
24. Kumar, G., Kumar, N., Taneja, A., Kaleekal, T., Tarima, S., McGinley, E. ve diğerleri. (2011) Nationwide trends of severe sepsis in the 21st century (2000-2007). *Chest*, 140 (5), 1223-1231.
25. Balk, R.A. (2000) Severe sepsis and septic shock. Definitions, epidemiology, and clinical manifestations. *Crit Care Clin*, 16 (2), 179-192.
26. Friedman, G., Silva, E., Vincent, J.L. (1998) Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med*, 26 (12), 2078-2086.
27. Wilson, J.X., Young, G.B. (2003) Progress in clinical neurosciences: sepsis-associated encephalopathy: evolving concepts. *Can J Neurol Sci*, 30 (2), 98-105.
28. Bone, R.C. (1991) The pathogenesis of sepsis. *Ann Intern Med*, 115 (6), 457-469.

29. Schaberg, D.R., Culver, D.H., Gaynes, R.P. (1991) Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. *Am J Med*, 91 (3B), 72S-75S.
30. Sundararajan, V., Macisaac, C.M., Presneill, J.J., Cade, J.F., Visvanathan, K. (2005) Epidemiology of sepsis in Victoria, Australia. *Crit Care Med*, 33 (1), 71-80.
31. Pittet, D., Wenzel, R.P. (1995) Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med*, 155 (11), 1177-1184.
32. Trick, W.E., Jarvis, W.R. (1998) Epidemiology of nosocomial fungal infection in the 1990s. *Rev Iberoam Micol*, 15 (1), 2-6.
33. Annane, D., Bellissant, E., Cavaillon, J.M. (2005) Septic shock. *Lancet*, 365 (9453), 63-78.
34. Mollnes, T.E., Christiansen, D., Brekke, O.L., Espevik, T. (2008) Hypothesis: combined inhibition of complement and CD14 as treatment regimen to attenuate the inflammatory response. *Adv Exp Med Biol*, 632, 253-263.
35. Modlin, R.L., Brightbill, H.D., Godowski, P.J. (1999) The toll of innate immunity on microbial pathogens. *N Engl J Med*, 340 (23), 1834-1835.
36. Weinstein, M.P., Murphy, J.R., Reller, L.B., Lichtenstein, K.A. (1983) The clinical significance of positive blood cultures: a comprehensive analysis of 500 episodes of bacteremia and fungemia in adults. II. Clinical observations, with special reference to factors influencing prognosis. *Rev Infect Dis*, 5 (1), 54-70.
37. Ashare, A., Powers, L.S., Butler, N.S., Doerschug, K.C., Monick, M.M., Hunninghake, G.W. (2005) Anti-inflammatory response is associated with mortality and severity of infection in sepsis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 288 (4), L633-640.
38. Dinarello, C.A. (1996) Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*, 87 (6), 2095-2147.
39. Iskit, A.B., Guc, O. (2003) Effects of endothelin and nitric oxide on organ injury, mesenteric ischemia, and survival in experimental models of septic shock. *Acta Pharmacol Sin*, 24 (10), 953-957.
40. R., K. (1998) The discovery of nitric oxide as a key mediator in septic shock. *Sepsis*, 1 (2).
41. Pittet, J.F., Morel, D.R., Hemsén, A., Gunning, K., Lacroix, J.S., Suter, P.M. ve diğerleri. (1991) Elevated plasma endothelin-1 concentrations are associated with the severity of illness in patients with sepsis. *Ann Surg*, 213 (3), 261-264.
42. Iskit, A.B., Sungur, A., Gedikoglu, G., Guc, M.O. (1999) The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *Eur J Pharmacol*, 379 (1), 73-80.

43. Groeneveld, A.B., Bronsveld, W.,Thijs, L.G. (1986) Hemodynamic determinants of mortality in human septic shock. *Surgery*, 99 (2), 140-153.
44. Hardaway, R.M., 3rd. (1980) Endotoxemic shock. *Dis Colon Rectum*, 23 (8), 597-604.
45. Groeneveld, A.B., Kester, A.D., Nauta, J.J.,Thijs, L.G. (1987) Relation of arterial blood lactate to oxygen delivery and hemodynamic variables in human shock states. *Circ Shock*, 22 (1), 35-53.
46. Van Lambalgen, A.A., van den Bos, G.C.,Thijs, L.G. (1987) Changes in regional plasma extravasation in rats following endotoxin infusion. *Microvasc Res*, 34 (1), 116-132.
47. Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y. ve diğerleri. (1988) A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 332 (6163), 411-415.
48. Haynes, W.G.,Webb, D.J. (1994) Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet*, 344 (8926), 852-854.
49. Rubanyi, G.M.,Polokoff, M.A. (1994) Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev*, 46 (3), 325-415.
50. Opgenorth, T.J. (1995) Endothelin receptor antagonism. *Adv Pharmacol*, 33, 1-65.
51. Wanecek, M., Weitzberg, E., Rudehill, A.,Oldner, A. (2000) The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur J Pharmacol*, 407 (1-2), 1-15.
52. Arai, H., Hori, S., Aramori, I., Ohkubo, H.,Nakanishi, S. (1990) Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature*, 348 (6303), 730-732.
53. Sakurai, T., Yanagisawa, M., Takuwa, Y., Miyazaki, H., Kimura, S., Goto, K. ve diğerleri. (1990) Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin receptor. *Nature*, 348 (6303), 732-735.
54. Vignon-Zellweger, N., Heiden, S., Miyauchi, T.,Emoto, N. (2012) Endothelin and endothelin receptors in the renal and cardiovascular systems. *Life Sci*, 91 (13-14), 490-500.
55. Motte, S., McEntee, K.,Naeije, R. (2006) Endothelin receptor antagonists. *Pharmacol Ther*, 110 (3), 386-414.
56. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2006). (2006). Textbook of medical physiology (11. bs.). Philadelphia: Elsevier Saunders.
57. Anggard, E. (1994) Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet*, 343 (8907), 1199-1206.
58. O., B. 1996). Nitrik oksid'in reaktivitesi, sentezi ve analiz metodları.

Nitrik Oksid'in Patolojik Olaylardaki Rolü. , 7.

59. Parratt, J.R. (1998) Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia. *J Antimicrob Chemother*, 41 Suppl A, 31-39.
60. Knowles, R.G., Moncada, S. (1994) Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J*, 298 ( Pt 2), 249-258.
61. Liaudet, L., Soriano, F.G., Szabo, C. (2000) Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med*, 28 (4 Suppl), N37-52.
62. Moncada, S. (1992) The 1991 Ulf von Euler Lecture. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta Physiol Scand*, 145 (3), 201-227.
63. Radomski, M.W., Palmer, R.M., Moncada, S. (1990) Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87 (24), 10043-10047.
64. Behrendt, D., Ganz, P. (2002) Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol*, 90 (10C), 40L-48L.
65. Dr. Uzay GÖRMÜS, D.D.Ö. (2005) cGMP ve Klinik Önemi. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*, 25, 678-687.
66. Luscher, T.F., Barton, M. (1997) Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*, 20 (11 Suppl 2), II-3-10.
67. Moncada, S., Higgs, A. (1993) The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*, 329 (27), 2002-2012.
68. Waldman, S.A., Murad, F. (1988) Biochemical mechanisms underlying vascular smooth muscle relaxation: the guanylate cyclase-cyclic GMP system. *J Cardiovasc Pharmacol*, 12 Suppl 5, S115-118.
69. Iskit, A.B., Guc, M.O. (2001) The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. *Eur J Pharmacol*, 414 (2-3), 281-287.
70. Alderton, W.K., Cooper, C.E., Knowles, R.G. (2001) Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J*, 357 (Pt 3), 593-615.
71. Clozel, M., Breu, V., Gray, G.A., Kalina, B., Loffler, B.M., Burri, K. ve diğerleri. (1994) Pharmacological characterization of bosentan, a new potent orally active nonpeptide endothelin receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther*, 270 (1), 228-235.
72. Iglarz, M., Binkert, C., Morrison, K., Fischli, W., Gatfield, J., Treiber, A. ve diğerleri. (2008) Pharmacology of macitentan, an orally active tissue-targeting dual endothelin receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther*, 327 (3), 736-745.
73. Ishikawa, K., Ihara, M., Noguchi, K., Mase, T., Mino, N., Saeki, T. ve diğerleri. (1994) Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective endothelin B-receptor antagonist, BQ-788. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91 (11), 4892-4896.



74. Jae, H.S., Winn, M., von Geldern, T.W., Sorensen, B.K., Chiou, W.J., Nguyen, B. ve diğeri. (2001) Pyrrolidine-3-carboxylic acids as endothelin antagonists. 5. Highly selective, potent, and orally active ET(A) antagonists. *J Med Chem*, 44 (23), 3978-3984.
75. Gibson, R.L., Berger, J.I., Redding, G.J., Standaert, T.A., Mayock, D.E., Truog, W.E. (1994) Effect of nitric oxide synthase inhibition during group B streptococcal sepsis in neonatal piglets. *Pediatr Res*, 36 (6), 776-783.
76. İskit, A.B., Senel, I., Sokmensuer, C., Guc, M.O. (2004) Endothelin receptor antagonist bosentan improves survival in a murine caecal ligation and puncture model of septic shock. *Eur J Pharmacol*, 506 (1), 83-88.
77. Liaudet, L., Rosselet, A., Schaller, M.D., Markert, M., Perret, C., Feihl, F. (1998) Nonselective versus selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental endotoxic shock. *J Infect Dis*, 177 (1), 127-132.
78. Weitzberg, E., Hensen, A., Rudehill, A., Modin, A., Wanecek, M., Lundberg, J.M. (1996) Bosentan-improved cardiopulmonary vascular performance and increased plasma levels of endothelin-1 in porcine endotoxin shock. *Br J Pharmacol*, 118 (3), 617-626.
79. Baykal, A., Kavuklu, B., İskit, A.B., Guc, M.O., Hascelik, G., Sayek, I. (2000) Experimental study of the effect of nitric oxide inhibition on mesenteric blood flow and interleukin-10 levels with a lipopolysaccharide challenge. *World J Surg*, 24 (9), 1116-1120.
80. Fink, M.P., Heard, S.O. (1990) Laboratory models of sepsis and septic shock. *J Surg Res*, 49 (2), 186-196.
81. İSKİT, A.B. (2005) Sepsiste Deneysel Modeller. *Yoğun Bakım Dergisi*, 5 (2), 133-136.
82. Remick, D.G., Kunkel, S.L. (1993) Pathophysiologic alterations induced by tumor necrosis factor. *Int Rev Exp Pathol*, 34 Pt B, 7-25.
83. Baykal, A., İskit, A.B., Hamaloglu, E., Guc, M.O., Hascelik, G., Sayek, I. (2000) Melatonin modulates mesenteric blood flow and TNF $\alpha$  concentrations after lipopolysaccharide challenge. *Eur J Surg*, 166 (9), 722-727.
84. McCuskey, R.S., McCuskey, P.A., Urbaschek, R., Urbaschek, B. (1984) Species differences in Kupffer cells and endotoxin sensitivity. *Infect Immun*, 45 (1), 278-280.
85. Coalson, J.J., Benjamin, B., Archer, L.T., Beller, B., Gilliam, C.L., Taylor, F.B. ve diğeri. (1978) Prolonged shock in the baboon subjected to infusion of *E. coli* endotoxin. *Circ Shock*, 5 (4), 423-437.
86. Wyler, F., Neutze, J.M., Rudolph, A.M. (1970) Effects of endotoxin on distribution of cardiac output in unanesthetized rabbits. *Am J Physiol*, 219 (1), 246-251.

87. Abraham, E., Glauser, M.P., Butler, T., Garbino, J., Gelmont, D., Laterre, P.F. ve diğerleri. (1997) p55 Tumor necrosis factor receptor fusion protein in the treatment of patients with severe sepsis and septic shock. A randomized controlled multicenter trial. Ro 45-2081 Study Group. *JAMA*, 277 (19), 1531-1538.
88. Elin, R.J., Robinson, R.A., Levine, A.S., Wolff, S.M. (1975) Lack of clinical usefulness of the limulus test in the diagnosis of endotoxemia. *N Engl J Med*, 293 (11), 521-524.
89. Fisher, C.J., Jr., Agosti, J.M., Opal, S.M., Lowry, S.F., Balk, R.A., Sadoff, J.C. ve diğerleri. (1996) Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med*, 334 (26), 1697-1702.
90. Parker, S.J., Watkins, P.E. (2001) Experimental models of gram-negative sepsis. *Br J Surg*, 88 (1), 22-30.
91. Lindsey, D.C., Emerson, T.E., Jr., Thompson, T.E., John, A.E., Duerr, M.L., Valdez, C.M. ve diğerleri. (1991) Characterization of an endotoxemic baboon model of metabolic and organ dysfunction. *Circ Shock*, 34 (3), 298-310.
92. Rittirsch, D., Hoesel, L.M., Ward, P.A. (2007) The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J Leukoc Biol*, 81 (1), 137-143.
93. Wichterman, K.A., Baue, A.E., Chaudry, I.H. (1980) Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res*, 29 (2), 189-201.
94. Baker, C.C., Chaudry, I.H., Gaines, H.O., Baue, A.E. (1983) Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery*, 94 (2), 331-335.
95. Buras, J.A., Holzmann, B., Sitkovsky, M. (2005) Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov*, 4 (10), 854-865.
96. Fink, M.P., Morrissey, P.E., Stein, K.L., Clement, R.E., Fiallo, V., Gardiner, W.M. (1988) Systemic and regional hemodynamic effects of cyclo-oxygenase and thromboxane synthetase inhibition in normal and hyperdynamic endotoxemic rabbits. *Circ Shock*, 26 (1), 41-57.
97. Remick, D.G., Ward, P.A. (2005) Evaluation of endotoxin models for the study of sepsis. *Shock*, 24 Suppl 1, 7-11.
98. Yang, R.C., Wang, C.I., Chen, H.W., Chou, F.P., Lue, S.I., Hwang, K.P. (1998) Heat shock treatment decreases the mortality of sepsis in rats. *Kaohsiung J Med Sci*, 14 (11), 664-672.
99. Iuzzo, P.A. (2005). Handbook of cardiac anatomy, physiology, and devices. Totowa, N.J.: Humana Press.
100. Krizanova, O., Myslivecek, J., Tillinger, A., Jurkovicova, D., Kubovcakov, L. (2007) Adrenergic and calcium modulation of the

- heart in stress: from molecular biology to function. *Stress*, 10 (2), 173-184.
101. Myslivecek, J., Klein, M., Novakova, M., Ricny, J. (2008) The detection of the non-M2 muscarinic receptor subtype in the rat heart atria and ventricles. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 378 (1), 103-116.
  102. Bao, Y. (1990) [Dynamic changes of myocardial beta, alpha 1-adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in endotoxic rats]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 70 (7), 382-385, 328.
  103. Silverman, H.J., Lee, N.H., el-Fakahany, E.E. (1990) Effects of canine endotoxin shock on lymphocytic beta-adrenergic receptors. *Circ Shock*, 32 (4), 293-306.
  104. Moniotte, S., Belge, C., Sekkali, B., Massion, P.B., Rozec, B., Dessy, C. ve diğ erleri. (2007) Sepsis is associated with an upregulation of functional beta3 adrenoceptors in the myocardium. *Eur J Heart Fail*, 9 (12), 1163-1171.
  105. Enna, S.J., Williams, M. . (2007) Short protocols in pharmacology and drug discovery: a compendium of methods from current protocols in Pharmacology. Hoboken: J. Wiley & Sons.
  106. Contreras, P., Migliaro, E.R., Suhr, B. (2013) Right atrium cholinergic deficit in septic rats. *Auton Neurosci*.
  107. Gholami, M., Mazaheri, P., Mohamadi, A., Dehpour, T., Safari, F., Hajizadeh, S. ve diğ erleri. (2012) Endotoxemia is associated with partial uncoupling of cardiac pacemaker from cholinergic neural control in rats. *Shock*, 37 (2), 219-227.
  108. Oliveira-Pelegrin, G.R., de Azevedo, S.V., Yao, S.T., Murphy, D., Rocha, M.J. (2010) Central NOS inhibition differentially affects vasopressin gene expression in hypothalamic nuclei in septic rats. *J Neuroimmunol*, 227 (1-2), 80-86.
  109. Eum, H.A., Park, S.W., Lee, S.M. (2007) Role of nitric oxide in the expression of hepatic vascular stress genes in response to sepsis. *Nitric Oxide*, 17 (3-4), 126-133.
  110. Yang, S., Cioffi, W.G., Bland, K.I., Chaudry, I.H., Wang, P. (1999) Differential alterations in systemic and regional oxygen delivery and consumption during the early and late stages of sepsis. *J Trauma*, 47 (4), 706-712.
  111. Takayama, K., Yuhki, K., Ono, K., Fujino, T., Hara, A., Yamada, T. ve diğ erleri. (2005) Thromboxane A2 and prostaglandin F2alpha mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med*, 11 (5), 562-566.
  112. Price, S., Evans, T.W., Mitchell, J.A. (2002) Nitric oxide supports atrial function in sepsis: relevance to side effects of inhibitors in shock. *Eur J Pharmacol*, 449 (3), 279-285.

113. Jaue, D.N., Ma, Z., Lee, S.S. (1997) Cardiac muscarinic receptor function in rats with cirrhotic cardiomyopathy. *Hepatology*, 25 (6), 1361-1365.
114. Zhu, Y., Yang, H.T., Endoh, M. (1997) Does nitric oxide contribute to the negative chronotropic and inotropic effects of endothelin-1 in the heart? *Eur J Pharmacol*, 332 (2), 195-199.
115. Ashorobi, R.B., Kpohraror, B.O. (1995) Effects of calcium ions and atropine on endotoxin-induced contractility deficit in rat atrial muscle. *East Afr Med J*, 72 (4), 263-266.
116. Keller, R.S., Jones, J.J., Kim, K.F., Myers, P.R., Adams, H.R., Parker, J.L. ve diğeri. (1995) Endotoxin-induced myocardial dysfunction: is there a role for nitric oxide? *Shock*, 4 (5), 338-344.
117. Parker, J.L., Adams, H.R. (1979) Myocardial effects of endotoxin shock: characterization of an isolated heart muscle model. *Adv Shock Res*, 2, 163-175.
118. Parker, J.L., Adams, H.R. (1985) Development of myocardial dysfunction in endotoxin shock. *Am J Physiol*, 248 (6 Pt 2), H818-826.
119. Parker, J.L., Adams, H.R. (1985) Isolated cardiac preparations: models of intrinsic myocardial dysfunction in circulatory shock. *Circ Shock*, 15 (4), 227-245.

## EK: ETİK KURUL ONAYI



**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU**

06100 Sıhhiye-Ankara  
Telefon: 0 (312) 305 1090-1082 • Faks: 0 (312) 310 0580  
www.etikkurul.hacettepe.edu.tr/index\_hdk.php

Sayı: 52338575 -110

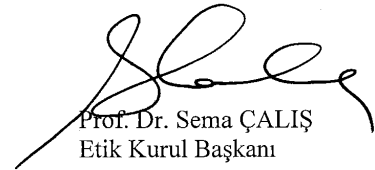
03 Eylül 2013

## HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 03.09.2013 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2013/07
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2013/42
KARAR NUMARASI	: 2013/42-01
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof.Dr.Alper Bektaş İSKİT
HAYVAN DENEYLERİNDEN	
SORUMLU ARAŞTIRMACI	: Dr.Erdem Kamil ÖZER
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	: -
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve	: 42 Adet Wistar Sıçan
SAYISI	

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Alper Bektaş İSKİT'in araştırma yürütücüsü olduğu 2013/42 kayıt numaralı "*Deneysel Septik Şok Modelinde Endotelin ve Nitrik Oksit'in Kalp Kası Fonksiyonlarına Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurula bildirmekle yükümlüdür.

  
Prof. Dr. Sema ÇALIŞ  
Etik Kurul Başkanı