

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDOTELİN RESEPTÖR ANTAGONİSTİ TEZOSENTANIN SIÇANDA
LİPOLİSAKKARİT İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE
KARDİYAK DİSFONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Süleyman Cihan KARA

Tıbbi Farmakoloji Programı

DOKTORA TEZİ

ANKARA

2019

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ENDOTELİN RESEPTÖR ANTAGONİSTİ TEZOSENTANIN SIÇANDA
LİPOPOLİSAKKARİT İLE OLUŞTURULAN DENEYSSEL SEPSİS MODELİNDE
KARDİYAK DİSFONKSİYON ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Süleyman Cihan KARA

Tıbbi Farmakoloji Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Ahmet Mert ERTUNÇ

ANKARA

2019

**ENDOTELİN RESEPTÖR ANTAGONİSTİ TEZOSENTANIN SIÇANDA LİPOLİSAKKARİT
İLE OLUŞTURULAN DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE KARDİYAK DİSFONKSİYON
ÜZERİNE ETKİSİ**

Süleyman Cihan KARA

Danışman: Prof. Dr. Alper B. İSKİT

İkinci Danışman: Doç. Dr. A. Mert ERTUNÇ

Bu tez çalışması 13/06/2019 tarihinde jürimiz tarafından "Tıbbi Farmakoloji Programı" nda doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Ümit YAŞAR

Ümit Yaşar
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. A. Tanju ÖZÇELİKAY

Tanju Ozcelikay
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Süreyya BARUN

Sureyya Barun
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Prof. Dr. Melih Ö. BABAĞLU

Melih Ö. Babaoğlu
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Üye: Doç. Dr. Güray SOYDAN

Güray Soydan
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

01 Temmuz 2019

Diclehan Orhan
Prof. Dr. Diclehan ORHAN

Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan "**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**" kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ... ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

01/07/2019

Dr. Süleyman Cihan KARA



¹"Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge"

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilişkin patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarılan veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlerle ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dr. Süleyman Cihan KARA



TEŞEKKÜR

Hayatta sahip olduğum her şeyin kaynağı, hayatımın bu aşamalarına ulaşmamı sağlayan, her an yanımda olduklarını bildiğim, bu başarılarımın esas sahibi olan anneme ve babama; kendisi uzakta olsa da kalbinin benimle olduğunu bildiğim büyük ablam Neslihan KARA'ya, her türlü sıkıntıda başvurduğum küçük ablam Aslıhan DUMLU'ya en derin duygularıyla teşekkür ederim.

Bu zorlu doktora eğitim sürecim boyunca, bilgilerinden, tecrübelerinden, ağabeyliğinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Alper Bektaş İSKİT'e en derin teşekkürlerimi ve saygılarımı bildirmeyi bir borç bilirim.

Eğitimim sürecinde bilimsel görüşlerini benimle paylaşan Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalının saygıdeğer hocaları Prof. Dr. Mehmet Yıldırım SARA'ya, Prof. Dr. Ümit YAŞAR'a, Prof. Dr. Melih Önder BABAOĞLU'na, Doç. Dr. Güray SOYDAN'a ve Doç. Dr. Ahmet Mert ERTUNÇ'a teşekkür ederim.

Tıp-Bilim Doktoru Bütünleşik Programına beraber adım attığımız, o zamandan bu zamana pek çok zorluğu beraber atlattığımız gerek bilimsel olarak gerek sosyal olarak sıkıntılarımı paylaştığım, her an yanımda olduğunu bildiğim, arkadaşım Gökhan URUK'a teşekkür ederim.

Özellikle tezin yazılma aşamasında bana yardımcı olan, fikirleriyle katkıda bulunan Cemre TÜRETKEN'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamda yaptığım deneylerde bana yardımcı olan, Doç. Dr. Kemal KÖSEMEHMETOĞLU'na, Dr. Eylem SUVEREN'e, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalındaki bütün araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı teknisyenlerine de teşekkür ederim.

ÖZET

KARA, S.C., Endotelin Reseptör Antagonisti Tezosenanın Sıçanda Lipopolisakkarit ile Oluşturulan Deneysel Sepsis Modelinde Kardiyak Disfonksiyon Üzerine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2019. Bu çalışmada endotelin reseptör antagonisti tezosenanın, lipopolisakkarit kullanılarak oluşturulan septik şokta gözlenen kardiyak disfonksiyona etkisi incelenmiştir. Langendorff deneysel düzeneğinde sol ventrikülün geliştirdiği basınçta ($90,70 \pm 4,15$ 'e $59,72 \pm 1,39$), koroner akım hızında ($14,25 \pm 0,66$ 'ya $7,5 \pm 0,44$), sol ventrikülden elde edilen basınç eğrisinin zamana göre türevinin en yüksek ($1882 \pm 70,93$ 'e $1249 \pm 36,55$) ve en düşük ($-1318 \pm 62,77$ 'ye $-777,7 \pm 35,23$) değerlerinde, lipopolisakkarit uygulaması anlamlı azalmaya neden olurken, lipopolisakkaritten iki saat sonra yapılan tezosenan uygulaması bu azalmaları iyileştirmiştir (sırasıyla $72,15 \pm 3,67$; $11,2 \pm 0,54$; $1586 \pm 83,12$; $-1113 \pm 117,90$). Histopatolojik incelemede, lipopolisakkarit, kalp dokusunda hasar yaratmamıştır. İzole atriyum preparatında lipopolisakkarit, atım sayısını artırmış, kasılmaları ise değiştirmemiştir. Lipopolisakkarit uygulanan grubun, atriyum atım sayısı ve kasılmasının karbakol yanıtları ve atım hızı izoprenalin yanıtı kontrol grubuyla benzerdir. Atriyum kasılma-izoprenalin yanıtları iki grupta farklıdır. Tezosenan her iki grupta da atriyum atım sayısına anlamlı şekilde etki etmemiştir. Tezosenan özellikle lipopolisakkarit grubunda atriyum kasılmasını artırmıştır. İzole papiller kas preparatında lipopolisakkarit, kasılma kuvvetini, izoprenalin ve karbakol yanıtlarını değiştirmemiştir. Bu sonuçlara göre endotelin reseptör antagonisti tezosenan, lipopolisakkarit ile indüklenen miyokardiyal disfonksiyonu Langendorff düzeneğinde azaltmıştır. Bu etkileri *in vitro* ortamda gösterilememiştir. Tezosenanın vücutta kalp dışı oluşan etkilerine ikincil olarak kardiyak fonksiyonlar iyileşiyor olabilir.

Anahtar Kelimeler: septik şok, tezosenan, Langendorff, kalp kası, endotelin

ABSTRACT

KARA, S.C., Effect of Endothelin Receptor Antagonist Tezosentan on Cardiac Dysfunction on an Experimental Model of Sepsis Induced by Lipopolysaccharide in Rats, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Philosophy of Doctorate (PhD) Thesis in Medical Pharmacology, Ankara, 2019. In this study it is showed that endothelin receptor blocker, tezosentan, ameliorates cardiac dysfunction caused by septic shock. Tezosentan abrogated reduction of left ventricular developed pressure (72.15 ± 3.67 vs 59.72 ± 1.39), coronary flow rate (11.2 ± 0.54 vs 7.5 ± 0.44), maximum (1586 ± 83.12 vs 1249 ± 36.55) and minimum (-1113 ± 117.90 vs -777.7 ± 35.23) point for derivation of pressure against time of left ventricle, caused by lipopolysaccharide in Langendorff perfused heart. Histopathological examination showed no disruption in myocyte structure or endothelium and no inflammatory cell infiltration. Beating rate was decreased and contraction of isolated atria was not changed. Concentration-response curve of atrial beating rate and atrial contraction with carbachol was similar while there was significant difference between isoprenaline-atrial contraction concentration-response curves of lipopolysaccharide group and control group. Beating rate response of atrium to isoprenaline was similar between two groups. Tezosentan had not effect on dose response curve of atrial beating rate with isoprenaline where as affected atrial contraction response to isoprenaline of both control and lipopolysaccharide groups. Tezosentan increased atrial contraction and beating rate on both control and lipopolysaccharide groups. Lipopolysaccharide did not affect contraction and concentration-response curve of contraction or relaxation curve with isoprenaline and carbachol respectively of papillary muscle. Based on these results tezosentan ameliorated cardiac dysfunction caused by lipopolysaccharide which was not observed *in vitro* study which can be explained as improving cardiac function in LPS injected rats secondary to its effect on other organ systems.

Key words: Septic shock, tezosentan, Langendorff, heart muscle, endothelin

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN SAYFASI	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR	xiii
ŞEKİLLER	xvi
TABLolar	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Sepsis	2
2.1.1. Sepsisin Tarihçesi	2
2.1.2 Sepsis ile İlgili Tanımlamalar	2
2.1.3 Sepsis Epidemiyolojisi	3
2.1.4 Sepsis Gelişimi İçin Risk Faktörleri	4
2.1.5 Sepsis Etiyolojisi	4
2.1.6 Sepsis Patofizyolojisi	5
2.1.7. Sepsiste Tedavi Stratejileri	7
2.2. Deneysel Septik Şok Modelleri	10
2.2.1. Endotoksin Uygulamasıyla Oluşturulan Sepsis Modeli	11
2.2.2. Çekal Bağlama ve Delme (CLP) Yöntemiyle Oluşturulan	12

Sepsis Modeli	
2.2.3. Canlı Bakteri Uygulaması ile Oluşturulan Sepsis Modeli	12
2.3. Septik Kardiyomyopati	13
2.4. Kalp Kası	16
2.4.1. Langendorff İzole Perfüze Kalp	18
2.4.2. Sıçan İzole Sağ-Sol Atriyum ve Ventriküler Papiller Kas Preparatları	21
2.5. Endotelin	21
2.6. Endotelin ve Septik Şok	25
2.7. Tezosentan	27
2.8. Hipotez	28
2.9. Amaç	28
3. YÖNTEMLER	29
3.1. Deney Hayvanları	29
3.2. Etik Kurul İzni	29
3.3. Langendorff İzole Kalp Düzenegi	29
3.4. Tezosentanın İntraperitoneal Uygulandığı Langendorff Deney Protokolü ve Deney Grupları	30
3.5. Tezosentanlı Solüsyonlar Kullanılarak Gerçekleştirilen Langendorff Deney Protokolü ve Deney Grupları	32
3.6. İzole Organ Banyosu Deney Protokolü ve Grupları	32
3.7. İzole Organ Banyosunda Tezosentan Deneyleri	34
3.8. Histopatolojik İnceleme	35
3.9. Kullanılan Çözeltiler ve İlaçlar	35
3.10. Verilerin Değerlendirilmesi	36
4. BULGULAR	37

4.1. Tezosentanın İntraperitoneal Uygulandığı Sıçanlarda Langendorff İzole Kalp Çalışmaları	37
4.1.1. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Atım Sayısı Üzerine Etkileri	37
4.1.2. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Sol Ventrikülün Geliştirdiği Basınç (LVDP) Üzerine Etkileri	38
4.1.3. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Koroner Perfüzyon Üzerine Etkileri	38
4.1.4. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Basınç-Zaman Grafiğinde Maksimum Türev Değeri Üzerinde Etkileri (dP/dt_{max})	39
4.1.5. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Basınç-Zaman Grafiğinin Minimum Türev Değeri Üzerinde Etkileri (dP/dt_{min})	40
4.2. Tezosentanın Banyo Ortamında Kalbe Verildiği Langendorff İzole Kalp Çalışmaları	41
4.3. İzole Organ Banyosunda Kontrol ve LPS Grubu Deneyleri	49
4.3.1. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların Bazal Atım Hızları ile Kasılmaları ve İzole Edilen Papiller Kasların Bazal Kasılmaları	49
4.3.2. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların İzoprenaline Atım Sayısı Cevapları	49
4.3.3. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların İzoprenaline Kasılma Cevapları	51
4.3.4. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Papiller Kasların İzoprenaline Kasılma Cevapları	51
4.3.5. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların Karbakole Atım Hızı Yanıtları	53
4.3.6. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların Karbakole Gevşeme Yanıtları	53
4.3.7. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Papiller Kasların Karbakole Gevşeme Yanıtları	53

4.4. Tezosenanın Banyoda İnkübe Edildiği İzole Organ Banyosu Deneyleri	57
4.4.1. Tezosenanın Atriyum Atım Sayısına Etkileri	57
4.4.2. Tezosenanın Atriyum Kasılmasına Etkileri	58
4.4.3. Tezosenanın Atriyum Atım Sayısı İzoprenalin Cevabı Üzerine Etkileri	60
4.4.4. Tezosenanın Atriyum Kasılması İzoprenalin Cevabı Üzerine Etkileri	60
4.5. LPS ve Tezosenanın Kalp Üzerindeki Histopatolojik Etkileri	63
5. TARTIŞMA	66
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	72
7. KAYNAKLAR	75
8. EKLER	87
Ek-1: Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı	
Ek-2: Dijital Makbuz	
Ek-3: Ekran Görüntüsü	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER ve KISALTMALAR

α	α Adrenerjik Eeseptör
β	β Adrenerjik Reseptör
ANOVA	<i>“Analysis of variances”</i>
ARDS	Akut Respiratuvar Distress Sendromu
AT-1	Anjiyotensin 1 Reseptörü
ATP	Adenozin Trifosfat
AV	Atriyoventriküler
Ca⁺⁺	Kalsiyum İyonu
CaCl₂	Kalsiyum Klorür
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CD	<i>“Cluster of Differentiation”</i>
CLP	<i>“Cecal Ligation and Puncture”</i>
CMV	Sitomegalovirüs
CO₂	Karbondioksit Gazı
DAMP	<i>“Damage Associated Molecular Pattern”</i>
DİK	Dissemine İnvasküler Koagülasyon
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dP/dt_{max}	Basıncın Zamana göre Türevinin En Yüksek Değeri
dP/dt_{min}	Basıncın Zamana göre Türevinin En Düşük Değeri
EAS	Elektriksel Alan Stimülasyonu
EBV	Ebstein-Barr Virüs
ECE	<i>“Endothelin Converting Enzyme”</i>

EGDT	<i>“Early Goal Directed Therapy”</i>
ERA	Endotelin Reseptör Antagonisti
ET-1	Endotelin-1
ET-A	Endotelin A Reseptörü
ET-B	Endotelin B Reseptörü
FiO₂	<i>“Fraction of Inspired Oxygen”</i>
HFOV	<i>“High Frequency Oscillatory Ventilation”</i>
HHV-8	<i>“Human Herpes Virus”</i>
HMGB1	<i>“High Motility Group Protein B1”</i>
IFN	İnterferon
IL	İnterlökin
i.p.	İntraperitoneal
KCl	Potasyum Klorür
KHS	Krebs-Henseleit Solüsyonu
KH₂PO₄	Potasyum Dihidrojen Fosfat
LPS	Lipopolisakkarit
LVDP	<i>“Left Ventricular Developed Pressure”</i>
LVEF	<i>“Left Ventricular Ejection Fraction”</i>
MgSO₄	Magnezyum Sülfat
MV	Mekanik Ventilatör
Na⁺	Sodyum İyonu
NaCl	Sodyum Klorür
NaHCO₃	Sodyum Bikarbonat
NF-κB	Nükleer Faktör Kappa B
NO	Nitrik Oksit

NOS	Nitrik Oksit Sentaz
OAB	Ortalama Arteriyel Basınç
O₂	Oksijen Gazı
PAH	Pulmoner Arteriyel Hipertansiyon
PAMP	<i>"Pathogen Associated Molecular Pattern"</i>
PaO₂	Parsiyel Oksijen Basıncı
pD₂	Maksimum Etkinin %50'sini Oluşturan Agonist Konsantrasyonunun Negatif Logaritması
PEEP	<i>"Positive End Expiratory Pressure"</i>
pps	<i>"Pulse per Second"</i>
qSOFA	<i>"Quick Sequential Organ Failure Assessment"</i>
ROS	<i>"Reactive Oxygen Species"</i>
SA	Sinoatriyal
SERCA	<i>"Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase"</i>
SIRS	<i>"Systemic Inflammatory Response Syndrome"</i>
SOAP	<i>"Sepsis Occurance in Acutely Ill Patients"</i>
SOFA	<i>"Sequential Organ Failure Assessment"</i>
SSC	<i>"Surviving Sepsis Campaign"</i>
TLR	<i>"Toll Like Receptors"</i>
TNF-α	<i>"Tumor Necrosis Factor α"</i>
VCAM-1	<i>"Vascular Cellular Adhesion Molecule-1"</i>

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1 Deneysel septik şok modelleri	10
2.2 Septik şokta gözlenen kardiyak disfonksiyonun olası sebepleri	15
2.3. Sabit akım modundaki Langendorff düzeneği	20
2.4 Endotelin-1'in yapısı	22
2.5 Tezosentanın moleküler yapısı	28
3.1 Langendorff deney düzeneği	30
4.1 40.dakikada kalp atım sayısı değerleri	37
4.2 40.dakikada sol ventrikülün geliştirdiği basınç değerleri.	38
4.3 40.dakikada koroner perfüzyon hızı değerleri.	39
4.4 40.dakikadaki $+dP/dt_{max}$ değerleri.	40
4.5 40.dakikada dP/dt_{min} değerleri.	41
4.6 1 μ M (A), 10 μ M (B) ve 100 μ M (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalarda sol ventrikülün geliştirdiği basıncın 20. dakikadaki basınca oranı.	43
4.7 1 μ M (A), 10 μ M (B) ve 100 μ M (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki kalp hızının 20. dakikadaki kalp hızına oranı.	44
4.8 1 μ M (A), 10 μ M (B) ve 100 μ M (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki dP/dt_{max} değerinin 20. dakikadaki dP/dt_{max} değerine oranı.	46
4.9 1 μ M (A), 10 μ M (B) ve 100 μ M (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki dP/dt_{min} değerinin 20. dakikadaki dP/dt_{min} değerine oranı.	47
4.10 1 μ M (A), 10 μ M (B) ve 100 μ M (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki koroner perfüzyon hızı değerinin 20. dakikadaki koroner perfüzyon hızı değerine oranı.	48
4.11 A, İzole atriyum atım sayısı izoprenalin cevapları.	50

	B, İzoprenalin pD_2 değerleri.	
4.12	İzole atriyum kasılması izoprenalin cevabı.	51
4.13	A, İzole papiller kas kasılması izoprenalin cevapları. B, İzoprenalin pD_2 değerleri.	52
4.14	A, İzole atriyum atım sayısı karbakol cevapları. B, Karbakol pD_2 değerleri.	54
4.15	A, İzole atriyum kasılması karbakol cevapları. B, Karbakol pD_2 değerleri.	55
4.16	A, İzole papiller kas kasılması karbakol cevapları. B, Karbakol pD_2 değerleri.	56
4.17.	Tezosentanın atriyum atım sayısına oransal etkisi.	57
4.18	Tezosentanın atriyum kasılmasına oransal etkisi.	58
4.19	A, B, C Tezosentanın sırasıyla 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M konsantrasyonlarda atriyum atım sayısına etkileri. D, E, F Tezosentanın sırasıyla 1 μ M, 10 μ M, 100 μ M konsantrasyonlarda atriyum kasılmasına etkileri.	59
4.20	Kontrol ve LPS gruplarının 1 μ M (A), 10 μ M (B), 100 μ M (C) tezosentan inkübasyonu öncesi ve sonrası atriyum atım sayısı izoprenalin yanıtları.	61
4.21	Kontrol ve LPS gruplarının 1 μ M (A), 10 μ M (B), 100 μ M (C) tezosentan inkübasyonu öncesi ve sonrası atriyum kasılması izoprenalin yanıtları.	62
4.22	Kontrol grubunun histopatolojik incelemesi	64
4.23	LPS grubunun histopatolojik incelemesi.	64
4.24	Tezosentan grubunun histopatolojik incelemesi.	65
4.25	LPS +Ttezosentan grubunun histopatolojik incelemesi.	65

TABLÖLAR

Tablo		Sayfa
2.1	SOFA skor sistemi	3
2.2	qSOFA skor sistemi	3
4.1	Deney grupları; 45. dakika bazal değerleri	49

1. GİRİŞ

Sepsis, enfeksiyona karşı gelişen disregüle konak yanıtı sonucu oluşan, hayati tehdit edici organ disfonksiyonudur. Enfeksiyon varlığında organ disfonksiyonu gerçekleşiyorsa sepsis tanısı konur. Her yıl dünya çapında ortalama 30 milyon insan sepsisten etkilenmekte ve yılda yaklaşık 6 milyon insan ölmektedir. Sepsiste patofizyolojik olarak doku hipoperfüzyonu, endotel disfonksiyonu ve koagülasyona yatkınlık olmakta sonuç olarak çoklu organ yetmezlikleri görülmektedir. Tedavide sıvı resüsitasyonu, uygun antibiyotik kullanımı ve gerekli olması halinde vazopressörle destek kullanılsa da hala etkili bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır.

Septik kardiyomiyopati sepsisli hastalarda görülen kardiyak disfonksiyondur. Varlığı sepsiste kötü prognoz kriteridir. Patofizyolojisinde aşırı NO ve ROS üretimi, hücre içi kalsiyum dengesindeki bozulmalar, mitokondriyal disfonksiyon, bazı proteinlerin ekspresyonunda değişiklikler gibi pek çok mekanizma yer almaktadır. Mediyatör olarak TNF- α , IL-1, NO, endotelin gibi maddeler suçlanmaktadır.

Endotelin 21 amino asitten oluşan potent bir vazokonstriktör moleküldür. Sepsiste gelişen akut respiratuvar distress sendromunda (ARDS), kardiyomiyopatide, pulmoner hipertansiyonda, splanknik vazospazmda, akut böbrek hasarında, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK) oluşumunda önemli bir mediyatör olduğunu düşündüren çalışmalar bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, sıçanda, lipopolisakkarit enjeksiyonuyla oluşturulan septik şok modelinde gelişecek kardiyak disfonksiyon üzerine nonselektif endotelin reseptör antagonisti tezosentanın etkisini incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sepsis

2.1.1. Sepsisin Tarihçesi

Sepsis, Yunanca “çürüme”den türemiştir. İlk olarak 2700 yıl önce Homer’in şiirlerinde bahsedilmiştir. Hipokrat ve Galen de daha sonra çalışmalarında kullanmıştır (1). İlk modern tanımlama Hugo Schottmüller tarafından, bir odaktan patojenik bir bakterinin aralıklı veya devamlı olarak kan akımına karışması ve böylece bazı semptomlara neden olması, şeklinde yapılmıştır (2). 1991 yılında Roger Borne önderliğinde 1. Sepsis Tanımı Fikir Birliği (First Consensus Definition of Sepsis) kurulmuştur. 2016 yılında üçüncüsü (Sepsis-3) yayınlanmıştır (3).

2.1.2 Sepsis ile İlgili Tanımlamalar

Sepsis-3'e (3) göre sepsis, enfeksiyona karşı gelişen disregüle konak yanıtı sonucu oluşan, hayatı tehdit edici organ disfonksiyonudur. Sepsis-3'te, Sepsis-2 ve Sepsis-1'de yer alan, Sistemik İnflamatuvar Yanıt Sendromu (SIRS) terk edilmiştir. Enfeksiyon varlığında “Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)” skorunda 2 puandan fazla artış sepsis olarak kabul edilmektedir (Tablo 1.1). Şüphelenilen hastalarda tarama olarak “hızlı SOFA” (qSOFA) testi önerilmektedir (Tablo 1.2.). qSOFA skoru ikiden büyük olan hastaların organ yetmezliği ve enfeksiyon açısından ileri değerlendirmelere tabi tutulmaları önerilmektedir (3).

Septik şok, bir dağılımsal şok türüdür. Dolaşımsal, hücresel, metabolik anomalilerin ağır bastığı ve normal sepsise göre daha fazla mortalite riski olan, sepsisin ağır bir formudur. Klinik olarak; sepsis gelişmiş hastada, uygun sıvı resüsitasyonuna rağmen; ortalama arteriyel basınç (OAB) değerini 65 mmHg'nın üstünde ve laktat seviyesini 2mmol/L seviyesinin altında tutmak için vazopressör ihtiyacının olmasıdır (3).

Sepsisin belirtilerinin, sadece enfeksiyöz ajana ve oluşturduğu bağışıklık yanıtına bağlı olmayıp aynı zamanda pıhtılaşma, immünsüpresyon ve organ işlev bozukluğu nedeniyle oluştuğuna dair kanıtlar da vardır (4).

Tablo 2.1 SOFA skor sistemi (3).

SİSTEMLER	SKORLAR				
	1	2	3	4	5
Solunum					
Pao ₂ /Fio ₂ , mmHg	≥400	<400	<300	<200 MV+	<100 MV+
Pıhtılaşma					
Trombosit, x10 ³ /μL	≥150	<150	<100	<50	<20
Karaciğer					
Bilirubin, mg/dL	<1,2	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0-11,9	>12,0
Kardiyovasküler					
OAB≥70mmHg	OAB <70mmHg	Dopamin <5 veya Dobutamin	Dopamin 5-15 ya da Adrenalin ≤0,1 ya da Noradrenalin < 0,1	Dopamin >15 ya da Adrenalin >0,1 ya da Noradrenalin >0,1	
Santral Sinir Sistemi					
Glasgow Koma Skoru	15	13-14	10-12	6-9	<6
Böbrek					
Kreatinin, mg/dL	<1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5-4,9	>5
İdrar çıkışı, mL/gün				<500	<200

Fio₂: Solunan havadaki oksijen oranı; Pao₂: Parsiyel oksijen basıncı; OAB: Ortalama arteryel basınç; MV+: Mekanik ventilatör altında; Katekolamin dozları μg/kg/dakika cinsinden verilmiştir

Tablo 2.2 qSOFA skor sistemi. (3)

qSOFA Skor Sistemi
Solunum Hızı ≥ 22/dakika
Mental durum bozukluğu
Sistolik kan basıncı ≤ 100 mmHg

2.1.3 Sepsis Epidemiyolojisi

Türkiye'deki sepsis prevalansı ile ilgili epidemiyolojik bir çalışma bulunmamaktadır. Her yıl dünya çapında 30 milyon insan sepsisten etkilenmekte ve yılda yaklaşık 6 milyon insan ölmektedir (5). Birleşik Devletlerde yapılan bir çalışmada sepsis prevalansı 100.000'de 535 olarak bulunmuştur ve daha da artması beklenmektedir (6). 2016'da yapılan ve 27 çalışmayı birleştiren bir meta analizde, sepsis insidans hızı yıllık 437/100.000, ağır sepsis insidans hızı 270/100.000; mortalite oranları ise sepsiste %17, ağır sepsiste %26 olarak bulunmuştur (7). Yapılan çalışmalar sepsis insidansının arttığını göstermiştir (8). Sepsis insidansının artmasında, yaşam ömrünün uzaması, immünsüpresyon ve çoklu ilaç tedavisine

dirençli enfeksiyonlar suçlanmaktadır (9). Irklar ve etnik gruplar arasında da sepsis insidansı farklılıklar gösterebilmektedir. Afro-Amerikan erkeklerde sepsis insidansının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (8). Kadınlarda ağır sepsis insidansı daha düşüktür (10). Bu nedenle, cinsiyet hormonlarının immün yanıtta düzenleyici olabileceği bildirilmiştir (11).

2.1.4 Sepsis Gelişimi İçin Risk Faktörleri

Yoğun bakıma yatmak sepsis için risk faktörüdür. Yapılan bir çalışmaya göre yoğun bakıma yatan hastaların %50'sinde hastane enfeksiyonu gelişmektedir. Bunlar da sepsis için risk altındadırlar (12). İleri yaş; sepsis riskini, sepsisle ilişkili mortaliteyi ve sepsis komplikasyonlarını artırmaktadır (13). İmmünsüpresyon, enfeksiyonlara yatkınlığı artırdığı için sepsis ve septik şok riskini artırmaktadır. Diyabet ve obezite bağışıklık sistemini baskıladığı için bu hastalar risk altındadırlar (14). Sepsis ve komplikasyonları kanser hastalarında daha sık görülmektedir ve bu komplikasyonlar görüldüğünde mortalite daha yüksektir (15). Yakın zamanda hastanede yatmış olmak özellikle dirençli mikroorganizmalara bağlı sepsis için risk faktörüdür. Bununla birlikte genetik olarak bazı enfeksiyonlara yatkın olmak özellikle çocukluk çağından başlayarak sepsis için risk oluşturmaktadır.

2.1.5 Sepsis Etiyolojisi

Sepsise, enfeksiyona yol açan neredeyse her organizma neden olabilir. Bu yüzden sepsisin klinik prezentasyonu çok çeşitli olabilmektedir (16). Sepsis, toplum veya hastane kaynaklı olabilmektedir. Hastaneye yatışla sonuçlanan sepsis vakalarının %80'i toplum kaynaklıdır. Bir çalışmaya göre sepsise en çok neden olan enfeksiyon bölgeleri sırasıyla akciğer (%64), karın (%20), böbrek ve genitoüriner sistemdir (%14), (17, 18).

“SOAP” çalışması, Gram (+) ve Gram (-) bakteriyel enfeksiyonların sepsis etiyojisinde benzer oranda yer aldıklarını göstermiştir (18). Amerika Birleşik Devletleri'nde 1979 ile 2000 yılları arasındaki verileri inceleyen bir epidemiyolojik çalışmada, özellikle çalışmanın son yıllarında Gram (+) bakteriler, gram (-)

bakterilerden daha yüksek bulunmuş olsa da (8); *Escherichia coli*, *Pseudomonas* türleri gibi Gram (-) bakteri ve *Candida* türleri gibi mantar enfeksiyonlarının özellikle yoğun bakımlarda fazla olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (17). 2012’de yapılan “*Intensive Care Over Nations Audit*”te ise Gram (-) bakteriyel enfeksiyonların Gram (+) enfeksiyonlardan daha yaygın olduğunu göstermiştir (19).

2.1.6 Sepsis Patofizyolojisi

Sepsis, organ, hücre ve doku seviyelerinde çeşitli mekanizmalarla hasarlara neden olmaktadır (10).

Damar içinden kaçan sıvı yerine konulduğunda, hastalarda sistemik vasküler rezistansın azalmış, kardiyak debinin korunmuş veya artmış olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (20). Bu durum haftalar süren akut ventriküler disfonksiyona rağmen gerçekleşmektedir (21). Doku hipoperfüzyonunun göstergesi olan laktat seviyelerinde artış ile mortalitede artış ilişkili bulunmuştur (22). Sepsiste endotelial disfonksiyon meydana gelmektedir. Lökosit adezyonunda artış, prokoagülan duruma geçiş, vazodilatasyon, bariyer fonksiyonunda kayıp ve sonucunda doku ödemi oluşmaktadır (23). Yaygın doku faktörü saliverilmesi, fibrin birikimi, antikoagülan sistemlerdeki bozukluklar DİK’e yol açabilmekte ve organ disfonksiyonu ile mortalitede artışa neden olabilmektedir (24). Akciğerlerde geçirgenliğin artması proteinden zengin sıvının alveollerde birikmesine, ventilasyon perfüzyon bozukluğuna, hipoksemiye, akciğer kompliyansında azalmaya ve sonuç olarak ARDS’ye neden olabilmektedir (25). Sitokin fazlalığının neden olduğu barsak bariyerindeki bozukluklar, bakteriyel translokasyona; lümendeki pankreatik enzimler barsak epitel hasarına neden olmaktadır. Bu durum sistemik inflamasyonu ve çoklu organ disfonksiyonunu daha da artırmaktadır (26). Sepsis; karaciğerde, bilirubin ve enterik patojen lipidlerin temizlenmesi gibi bazı fonksiyonları bozarak sistemik inflamasyonu artırmaktadır (27). Sitokinler ile immün aracılı mikrovasküler ve tübüler bozukluklar sepsiste görülen akut böbrek hasarına çeşitli mekanizmalarla neden olmaktadır (28). Santral sinir sistemi, sepsis patofizyolojisinin erken dönemlerinde özellikle anti-inflamatuvar olarak önemli bir rol oynamaktadır.

Beyindeki bazı bölgeleri etkileyen sitokinler, beyin sapına uyarı gitmesine, oradan vagal uyarıyla dalak ve barsaklara sitokin üretiminin azaltılması yönünde sinyaller gitmesine neden olmaktadır (29). Bununla birlikte deneysel sepsis modellerinde vagal sinir uyarımının sitokin cevabı ve endotel hasarını azalttığı gösterilmiştir (30). Ensefalopati, ağır sepsiste yaygındır ve hafif dikkat dağınıklığından komaya kadar çeşitli seviyelerde kendini gösterebilir (31). Sistemik endotelyal fonksiyon bozukluğu kan beyin bariyerinin bozulmasına, inflamatuvar sitokinlerin beyne girmesine ve dolayısıyla perivasküler ödem ile nörotransmitter dengelerinde değişikliklere neden olmaktadır (32). Buna karaciğer, böbrek bozukluğu ve koagülopati eşlik edince hasar daha da artmaktadır (33). Sepsisin erken aşamalarında görülen proinflamatuvar durum daha sonrasında immün sistemde bozukluklara neden olabilmektedir. Septik olan yoğun bakım hastalarının postmortem dalak analizlerinde, CD4+ ve CD8+ T hücrelerinde azalma olduğu, immün yanıtta bozukluğa neden olduğu gösterilmiştir (34). Bu durumun sitomegalovirüs (CMV), herpes simpleks virüs (HSV), Epstein-Barr virüs (EBV) ve insan herpes virüsü-6 (HHV-6) gibi virüslerin aktivasyonuna neden olduğu belirtilmiştir (35).

TNF- α , sepsisin hücresel düzeyde gösterdiği etkilerin anahtar mediyatörlerinden biridir. Sıçanlara TNF- α infüze edildiğinde saatler içinde takipne, laktik asidozla birlikte çeşitli organlarda iskemi veya kanama olduğu gösterilmiştir (36). Görülen bu etkiler sıçana endotoksin verildiğinde görülen etkilere benzerdir (37). Bakteri infüzyonundan önce TNF- α bloke eden antikorların verilmesi, deney hayvanlarında organ yetmezliği ve septik şoku engellemiştir.

Patojenlerden salınan patojen ilişkili moleküler kalıplar (PAMP) ve konaktan salınan hasar ilişkili moleküler kalıplar (DAMP), bağışıklık hücrelerinin hücre yüzeyinde veya sitoplazmalarında bulunan bazı kalıp tanıyıcı reseptörlere bağlanarak; IL-1, IL-6, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonlarında artışa neden olmaktadır (38).

Normal şartlarda inflamatuvar sitokinler küçük ve yerel enfeksiyonların kontrolünü sağlarlar. Ama cevap, belirli bir seviyenin üstüne çıkarsa zararlı

olmaktadırlar (10). Hidroksil grubu ile nitrik oksit gibi reaktif radikaller hücrel proteinlere, lipidlere ve DNA'ya zarar vermekte ve mitokondriyal fonksiyonları bozmaktadırlar. Bu sitokinler, bağışıklık hücrelerinin yaşam sürelerini ve aktivitelerini artırmakta, endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonlarında artışa yol açmakta, akut faz reaktanlarının üretimini artırmakta, doku faktörünün salımında artışa dolayısıyla tromboza yatkınlığa yol açmaktadır (39). Kompleman aktivasyonu, granüositlerden enzim salıverilmesine neden olabilmekte ve endotelial geçirgenliği artırabilmektedir (40).

Ağır sepsis katabolik bir sürece neden olmaktadır. İnflamatuvar sitokinler kas dokusunda hızlı bir yıkıma ve glikoza bağımlı olarak proliferen olan bağışıklık hücrelerine yakıt olmak için amino asitlerin glukoneogeneze yönlendirilmesine neden olmaktadır. İnsülin direnci ve hiperglisemi de sepsisin karakteristik bulgularıdır. Bu durumların boyutu klinik durumun ciddiyetiyle orantılıdır. Amaç, patolojik olarak artmış olan immün yanıtın gerektirdiği enerji kaynağını sağlamaktır (41).

Sepsis sırasında sadece proinflamatuvar yolaklar değil, anti-inflamatuvar yolaklar da aktive olmaktadır. IL-10; IL-6, IFN- γ üretimini azaltıp, IL-1 ve TNF- α 'nın etkisinin sonlandırılmasına yardımcı olmaktadır (38). Hücrel düzeyde PAMP'lar, DAMP'lar, hasarlı proteinler ve organeller lizozomal yolla parçalanmakta ve böylece inflamazom aktivasyonunu azalması amaçlanmaktadır (42). Lipoksin, resolvin, protektin, maresin gibi biyoaktif lipidlerin; ROS'ları, endotelial geçirgenliği ve lökositlerin çağrılmasını azalttıkları gösterilmiştir (43). Düzenleyici T hücreleri ve miyeloid seriye ait baskılayıcı hücreler de anti-inflamatuvar sitokinler üreterek immün yanıtın bitmesinde etkili rol oynamaktadırlar (44).

2.1.7. Sepsiste Tedavi Stratejileri

Sepsis sağ kalımındaki artış, etkili tedavi stratejileri olduğunu gösterse de hala kabul edilmiş özel tedaviler mevcut değildir. Patofizyolojiden hareketle kullanılan bazı yöntemlerin faydalarının yanında zararlıının da olmasından dolayı bu konuda daha fazla randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (10).

En son “*Surviving Sepsis Campaign*” (SSC) rehberi sepsisin fark edilmesinden sonra bir saat içinde etkili antibiyotik tedavisinin başlanmasını söylemektedir (45). 2014’te yapılan bir retrospektif çalışmada, antibiyotiğe başlanmasındaki her gecikmenin mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir. Bir saatlik gecikme %24,5 ile %27,2’lik bir artışa neden olurken 6 saatten fazla gecikme %30,9 ile %35,3’lük artışa neden olmaktadır.

Santral venöz basıncı 8-12 mmHg, ortalama arteriyel basıncı 65-90 mmHg, idrar çıkışı 0,5 mL/kg/h ve santral venöz oksijen satürasyonu %70 olacak şekilde kristaloid, kolloid, vazopressör ve gerekirse kan ürünlerinin de kullanıldığı “*Early Goal Directed Therapy*” (EGDT) mortalitede %16 azalma sağlamaktadır. SSC de dahil olmak üzere pek çok merkez tarafından kullanılan tedavi stratejisidir (46). Ancak sonradan yapılan çalışmalar EGDT protokolünden ziyade; sepsisin erken tanınmasının, antibiyotiğe erken başlanmasının ve diğer gelişmelerin bu sağkalım artışında etkili olduğunu ortaya koymuştur. Öte yandan agresif sıvı replasman tedavilerinin, endotel geçirgenliğinin de arttığı göz önünde bulundurulduğunda, ARDS’de artışa neden olduğu ortaya konmuştur (47). Resüsitasyonun etkinliği laktat seviyeleri ve ortalama arteriyel basınç ölçümleriyle takip edilmektedir. Ortalama arteriyel basıncı 80-85 arasında tutmak, 60-65 arasında tutmaya göre böbrek fonksiyonlarında iyileşmeye neden olsa da bu uygulamanın sağkalım üzerine olumlu etkisi gösterilememiştir (48).

Vazopressörlerin kullanımı ile ilgili literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. 3000 kişinin yer aldığı retrospektif bir çalışmada, ilk saatte en az 1 litre sıvının verildiği ve septik şokun başlangıcından 1-6 saat sonra vazopressörlerin kullanıldığı grupta mortalite en az bulunmuştur (49). Hangi vazopressörün kullanılması gerektiği ile ilgili farklı yorumlar bulunmaktadır. Bir çalışmada ikna edici bir fark bulunamazken (50), 2012’de yapılan bir çalışmada dopamin kullanıldığında noradrenaline göre daha fazla mortalite gözlemlendiği belirtilmiştir (51). En son SSC rehberinde ilk basamak olarak noradrenalin önerilirken, ikinci basamakta adrenalin

veya düşük doz vazopressin önerilmiştir. Dopamin ve fenilefrinden kaçınılması gerektiği aktarılmıştır (52).

En son yapılan randomize kontrollü çalışmalardan birisinde (+) inotropik ve kalsiyum duyarlaştırıcı olan levosimendanın mortalite ve organ disfonksiyonunda iyileşmeye neden olmadığı gösterilmiştir (53).

SSC'nin 2016'da yayınlanan rehberinde, ARDS gelişmiş septik şoktaki hastaların yüksek PEEP değerle ve yüzü koyun pozisyonda ventile edilmesi önerilmiştir. Yüksek frekanslı osilatuar ventilasyon (HFOV) ile bronkospazm gelişmemiş hastalarda β_2 agonist kullanılması önerilmemiştir. ARDS gelişmemiş ama solunum yetmezliği olan septik hastalarda düşük tidal hacimli ventilasyon önerilmiştir (52).

Randomize kontrollü bazı çalışmalarda enteral ve parenteral beslenme arasında anlamlı fark gösterilememiştir (54). SSC, enteral beslenebilen hastalarda, erken parenteral beslenmeyi önermemektedir. Enteral beslenmeye uygun olmayan hastalarda ilk 7 gün direkt parenteral beslenme yerine intravenöz glukoz veya tolere edebildiği kadar beslenme ürünleri kullanılmasını SSC önermektedir. Septik hastalarda kan glukoz seviyesinin 180 mg/dL'nin üzerine çıkması durumunda, iki saatte bir glukoz seviyeleri tekrar kontrol edilerek, gerekirse insülin infüzyonu başlatılması önerilmektedir (52).

SSC, glukokortikoid kullanımını ancak uygun vazopressör ve sıvı resüsitasyonuna rağmen hemodinamik stabilite sağlanamazsa önermektedir (52).

Moleküler hedeflere yönelik tedavi stratejileri denenmektedir. TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinleri durdurmanın mortaliteyi azaltacağı düşünülmüştür. Ama yapılan bir çalışmada anti TNF- α 'nın mortaliteyi azaltmadığı hatta yüksek dozlarda artırdığı gösterilmiştir (55). IL-1 α 'ya ve bakteriyel virülans faktörlerine karşı geliştirilen bazı moleküler tedavilerle de anlamlı olarak fayda sağlamamıştır (56-59). Aktive protein C konsantresi (drotrecogin- α) ile yapılan bir çalışmada 28 günlük

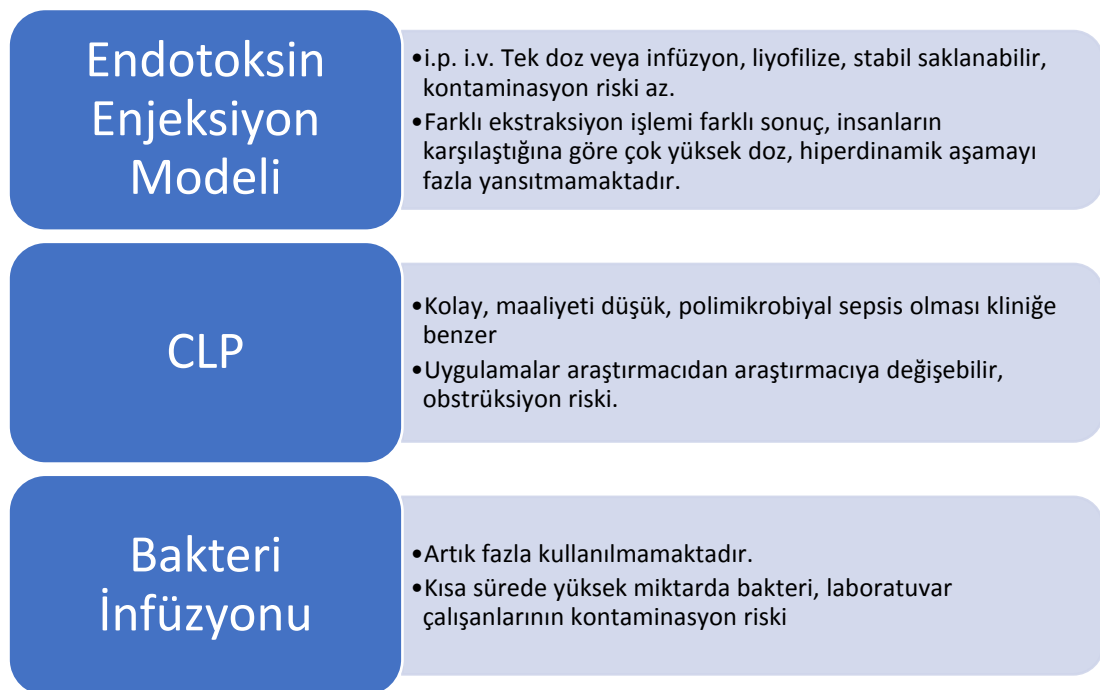
mortalitenin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (60). Ancak kanama problemleri ve çalışma hakkındaki karşıt görüşler nedeniyle klinikte çok kullanılmamaktadır (61).

Septik şokta yeni tedavi stratejileri ile ilgili halen devam eden pek çok klinik çalışma bulunmaktadır (10).

2.2. Deneysel Septik Şok Modelleri

Deneysel septik şok modellerinde; farklı yöntem veya hayvan türü kullanılması gibi faktörler nedeniyle sonuçlarda farklılıklar oluşabilmektedir. Sıklıkla bu modellerde kullanılan rodent gibi hayvanların insana göre sepsise ve endotoksine daha dirençli olması bu modellerdeki sonuçların insanlara uygulanması konusunda tartışmalara neden olmaktadır (62). Bu bölümde 3 farklı yöntemden bahsedilecektir (Şekil 2.1.):

1. Endotoksin uygulamasıyla oluşturulan sepsis modeli
2. Çekal bağlama ve delme yöntemiyle oluşturulan sepsis modeli
3. Canlı bakteri uygulamasıyla oluşturulan sepsis modeli



Şekil 2.1. Deneysel septik şok modelleri.

2.2.1 Endotoksin Uygulamasıyla Oluşturulan Sepsis Modeli

Endotoksin olarak çoğunlukla lipopolisakkarit (LPS) kullanılmakla birlikte Gram (+) sepsis modeli oluşturmak için teikoik asit de kullanılabilir (63). Deneylerimizde LPS kullanıldığı için daha çok LPS'ten bahsedilecektir. LPS'in sahip olduğu O-spesifik zincir, Gram (-) bakteriler arasındaki antijenik değişkenliği göstermektedir. LPS'in toksik etkileri, daha çok içerdiği lipid A bölümden kaynaklanmaktadır. LPS liyofilize tozlar halinde elde edilebilir. En çok *Escherichia coli* bakterisinin farklı serotiplerinin LPS'leri çalışmalarda kullanılmaktadır. (O55:B5, O111:B4 gibi) Liyofilize LPS, planlanan deneye göre suda çözünerek deney hayvanına periton veya damar içine; infüzyon veya tek doz şeklinde uygulanabilir. Kullanılan hayvana, kullanılan bakterinin türüne ve araştırılan klinik duruma göre 1mg/kg ile 80-100mg/kg aralıkta dozlarda uygulanabilir.

LPS'in avantajları intavenöz veya intraperitoneal olarak tek doz veya infüzyon şeklinde uygulanabilmesi ve liyofilize biçimde saklanabildiği için stabil ve saf olmasıyla birlikte kontaminasyon tehlikesinin az olmasıdır. Verilen doz da araştırmacı tarafından rahat bir şekilde belirlenebilmektedir. Yanıtlar amplifiye olduğu için immünolojik yanıtları incelemek için tercih edilir

Farklı serotiplerden farklı ekstraksiyon işlemlerine uğramış LPS'ler klinikte farklı sonuçlar verebilmektedir. Bu da çalışmaların sonuçları arasında tutarsızlıklar olabilmemesine neden olabilmektedir. Hayvana endotoksin uygulamasıyla elde edilen doz genelde klinikte insanların karşılaştığı dozla uyum göstermemektedir. Tek tip mikroorganizmaya ait endotoksin insan septik şok tablosundaki çeşitli canlı bakterilerin yerini tutamamaktadır. Hayvanlarda LPS verilmesi doza bağımlı olarak klinik durumdan farklılık gösterir. İnsanda gözlenen sepsis tablosunun ilk aşamasında kardiyak debi artmış, sistemik vasküler direnç azalmıştır. Bu dönem "hiperdinamik faz" olarak adlandırılır. Hayvanlarda verilen yüksek doz LPS'te ise genelde kardiyak debi düşerken sistemik vasküler direnç yükselmiştir. Yani hipodinamik faza daha çok benzemektedir. Hayvanlarda hiperdinamik fazı göstermek için çok düşük dozlarda LPS kullanmak gerekmektedir (64).

2.2.2. Çekal Bağlama ve Delme (CLP) Yöntemiyle Oluşturulan Sepsis Modeli

Wichterman ve arkadaşları (65) tarafından geliştirilmiş bir model olup; anestezi altında hayvanın barsak geçişi engellenmeksizin, çekumun bir iplik yardımıyla bağlanıp sonrasında bir iğne ile delinerek fekal içeriğin periton boşluğuna sızması sonrası fekal peritonit oluşturulan sepsis modelidir. Operasyon sonrasında cilt kapatılarak hayvana sıvı resüsitasyonu uygulanır.

CLP, uygulaması zor olmayan, LPS ve bakteri uygulamaları gibi maliyet gerektirmeyen bir modeldir. Diğer uygulamalardan farklı olarak polimikrobiyal bir sepsis oluşturur ve klinikteki cerrahi sepsise oldukça benzeyen bir model sağlar. Bu CLP uygulamasının avantajlı yönleridir

Diğer yandan uygulamalar araştırmacıdan araştırmacıya farklılık gösterebilmektedir. Çekum farklı seviyelerden bağlanabilir, araştırmacı işlemi gerçekleştirirken yanlışlıkla obstrüksiyona neden olabilir. Çekumu delme sırasında farklı ebatlı iğnelerle farklı sayıda delme işlemi yapılabilir. Delme sonrası bazı araştırmacıların çekumu sıvazlaması süreci hızlandırabilir. Bunun gibi bazı farklılıklar yöntemin araştırmalar arasında farklı derecede sonuçlar vermesine neden olabilmektedir (64).

2.2.3 Canlı Bakteri Uygulamasıyla Oluşturulan Sepsis Modeli

Literatürde, çeşitli dozlarda *Escherichia coli* bakterisini, periton içine veya damar içine uygulanma suretiyle oluşturulmuş modeller bulunmaktadır. Ancak insanda gözlemlenen septik şok tablosuna kıyasla daha kısa sürede daha yüksek miktarda bakteri verilmektedir. Kullanılan hayvana ve verilen bakteri miktarına uygun sıvı resüsitasyonu ile vazoaktif madde infüzyonu önerilmektedir. Periton içerisine bakteri uygulaması, ilk 24 saatte sıçanların ölümüne neden olabilmektedir. Bu nedenle yavaş salınımlı bir şekilde bakteri infüze eden ozmotik mini pompalar kullanılabilir (66). Bu uygulamalar sırasında laboratuvar çalışanlarının kontamine olma riski taşıdığı göz önünde bulundurulmalıdır (64).

2.3. Septik Kardiyomiyopati

Septik kardiyomiyopatinin kanıta dayalı, açık ve tutarlı bir tanımı bulunmamakla birlikte kısaca "Septik hastalarda görülen kardiyak disfonksiyondur." şeklinde tanımlanmaktadır (67). Sepsisli hastalarda kardiyak disfonksiyonun prevalansını inceleyen çalışmalarda %10 ile %70 arasında değişen oranlardan bahsedilmektedir (68). Bu durumun nedeni olarak da kesin tanı kriterlerinin olmaması düşünülmektedir. Sepsiste, sol ventrikülde dilatasyon, ventriküler kasılabilirlikte azalma, sağ ve/veya sol ventrikülde hacim artışına azalmış cevap görülmektedir (69). Septik kardiyomiyopatiyi açıklamak için pek çok mekanizma ortaya atılmıştır. Nitrik oksit (NO), ROS ve reaktif azot ürünlerinin aşırı üretimi, hücre düzeyde, protein ekspresyonlarında ve metabolik yollarda meydana gelen değişiklikler bu mekanizmalardan bazılarıdır (70). Bu değişiklikler sonuç olarak hücre içi kalsiyum dengesini veya miyofilaman fonksiyonunu bozarak disfonksiyona neden olmaktadır.

Kardiyomiyositlerde aynı immün hücrelerde olduğu gibi kalıp tanıma reseptörleri bulunmaktadır. Bu reseptörlere LPS gibi PAMP'ların bağlanması, nükleer faktör kappa B (NF- κ B) aktivasyonuna ve kalpte proinflamatuvar sitokinlerin üretilmesine neden olmaktadır (71). Endotoksinin direkt infüzyonunun sağlıklı gönüllülerde sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunda (LVEF) azalmaya neden olduğu, LPS-TLR4 bağlantısının kesilmesinin kardiyovasküler parametrelerde ve mortalite oranlarında düzelmelere neden olduğu gösterilmiştir (72, 73). TLR-4'ün genetik olarak silinmesi durumunda kardiyak fonksiyonlarda düzelmenin olmaması, LPS dışındaki diğer hücre duvarı parçalarının da çeşitli kalıp tanıyıcı reseptörlere bağlanarak kalp fonksiyonlarında bozulmaya neden olması; sepsisle ilişkili kalp disfonksiyonunun sadece TLR-4 ve LPS ile ilişkili olmadığını göstermektedir (67).

PAMP'ların yanı sıra heparan sülfat parçaları ve histon proteinleri gibi DAMP'lar da sepsiste artmaktadır. DAMP'lar benzer şekilde kalıp tanıyıcı reseptörlere bağlanarak özellikle mitokondride bozukluklara dolayısıyla kardiyak disfonksiyona neden olmaktadır. Bu maddelerin temizlenmesi durumunda kalp

fonksiyonlarında iyileşme gözlenmiştir (74, 75). LPS varlığında kalp kası hücrelerinden bir DAMP olan “Yüksek Hareketli Grup Protein B1” (HMGB1) salınmaktadır. HMGB1 aynı LPS gibi TLR-4’e bağlanmakta; ROS üretiminde artışa sarkoplazmik retikulumda depolanan kalsiyum miktarında azalmaya neden olmakta böylece kalpte kasılma bozukluğuna yol açmaktadır (76).

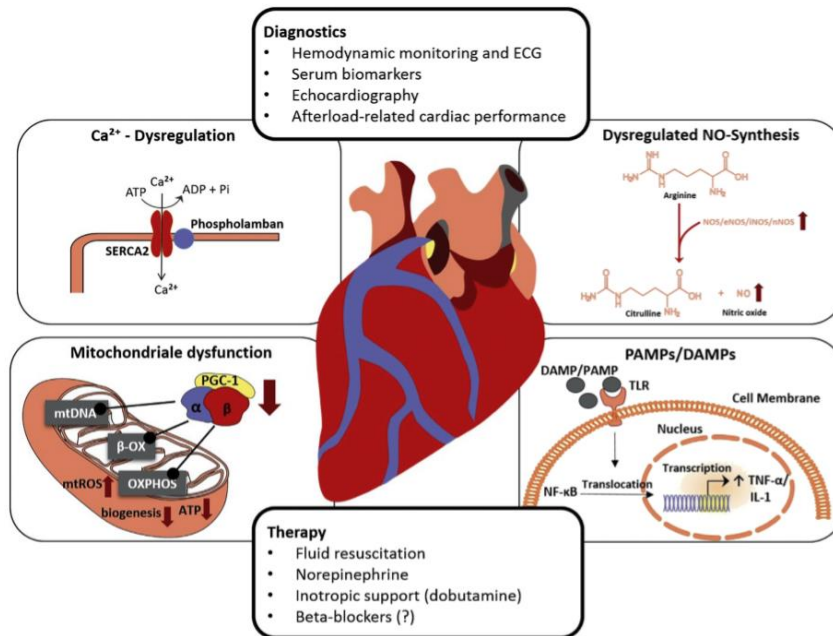
Parillo ve arkadaşları (77), *in vitro* ortamda kardiyak miyositlerin sepsisli hastaların serumlarına maruz kalmaları sonucunda hücrelerdeki kılmanın azaldığını göstermişler, sepsiste gözlenen miyokardiyal disfonksiyonun serumda dolaşan bir faktör nedeniyle meydana geldiğini öne sürmüşlerdir. Uzmanlar tarafından başta bu faktörün TNF- α olduğunu düşünülmüş, nitekim TNF- α ’nın tavşanlarda doz bağımlı olarak kalpte fonksiyon bozukluğuna neden olduğu gösterilmiştir. Ama, TNF- α ‘ya karşı kullanılan antikorların kardiyak disfonksiyonu iyileştirmesine rağmen sağ kalımı artırmadığı gösterilmiştir (78). Kısa olan yarı ömürleri nedeniyle TNF- α ve IL-1’in erken dönem etkilerden sorumlu olabileceği bununla birlikte geç dönem etkilerin TNF- α ve IL-1’in etkisiyle artan miyokardiyal NO nedeniyle gerçekleştiği söylenmiştir (79).

NO, L-arjinin’den nitrik oksit sentaz (NOS) enzimiyle sentezlenen biyolojik olarak aktif bir gazdır. Miyokardiyal hücrelerde üç adet NOS izoformu bulunmaktadır: Nöronal NOS, endotelial NOS ve indüklenebilir NOS. İnflamasyonda üretilen yüksek miktarda NO’dan indüklenebilir NOS sorumludur (80). İndüklenebilir NOS ekspresyonunda artış, sonucunda artan NO birçok yoldan üzerinden kardiyak disfonksiyona neden olabilmektedir. Önyük ve artyük değişiklikleri, β reseptörlerinin membrandan sitoplazmaya çekilmesi, miyofilamanların kalsiyuma olan yanıtlarının azalması ve mitokondri membran geçirgenliği artışına bağlı olarak gelişen mitokondriyal fonksiyon bozukluğu artmış NO’nun etkileri arasında gösterilebilir (81-84).

Sepsisli canlının kalbindeki mitokondrilerde; yapısal değişiklikler (şişme, kristalarda anormallikler), DNA hasarı, membran geçirgenliğinde artış, sitokrom C oksidaz aktivitesinde azalma gibi bozukluklar meydana gelmektedir (85).

Mitokondriyal hasar sonucunda ATP üretimi azalmakta, azalmış ATP üretimi ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun kendisi apoptozisle hücre ölümüne neden olmaktadır. Ancak burada hücre ölümünden ziyade, hücrelerin metabolik aktivitelerini azalttığı bir adaptasyon gerçekleşmektedir (86).

Septik kardiyomiopati sonuç olarak miyosit içindeki kalsiyum dengesinin bozulması nedeniyle oluşmaktadır. Normal fizyolojik koşullarda kalsiyum, hücre içine L tipi kalsiyum kanallarıyla girmekte ve sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum saliverilmesine neden olmaktadır. İntrasellüler olarak artan kalsiyum da miyofilamanlar üzerinden kasılmayı başlatmaktadır. Sarkoplazmik retikulumda depolanan kalsiyum miktarı, sarkoplazmik retikulum kalsiyum ATPaz 2 (SERCA2) tarafından kontrol edilmektedir. SERCA2 intrasellüler kalsiyumu tekrar sarkoplazmik retikuluma gönderen bir pompadır. SERCA2'nin işlevini kaybetmesi durumunda diyastolik gevşeme bozulur. Fosfolamban fizyolojik olarak SERCA2'nin inhibitörüdür ve fosforile halinde inaktiftir. Yapılan çalışmalarda, endotoksemi sonucunda diyastolik kalsiyum geri alımının bozulduğu gösterilmiştir. Bu da SERCA inhibisyonu aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 2.2.). Ejeksiyon fraksiyonundaki azalmanın SERCA inhibisyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (87).



Şekil 2.2. Septik şokta gözlenen kardiyak disfonksiyonun olası sebepleri (67).

2.4. Kalp Kası

Kalpde, kendiliğinde uyarılma özelliği olan özelleşmiş kalp kası hücreleri vardır. Bu hücreler aktin ve miyozinlerini ve kasılma fonksiyonlarını kaybetmiş, kalpte uyarı çıkarmak için özelleşmişlerdir. Bu hücrelerin en önemli özellikleri sabit bir istirahat membran potansiyellerinin olmamasıdır. Böylece eşik değere ulaşır kendileri aksiyon potansiyelleri oluşturabilmektedir. Bu hücreler sinoatriyal (SA) nodda, atriyoventriküler (AV) nodda, His demetinde ve purkinje liflerinde bulunmaktadır. Bu gruplardan frekansı en yüksek olan SA nod kalpteki normal ritimden sorumludur. SA noddan çıkan uyarı, atriyumlar boyunca yayıldıktan sonra interatriyal septumda bulunan AV noda gelir. AV nod kalpte ileti sisteminin en yavaş olduğu bölgedir. Uyarı, AV noddan sonra atriyumlarla ventriküller arasındaki tek elektriksel bağlantı olan His demetine ve oradan da tüm ventriküllere yayılır. Kalp bir sinsityum olarak çalışır. Kalp hası hücreleri arasındaki interkale disklerde bulunan neksuslar sayesinde bir hücre uyarıldığında, uyarılan hücredeki değişiklikler diğer hücrelere de yayılır ve toplu şekilde uyarılma gerçekleşir.

Bir kalp kası hücresi uyarıldığında, aksiyon potansiyelinin plato evresinde, hücre içerisine L tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla kalsiyum girmektedir. İçeriye giren kalsiyum kalp kasının düz endoplazmik retikulumu olan sarkoplazmik retikulum üzerinde bulunan ryanodin kanalına bağlanarak sarkoplazmik retikulümden kalsiyum salıverilmesine neden olur (kalsiyumla indüklenen kalsiyum salıverilmesi). Yani kalp kasının kasılması için gerekli kalsiyum hücre içinden ve hücre dışından sağlanmaktadır. Hücre içerisinde konsantrasyonu artan serbest kalsiyum, kasılma mekiğininin aktif hale geçmesini ve kasılmanın oluşması sağlamaktadır. Kasılma sonlandırılacağı zaman, intrasellüler serbest kalsiyum, SERCA ile sarkoplazmik retikuluma; membranda bulunan sodyum kalsiyum değiştirici pompa ile ekstrasellüler alana uzaklaştırılmaktadır.

SA noddan yayılan aksiyon potansiyelinin frekansı, yayılma hızı, kalp kasının kasılma kuvveti, gevşeme oranı otonom sinir sisteminin kontrolü altındadır. Sempatik sinir sistemine ait lifler ilk beş torakal segmentten çıkar, orta servikal

gangliyon veya servikotorasik gangliyonda (stellat gangliyon) sinaps yaptıktan sonra kalbe gelir. Kalpte SA nodda oluşan aksiyon potansiyelinin sıklığını artırarak kalp hızını artırır (pozitif kronotropi). Tüm ileti sistemi boyunca elektriksel ileti hızını artırır (pozitif dromotropi). Kalp kasında kasılma sırasında hücre içi serbest kalsiyum miktarını artırarak kasılma gücünü artırır (pozitif inotropi). Kalp kasında bulunan, aktif formunda SERCA'yı inhibe eden fosfolambanı inaktive ederek gevşemenin hızını artırır (pozitif lusidotropi). Kalpte adrenerjik reseptörlerden α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3 bulunmakla birlikte, β_1 reseptörü baskındır ve bahsedilen etkilere neden olur. β_1 reseptörleri hücre içi cAMP miktarını artırarak bu etkilere neden olur. Bu etkiler arasında en baskın olan pozitif kronotropidir.

Kalpte otonom sinir sistemi olarak parasempatik sistem hakimdir. Dorsal vagal çekirdekte yer alan parasempatik sinir hücrelerinin aksonları, vagus sinirleri aracılığıyla kalbe ulaşırlar. Kalbin yakınında ufak bir otonomik gangliyon yapıp, postgangliyonik lifler kalbe yayılırlar. Kalpte SA nodu, AV nodu, ileti sistemini, miyositleri, koroner damarları inerve ederler. SA nod ana olarak sağ n. vagus tarafından inerve edilirken AV nod temel olarak sol n. vagus tarafından inerve edilmektedir. Parasempatik sinir sistemi kalpte etkilerini esas olarak muskarinik reseptörler üzerinden göstermektedir. Kalpte ağırlıklı olan muskarinik reseptör tipi M_2 reseptörüdür. Bu reseptör G_i kenetlidir ve uyarılması sonucu hücre içerisinde cAMP miktarı azalmaktadır. SA nodda hücreleri hiperpolarize ederek negatif kronotropiye, AV nodda negatif dromotropiye, miyositlerde ise kasılma gücünü azaltarak negatif inotropiye neden olur. Ancak; ventrikül kasının parasempatik inervasyonu yok denecek kadar azdır (88), negatif inotropik etkisini özellikle atriyum miyositlerinde göstermektedir (89).

Sepsiste kalpteki adrenerjik ve muskarinik reseptörlerin değişimiyle ilgili yapılan çalışmalarda değişik sonuçlar bulunmaktadır. Bir çalışmada sıçanlarda endoktoksemi boyunca α_1 reseptör sayısı azalırken β reseptör sayısı artmış ancak affinitesi azalmış olarak bulunmuştur. Muskarinik reseptörlerin asetilkoline olan

affinitesi azalmamıştır (90). Köpekte yapılan bir sepsis çalışmasında ise miyokardiyal hücrelerde beta reseptör sayısında azalma gösterilmiştir (91).

2.4.1. Langendorff İzole Perfüze Kalp

Memeli kalplerinde ilk defa retrograd perfüzyonu Oscar Langendorff ve ekibi tanımlamıştır (92). Bu yöntem daha sonra O'nun ismiyle anılmaya başlanmıştır. Miyokardiyal fonksiyon ve elektrofizyoloji gibi temel fizyolojiyi anlamakta da, iskemi reperfüzyon hasarı , kalp yetmezliği gibi çeşitli patolojik durumları anlamakta da ön sırada yer alan yöntemlerden biridir (93). Kalp aorttan kanüle edilerek perfüze edilmektedir. Basıncın etkisiyle aort kapağı kapalı durumda olup, normal fizyolojik akış yönünün tersine aortadan gelen perfüze, koroner arterlere geçmektedir. Sonrasında koroner venlere, oradan koroner sinüse ve en sonunda sağ atriuma ulaşmaktadır. Perfüze sağ atriuma gelince, sağ atriumun etrafındaki açıklıklardan dışarı sızmaktadır. Yani ventriküllere sıvı ulaşmamaktadır (93).

Langendorff'un orijinal tanımlamasında kalp sabit basınçta perfüze beslenmektedir. Koroner akım, belirli bir sürede kalpten dışarı sızan perfüzenin toplanılıp ölçülmesiyle değerlendirilmekte, kasılma fonksiyonu da apektan ipek bir iplikle kuvvet transdüsörüne bağlanarak ölçülmekteydi (92). Zamanla bu model modifiye edilmiştir.

Yöntemin avantajları arasında basitliği, maliyet düşüklüğü, tekrar edilebilirliği, diğer organ sistemlerinden bağımsız olarak araştırılan maddelerin ve yöntemlerin etkilerini inceleme imkânı sağlaması sayılabilir. Farelerde, sıçanlarda, tavşanlarda, domuzlarda, köpeklerde, primatlarda hatta insanlarda bile uygulanabilmektedir (94-96).

Kalbin deney hayvanından izole edilmesi dolayısıyla klinik geçerliliğinin azalması, düzenekteki kalbin zamanla kasılma ve hız fonksiyonlarında bozulmalar görülmesi yöntemin olumsuz yönleri arasında yer almaktadır (93).

Retrograd olarak kalp perfüzyonunun sabit akım ve sabit basınç olmak üzere iki farklı modu bulunmaktadır. Sabit basıncı, çok basitçe kanülede belirli bir yüksekliğe rezervuarı yerleştirilerek gerçekleştirilmek mümkündür. Perfüzyon sıvısının geçtiği, kanüle yakın bir bölüme basınç transdüsörü yerleştirilerek basınçlar deney boyunca takip edilebilmektedir. Langendorff, orijinal yönteminde sabit basıncı, dış ortama kapalı basınçlı bir hazne kullanarak oluşturmaktaydı. Günümüzde ise kontrol devreli peristaltik pompa sistemleri kullanılabilir. Bu sistemlerin yer çekiminin kullanıldığı sistemlere göre avantajı, daha az ölü boşluk olması böylece ilaçlı perfüzyon veya kan ürünlü perfüzyon gibi daha maliyetli perfüzyon sıvıları kullanıldığında bu maddelerden tasarruf edilebilmesidir (93). Sabit basınçlı sistemler kalbin perfüzyon oto-kontrolünün araştırıldığı deneylerde daha kullanışlıdır.

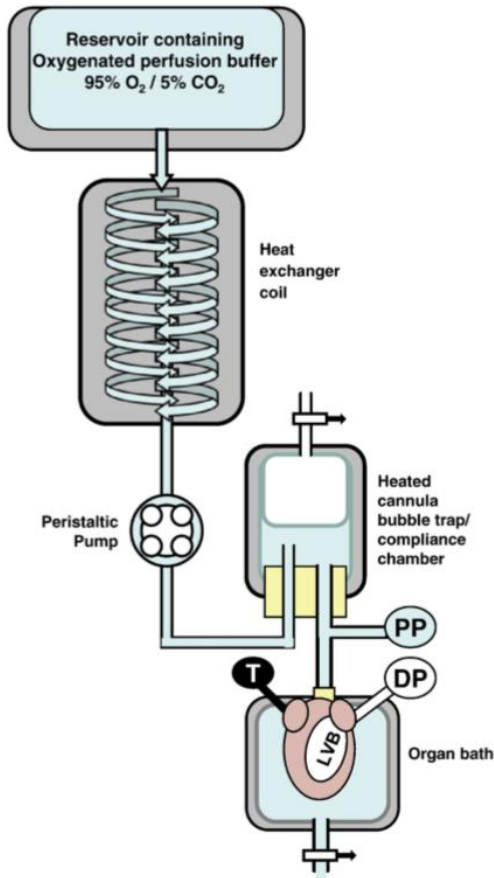
Sabit akımlı düzenekte, koroner perfüzyon akımı bir peristaltik pompa ile sağlanır (Şekil 2.3.). Koroner vasküler ton, endotel veya damar düz kas fonksiyonlarının araştırıldığı çalışmalarda kullanılmaktadır. Bir basınç transdüsörü yardımıyla perfüzyon basıncı ölçülmekte ve Ohm yasası kullanılarak koroner vasküler yataktaki direnç değerlendirilmektedir (93).

Langendorff metodu kullanarak bazı fizyolojik parametreler ölçülebilmektedir:

1.Koroner Akım: Moda göre ölçüm yöntemi değişmektedir. Sabit akım modunda akım sabit olduğu için Ohm yasası gereği perfüzyon basıncıyla vasküler direnç doğru orantılı olacaktır. Sabit basınç modunda ise belirli bir sürede sızan koroner perfüzyon biriktirilerek veya otomatize sistemler kullanılarak ölçülebilmektedir.

2.Kasılma ve Gevşeme Fonksiyonları: Langendorff, orijinal çalışmasında, apeks doğrusal bir ip bağlayarak kuvvet transdüsörü yardımıyla ölçmüştür (92). Günümüzde ise daha çok sol ventriküle bir balon yerleştirilerek yapılmaktadır. Balonun kompliyansı yüksek, ince, elastik olmayan bir maddeden olması tercih edilmektedir. Sol ventrikül boşluğuna sığabilecek ve subendokardiyal hasar

yapmayacak kadar küçük; ancak ventrikül fonksiyonunu düzgün yansıtacak kadar da büyük olmalıdır. Balon; içi sıvı dolu, kompliyansı olmayan bir tüp yardımıyla, önceden kalibre edilmiş bir basınç transdüsörüne bağlanmalıdır. Daha sonra balon şişirilerek kasılma için gerekli ön yük oluşturulmalıdır. Bu balon yardımıyla kalp hızı, sistol sonu basınç, diyastol sonu basınç ve basıncın zamana göre türevi gibi parametreler elde edilebilmektedir.



Şekil 2.3 Sabit akım modundaki Langendorff düzeneği (93).

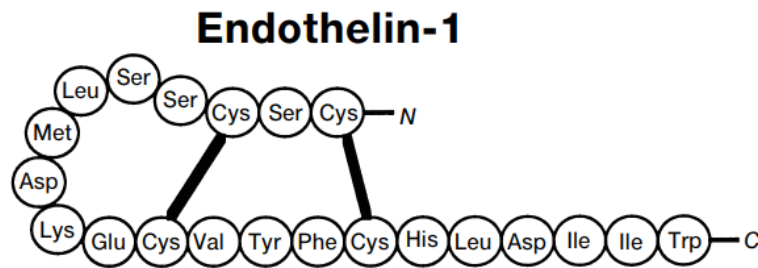
3.Elektriksel Fonksiyonlar: Uygun elektrotlar kalbe yerleştirilerek elektrokardiyogram veya elektrogram elde edilebilmektedir. Böylece ritim bozuklukları ile ilgili araştırmalar da yapılabilmektedir.

2.4.2. Sıçan İzole Sağ-Sol Atriyum ve Ventriküler Papiller Kas Preparatları

İzole atriyum kası ve ventriküler papiller kası düzenli yapıdadırlar ve çeşitli farmakolojik maddelere hızlıca bir arada cevap verebilirler. Atriyum dokusu, otonomik reseptörler açısından zengin olduğundan otonomik yanıtların modülasyonunun incelenmesi için değerli bir preparattır. İdeale yakın hazırlanmış bir atriyum preparatı üç ile beş saat arasında canlı kalabilmektedir (97). İzole sağ, izole sol veya izole sağ-sol atriyum preparatı şeklinde hazırlanabilmektedir. İzole sağ ve izole sağ-sol atriyum preparatlarında SA nod da preparatta olacağı için maddelerin kronotropik etkileri değerlendirilebilmektedir. Kalbin pompa fonksiyonlarının incelenecekse izole sol atriyum tercih edilebilir. Atriyumun kasılma fonksiyonunun incelenmesi için izole sol atriyum preparatı, ventrikül üzerindeki etkiler için ise papiller kas veya ventriküler şerit kullanılabilir. Farmakolojik maddelerin, atriyal sinir stimülasyonu üzerine olan etkilerinin araştırılması için izole sağ-sol atriyum preparatı kullanılabilir. Post-sinaptik β ve pre-sinaptik α_2 reseptörleri üzerindeki etkiler araştırılabilir. Bununla birlikte pre-sinaptik α_2 reseptörleri çalışılmak istenirse elektriksel alan stimülasyonu kullanılmalıdır (98). Papiller kas preparatı da spontan uyarı çıkarmadığı için elektriksel alan stimülasyonu ile uyarılmalıdır.

2.5. Endotelin

Endotelin, etkileri uzun süren, 21 amino asit uzunluğunda potent damar kasıcı bir peptittir (Şekil 2.4.). Endotelin-1 (ET-1), inaktif bir öncü peptit olan büyük endotelinden endotelin dönüştürücü enzim (ECE) tarafından sentezlenmektedir. Yanagisawa ve arkadaşları (99) endotelin-1'in bazal vasküler tonusun düzenlenmesinde, hipertansiyon ve vasküler spazmın patogenezinde önemli bir mediyatör olabileceğini dile getirmişlerdir.



Şekil 2.4. Endotelin-1'in yapısı (100).

ET-1, ET-2, ve ET-3 olmak üzere 3 tane endotelin peptidi tanımlanmıştır. Endotelinin G proteini ile kenetli olan ET-A ve ET-B olmak üzere iki tane reseptörü bulunmaktadır. İnsan kardiyovasküler sisteminde en çok bulunan endotelin peptidi ET-1'dir. ET-1'in ana kaynağı vasküler endoteldir. Damarlardan vasküler tonüs ve kan basıncının korunması için devamlı salgılanmaktadır (101). Normalde lokal olarak lümeninden dışarı yani damar düz kasına doğru lokal olarak, çok düşük konsantrasyonlarda salgılanır. ET-1'in dolaşımında artması, ET-B reseptör antagonizmasının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Hastalık durumlarında ET-1'in üretimi artmakta veya temizlenmesi azalmaktadır. ET-A; damar, kalp, uterus, akciğer, overde eksprese edilirken, ET-B; çoğunlukla beyin ve akciğerde eksprese edilmektedir. Yapılan çalışmalarda ET-1'in damar üzerindeki esas etkisinin ET-A aracılığıyla damar kasılması, hipertansiyon, hipertrofi, fibrozis ve inflamatuvar değişiklikler olduğu; ET-B'nin yerel olarak NO üretimini artırdığı ve ET-1'i dolaşımdan temizlediği gösterilmiştir. Ayrıca ET-B'nin böbrekte toplayıcı tübüllerde de bulunduğu ve natriürezde önemli rolü olduğu gösterilmiştir (102). Pulmoner arteryal hipertansiyonda damarlarda bulunan ET-B'nin de proliferasyona ve kasılma yanıtına neden olduğu, zona glomerulosadan aldosteron sentezine neden olduğu gösterilmiştir. Kromozom 6 üzerinde bulunan ve ET-1'i kodlayan bölge dışında protein kodlamayan bölgelerdeki dizilerin ET-1'i kodlayan *EDN1* ekspresyonunu düzenlediği, koroner arter hastalığı, migren, hipertansiyon ve fibromusküler displazi gibi hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (103).

Endotelin reseptör antagonisti (ERA) olarak ilk nonselektif bosentan geliştirilmiştir. O baz alınarak pek çok yeni molekül sentezlenmiştir. Hayvan çalışmalarında ET-1'in gelişimsel rolleri gösterilmiştir, ERA'lar birinci trimesterde teratojeniktir. Yan etki olarak kızarma, başağrısı, hipotansiyon yapmaktadır. Bunun yanında sıvı ve tuz tutulumu, hemoglobin seviyelerinde düşüş ve ödeme neden olabilmektedir. Özellikle sulfonamid türevi olanlarda (bosentan, sitaksentan gibi) karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluklar meydana gelebilmektedir. Sulfonamid türevi olmayanlar da ise karaciğer fonksiyon bozukluğu çok az olmakta veya olmamaktadır (104). ECE inhibitörlerinin geliştirilmesi ise hayal kırıklığı ile sonuçlanmıştır. Klinikte ön çalışmalardan öteye geçememişlerdir (105). Sparsentan ise hem sulfonamid türevi olan bir ERA hem de anjiyotensin reseptör antagonistidir (106).

Çeşitli ERA'lar hipertansiyonda denenmiştir. İlk çıkan ERA olan bosentan etkili bir şekilde sistemik kan basıncını düşürse de etkili olduğu dozlarda karaciğer fonksiyon bozukluğuna yol açması ve su tutulumu yapması sistemik hipertansiyonda daha fazla gündeme gelememesine neden olmuştur (107). ET-A'ya daha selektif olan darusentan dirençli hipertansiyonda denense de 14 hafta sonunda plaseboya göre fark bulunmamış ve beklentileri karşılayamadığı için dirençli primer hipertansiyonda denemeleri durdurulmuştur (108). Masitentanın aktif metaboliti aprositentanın tedaviye dirençli hipertansiyonda denendiği faz 3 çalışma devam etmektedir.

Preklinik çalışmalar, deneysel kronik kalp yetmezliği modellerinde kalpte ET-1 ekspresyonunun arttığını ve BQ-123 (seçici ET-A antagonisti) tedavisinin sıçanlarda miyokardiyal fonksiyonları ve sağ kalımı artırdığını göstermiştir (109). İnsan çalışmalarında da artmış plazma ET-1 seviyelerinin hastalığın ağırlığıyla ilişkili olduğu ve ERA'larla bazı hemodinamik verilerin düzeldiği gösterilmiştir (110, 111). Bu gelişmelerin üzerine yüksek doz bosentan, düşük doz bosentan, enrasentan ve darusentan çeşitli klinik çalışmalarda denenmiştir. Ancak hiçbirisinden olumlu bir sonuç çıkmamıştır. Sadece sitaksentanın (selektif ET-A antagonisti) ejeksiyon

fraksiyonu korunmuş kalp yetmezliğinde egzersiz toleransını artırdığı gösterilmiştir (112). Akut kalp yetmezliğinde tezosentanın denendiği çalışmada plaseboya göre fark gösterilememiştir (113).

Pulmoner arteriyal hipertansiyonda (PAH), hayvan modellerinde ve insanlarda dolaşımdaki ET-1 seviyeleri artmış ve bu artış hastalığın ağırlığı ile ilişkili bulunmuştur (114). ET-B blokajı ile ilgili literatürde çelişen çalışmalar bulunmakla birlikte, ET-A selektif ERA'larla fosfodiesteraz 5 inhibitörlerinin kombine kullanımlarının, ayrı ayrı kullanımlarına göre daha etkili olduğu gösterilmiştir. Bu durum, ET-B aracılı NO üretimine ve NO'nun fosfodiesteraz-5 inhibitörlerinin etkisini potansiyelize etmesine bağlanmıştır (115). Bosentan, ambrisentan ve masitentan PAH endikasyonunda ruhsat almışlardır.

ERA'ların kronik böbrek hastalıklarında proteinüriyi azalttığı ve bu etkilerini renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi blokörleriyle beraber kullandıklarında gösterdikleri belirtilmiştir (105). ET-A'yı ve AT-1 reseptörünü bloke eden sparsentan kullanan primer fokal segmental glomeruloskleroz hastalarında yapılan faz 2 çalışmalarında sadece anjiyotensin reseptör blokörü kullananlara göre proteinüriyi daha çok azaltması üzerine faz 3 çalışmasına başlanmıştır (116). Renal iskemi-reperfüzyon hasarında, ET-1 sisteminin aşırı çalıştığı hayvan modellerinde gösterilmiştir. Hasar öncesi verilen selektif ET-A antagonistlerinin hasarı azalttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte yapılan bir çalışmada, mineralokortikoid inhibitörlerinin iskemi reperfüzyon hasarını azalttığı lakin bu düzelmeyi selektif ET-B antagonisti verilmesi durumunda görülmediği belirtilmiştir (117).

ERA'lar sklerodermada görülen dijital ülserlerin tedavisinde kullanılmaktadırlar. Sklerodermalı hastalarda serumdaki ET-1 düzeyleri yüksek bulunmuştur (118). ZEBRA çalışmasında en ET-A reseptörüne selektif antagonist olan zibotentan skleroderma renal krizinde VCAM-1 seviyeleri ve böbrek fonksiyonlarındaki etkisi denenmiştir. Sonuçları beklenmektedir (119).

Subaraknoid kanamalarda ERA'ların kullanımı serebral vazospazmı çöze de klinik sonucu değiştirmemektedir (120). Halen subaraknoid kanama sonrasında vazospazmın neden olduğu geç serebral iskemi tedavisinde klazosentanın denendiği bir faz 3 çalışma devam etmektedir (REAKT alışması).

2.6 Endotelin ve Septik Şok

Septik Şokta endotelin seviyeleri artar ve bu artış mortaliteyle ilişkili bulunmuştur (121, 122). Endotelin akciğerde PAH'a ve bu yolla sepsisin neden olduğu ARDS'ye yol açmaktadır. Bunun yanında alveollerde lokosit birikimine ve interstisyel ödeme de neden olmaktadır. Portal vende kasılmaya neden olarak hepatositlerde hasara neden olmaktadır. İnsanlarda endotelin infüzyonu, azalmış kardiyak debi, pulmoner ve splanknik yatakta vazokonstriksiyon gibi sepsiste gerçekleşen değişikliklere benzeyen kardiyovasküler olaylara neden olmaktadır (123).

Kalpte; atriyumda, ventrikül hücrelerinde, ileti sisteminde, endokardiyal hücrelerde, koroner arterlerde ET-A ve ET-B reseptörleri bulunmaktadır (124). Endotelin, kalpte koroner arterleri kasmakta, kardiyak debide düşmeye neden olmakta ve aritmi oluşumuna neden olmaktadır (123). *In vitro* alışmalarda endotelinin pozitif kronotropik ve pozitif inotropik etkileri gösterilmiştir (125). Ancak buna karşın insanda ve domuzda *in vivo* , tavşanda *in vitro* alışmalarda ET-1'in negatif inotropik etkileri olduğu gösterilmiştir (123). İnsanlarda endotelin-1 seviyesi ile kardiyak indeksin ters ilişkili olduğu bulunmuştur (122). Endotelin-1'in bölgesel perfüzyonun düzenlenmesinden ve septik Şoktaki değişmiş dağılımdan sorumlu olduğunu destekleyen çalışmalar bulunmaktadır (126). Bir çalışmada septik sıçanlardaki koroner kasılmanın TNF- α ile ilişkili endotelin-1 salıverilmesine bağlı olduğu bulunmuştur (127).

Endotoksinin pulmoner hipertansiyona neden olduğu pek çok modelde gösterilmiştir. Sitokinlerin etkisiyle adezyon moleküllerinde artışın, lökosit aktivasyonunun ve endotel hasarın pulmoner arteriyal basınçta artışa neden olduğu

düşünülmektedir. Erken dönemde siklooksijenaz yolağının neden olduğu tromboksan artışının geç dönemde ise endotelin sisteminin aktivasyonun etkili olduğu ve plazma endotelin-1 seviyesi ile ortalama pulmoner arteriyal basınç arasında korelasyon varlığı gösterilmiştir (128, 129). Bu etkisini temel olarak ET-A reseptörü aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiş olsa da; bazı yapılan çalışmalarda ET-B reseptörünün de pulmoner direncin artmasında etkili olduğu bulunmuştur.

Sepsis ve endotoksemide barsak mukozasında artmış endotelin-1 seviyeleri gösterilmiştir. Wilson ve arkadaşları (130) septik sıçanlarda endotelin antiserumu kullanarak intestinal mikrodolaşımı düzeltmiş ve intestinal kan akımını tekrar sağlamıştır. Esas olarak bu etkilerden ET-A reseptörünün sorumlu olduğu düşünülse de selektif ET-A reseptör blokajının splanknik kan akımına etki etmediğini ve splanknik kan akımında nonselektif ERA'ların daha etkili olduğunu dolayısıyla splanknik kan akımının düzenlenmesinde ET-B reseptörlerinin etkili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (131).

Endotelin karaciğerin özellikle portal perfüzyonunda etkili bir mediyatördür. Ito hücrelerinin aracılık ettiği kasılmaları artırarak etki ettiğini destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Endotoksinin, portal venöz sistemin endotelin-1'e verdiği kasılma cevabını artırdığı gösterilmiştir. Hem ET-A hem de ET-B reseptörünün karaciğer perfüzyonunun düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülse de hangisinin hangi oranda etkili olduğuna dair literatürde bir uzlaşma bulunmamaktadır (123).

Akut böbrek yetmezliği septik şokta nispeten sık görülen bir durumdur. Renal kan akımının azalması ve böbrek fonksiyonlarındaki bozukluk bu durumun nedenleri arasındadır. Nonselektif endotelin reseptör antagonistlerinin ön tedavi olarak kullanıldığı veya endotelin antikör tedavilerinin uygulandığı çalışmalarda, septik hayvanlarda böbrek fonksiyonlarını düzelttiğini gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte, düzeltmediğine dair çalışmalar da bulunmaktadır (123, 132, 133).

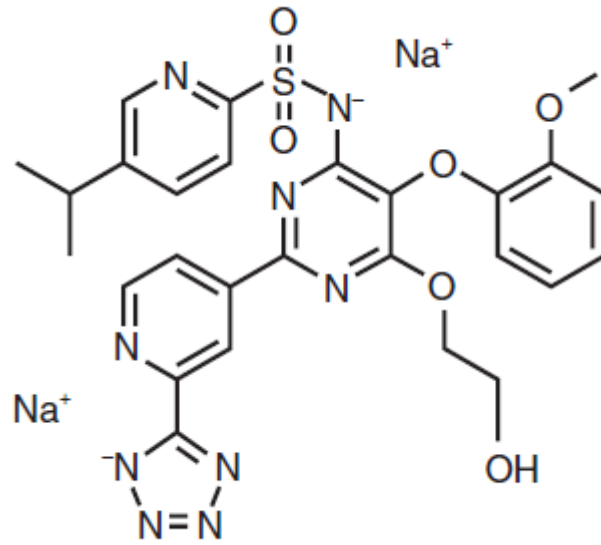
Sepsiste koagülasyon sisteminin erken aktivasyonu DİK'e neden olabilmektedir. Hasarlanan endotelden sızan endotelin-1 damarları kasarak trombüs

oluşumuna katkıda bulunabilmektedir. Sepsiste DİK gelişimiyle serum endotelin-1 seviyeleri ilişkili bulunmuştur (134).

Endotelin-1, nötrofil aktivasyonuna, vasküler adezyon moleküllerinin ekspresyonunda artışa dolayısıyla beyaz kürelerin endotele adezyonuna neden olmaktadır (135). ROS üretiminde artışa, mitokondriyal hasara böylece sepsiste görülen sitopatik hipoksiye neden olmaktadır (136, 137). Endotelin-1, sadece organ perfüzyonunu bozarak değil, aynı zamanda hücresel düzeyde pek çok değişikliklere neden olarak sepsis ve septik şokun patogeneğinde etkili olmaktadır (123).

2.7. Tezosentan

Tezosentan (Ro-61-0612), parenteral kullanım için tasarlanmış bir endotelin reseptör antagonistidir (Şekil 2.5.). Tezosentan, ET-1'in ET-A'ya; sarafotoksin S6c'nin (ET-B reseptörü agonisti) ET-B reseptörüne bağlanmasını kompetitif inhibe eden nonselektif bir antagonisttir. İzole sıçan aortasında ET-1'in ET-A üzerindeki etkisini nanomolar düzeyde inhibe eder ($pA_2=9,5$). Sıçan trakeasında, sarafotoksin S6c'nin ET-B üzerindeki etkisini $pA_2= 7,7$ olacak şekilde inhibe etmektedir. Tavşan ve primatlarda eliminasyon yarı ömrü 1 saatken, sıçanlarda 2 saattir (138). Fransa'da sağlıklı gönüllülerde yapılan bir faz 1 çalışmada iyi tolere edilebildiği (en sık yan etki baş ağrısı), kararlı plazma konsantrasyonuna hızlı ulaştığı, iki kompartmanlı farmakokinetik profile sahip olduğu bulunmuştur (139).



Şekil 2.5. Tezosentanın moleküler yapısı (139).

2.8. Hipotez

Endotelin reseptör antagonisti tezosentan, sepsis nedeniyle bozulan kardiyak disfonksiyonu önler.

2.9. Amaç

Bu tez çalışmasında, sıçanda LPS ile oluşturulan septik şok modelinde kalpte meydana gelen fonksiyon bozukluklarını göstermek, bu bozukluklarda endotelinin rolünü araştırmak, mortal ve morbit bir klinik durum olan septik şokta tezosentanın olası terapötik etkinliğini araştırmak amaçlanmıştır.

3. YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları

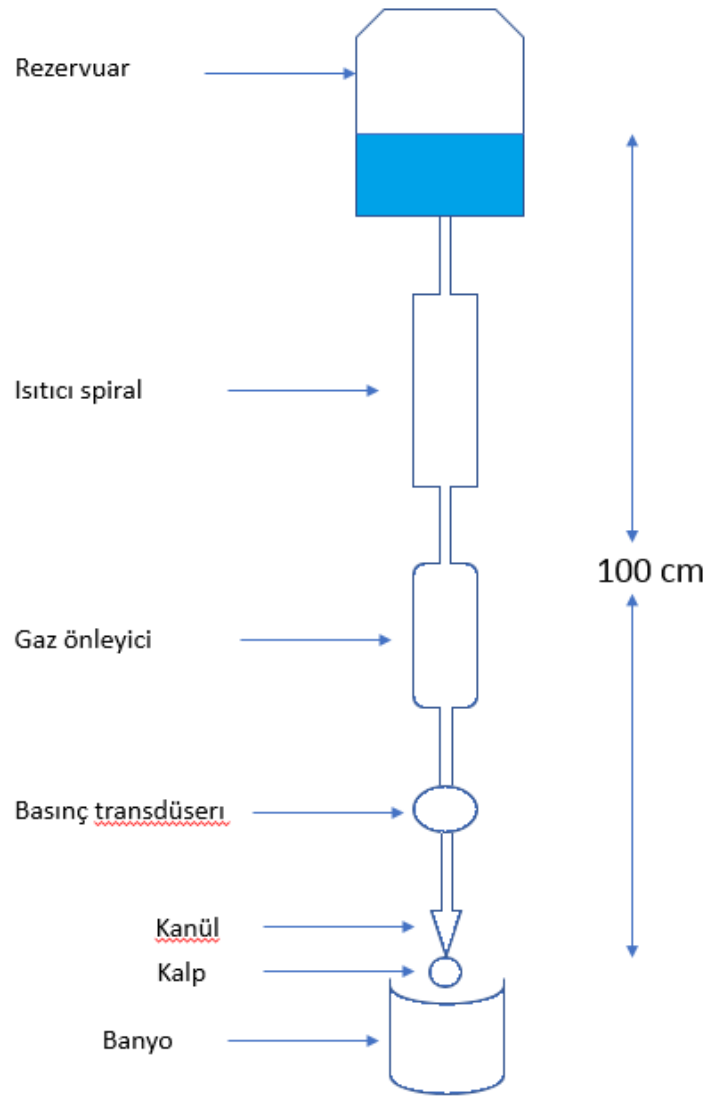
Ağırlıkları 200 gram ile 300 gram arasında değişen, 112 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilip, Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı hayvan barınağında muhafaza edilmiştir. Hayvanlar, standart laboratuvar yemi ve çeşme suyu ile *ad libitum* olarak beslenmiş olup; $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, %30-70 neme sahip, 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 28.11.2017 tarih ve 2017/74-02 karar numaralı onay alınarak Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.3. Langendorff İzole Kalp Düzeneği

Deneylerde sabit basınç modunda, Langendorff izole kalp düzeneği kullanılmıştır (Şekil-3.1). Perfüzyon kanülünden 100 cm yüksekte bulunan perfüzyon haznesinden kalbe perfüzyon sıvısının akışı sağlandı. Perfüzyon sıvısı kalbe gelene kadar sırasıyla ısınması için ısıtıcı sarmalından, içinde hava kalmaması için hava önleyici (bubble trap), perfüzyon basıncının ölçülmesi için basınç transdüserinden geçerek kalbe ulaşmaktadır. Perfüzyon sıvısının geçtiği yerlerin hepsi "ceket sistemi" yardımıyla ısıtılmaktadır. Deneyler sırasında perfüzyon basıncı 60-65 mmHg arasında tutuldu. Bu değerlerin altına düşmemesi için düzenli olarak hazneye yeni solüsyon eklendi.



Şekil-3.1: Langendorff deney düzeneği. Sabit basınç modundaki Langendorff deney düzeneğinin şematik gösterimi şekildeki gibidir. Rezervuar seviyesiyle kanülün ucu arasındaki mesafe 100 cm olarak ayarlandı. Basınç transduseri kullanılarak perfüzyon basıncı 60-65 mmHg arasında tutulacak şekilde perfüzyon seviyesi ayarlandı.

3.4. Tezosentanın İntraperitoneal Uygulandığı Langendorff Deney

Protokolü ve Deney Grupları

Sıçanlar; kontrol, LPS, tezosentan ve LPS+ tezosentan gruplarına ayrıldılar. Gece boyunca aç bırakılan hayvanlar; 0. saatte LPS (4mg/kg, i.p.) veya eşit hacimde salin (2,5mL/kg, i.p.) verildikten sonra 2.saatte tezosentan (10mg/kg, i.p.) (140) veya eşit hacimde vehikül (2mL/kg, i.p.) enjekte edildi. Hayvanlar 4. saatte sakrifiye edildi.

Kalplerinin çıkarılması için öncelikle sıçanlar kloralhidrat (400mg/kg, i.p.) ile anestezi altına alındı. Anestezi derinliği, forseps yardımıyla bacak kısıtma ve kornea refleksiyle değerlendirildi. Anestezi işleminden sonra, ksifoidin alt kesiminden derinlemesine kesiler yapılarak toraks boşluğuna girildi. Her iki ön aksiller çizgi hizasından boyuna doğru kesilerle toraks ön duvarı bir perde gibi yukarı kaldırılıp intratorasik organlara ulaşıldı. Timus eksize edilerek arkus aorta ve dalları görüldü. Çıkan aortanın bittiği yerden aort tutularak makas yardımıyla kesildi. O plandan kalbin arkasına geçilerek kalp, etrafındaki dokulardan, bölümlerine zarar gelmeyecek şekilde eksize edildi ve daha sonra buzla soğutulmuş, %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımıyla gazlanan modifiye Krebs-Henseleit çözeltisi içeren petri kabına alındı.

Kalp, aortadan iki tweezer yardımıyla tutularak Langendorff düzeneğinin kanülüne yerleştirilip, 2.0 ipek dikiş yardımıyla kanüle sabitlendikten sonra 37±1 °C'de, %95 O₂-%5 CO₂ gaz karışımıyla gazlanan modifiye Krebs-Henseleit çözeltisinin perfüzyonu sabit basınç modunda başlatıldı.

Sol atriyumun apendiksinden bir kesi yapıldıktan, basınç transdüserına içi su dolu bir kanülle bağlı olan lateks balon mitral kapak geçilerek sol ventriküle yerleştirildi. Balon sol ventrikül diyastolik sonu basıncı 2-6 mmHg olacak şekilde şişirildi.

Sol ventrikül içi basınç değerleri Biopac Systems MP150 aracılığıyla bilgisayar ortamına aktarılıp, bu programın yazılımı olan AcqKnowledge 4.2 kullanılarak sol ventrikülün geliştirdiği basınç (LVDP), kalp atım sayısı ve basınç zaman grafiğinin türevinin maksimum ve minimum değerleri (+dP/dt_{max} ve -dP/dt_{min}) hesaplandı. 0., 10., 20., 30., ve 40. dakikalarda bir dakika boyunca kalbin etrafından sızan perfüzat toplanarak koroner akım hızı ml/dakika cinsinden bir mezür yardımıyla hesaplandı. 40. dakikanın sonunda deneylere son verildi.

3.5 Tezosenanlı Solüsyonlar Kullanılarak Gerçekleştirilen Langendorff Deney Protokolü ve Deney Grupları

Sıçanlar, kontrol ve LPS gruplarına ayrıldılar. 0. saatte LPS (4 mg/kg, i.p.) veya eşit hacimde salin (2.5mL/kg, i.p.) enjekte edildikten sonra 4. saatte sakrifiye edildiler.

Hayvanların sakrifikasyonu, kalplerinin çıkarılması, Langendorff düzeneğine yerleştirilmesi bir önceki deney protokolüyle aynı şekilde yapıldı.

Sol ventrikül içi basınç değerleri Biopac Systems MP150 aracılığıyla bilgisayar ortamına aktarılıp, bu programın yazılımı olan AcqKnowledge 4.2 kullanılarak sol ventrikülün geliştirdiği basınç (LVDP), kalp atım sayısı ve basınç zaman grafiğinin türevinin maksimum ve minimum değerleri (+dP/dt_{max} ve -dP/dt_{min}) değerleri hesaplandı. 0., 10., 20., 30. ve 40. dakikalarda bir dakika boyunca kalbin etrafından sızan perfüzyon toplanarak koroner akım hızı ml/dakika cinsinden bir mezür yardımıyla hesaplandı.

“Kontrol + Tezosenanlı” ve “LPS + Tezosenanlı” gruplarında 20. dakikanın sonunda perfüzyon haznelerinin arasında yer alan bir musluk aracılığıyla, standart solüsyondan, içerisinde 1 µM, 10 µM veya 100 µM konsantrasyonda tezosenanlı bulunan solüsyonlara geçildi. Her bir konsantrasyon için farklı hayvan kullanılmıştır. LPS ve kontrol gruplarında ise modifiye Krebs-Henseleit solüsyonuyla perfüzyona devam edildi. 20 dakika sonra yani 40. dakikada deneylere son verildi. Her bir hayvan için 20. dakika ve 40. dakikadaki değerler oranlanarak tezosenanlı veya perfüzyon solüsyonunun etkisi oransal olarak gösterildi.

3.6 İzole Organ Banyosu Deney Protokolü ve Grupları

Sıçanlar, kontrol ve LPS gruplarına ayrıldılar. 0. saatte LPS (4 mg/kg, i.p.) veya eşit hacimde salin (2.5mL/kg, i.p.) verildikten sonra 4. saatte sakrifiye edildiler.

Kalplerinin çıkarılması için öncelikle sıçanlar kloralhidrat (400mg/kg, i.p.) ile anestezi altına alındı, anestezi derinliği, forseps yardımıyla pati kısırtma ve kornea

refleksiyle değerlendirildi. Anestezi işleminden sonra, ksifoidin alt kesiminden derinlemesine kesiler yapılarak toraks boşluğuna girildi. Her iki ön aksiller çizgi hizasından boyuna doğru kesilerle toraks ön duvarı bir perde gibi yukarı kaldırılıp intratorasik organlara ulaşıldı. Timüs eksize edilerek arkus aorta ve dalları görüldü. Çıkan aortanın bittiği yerden aort tutularak makas yardımıyla kesildi. O plandan kalbin arkasına geçilerek kalp, etrafındaki dokulardan, bölümlerine zarar gelmeyecek şekilde eksize edildi ve daha sonra buzla soğutulmuş, %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımıyla gazlanan modifiye Krebs-Henseleit çözeltisi içeren petri kabına alındı.

Sağ ve sol atriyum beraber olacak şekilde ventiküllerden ayrılıp, her iki atriyumun uçları iplerle bağlandı. İçinde, 37±1 °C'de, %95 O₂- %5 CO₂ gaz karışımıyla gazlanan modifiye Krebs-Henseleit çözeltisi bulunan 20 ml hacmindeki banyoya yerleştirildi. Yerleştirilirken iplerden biri tutucunun kancasına, diğeri ise kuvvet transdüserine bağlandı. 0,5- 0,75g'lık istirahat gerilimi uygulanarak 45-60 dakika dengelenmesi sağlandı. Bu sırada da 15 dakikada bir atriyum, taze solüsyonla yıkandı.

Sol ventrikülün lateral kenarından bir kesi atılarak sol ventrikülün iç kısmına ulaşıldı. Sol ventriküldeki papiller kaslardan birisi iki ucundan ipler yardımıyla bağlanarak ventrikül duvarından ayrıldı. İçinde, 37±1 °C'de, %95 O₂ - %5 CO₂ gaz karışımıyla gazlanan modifiye Krebs-Henseleit çözeltisi bulunan 10 ml hacmindeki banyoya yerleştirildi. Papiller kasa devamlı elektriksel alan stimülasyonu (EAS) uygulanacağı için cam tutucunun ucundaki platin elektrotların tam arasına denk getirilecek şekilde ipler kancaya ve kuvvet transdüserına bağlandı. Papiller kasa 1 pps (pulse per second, saniyedeki uyarı sayısı), 2 milisaniye süreli, 80 Volt şiddetinde devamlı elektriksel alan stimülasyonu uygulandı. Papiller kas preparatı hazırlandıktan sonra 0,5 – 0,75 gramlık istirahat gerilimi altında 45-60 dakika dengelenme periyoduna bırakıldı. Bu dinlenme sırasında her 15 dakikada bir papiller kas, taze solüsyonla yıkandı.

Her iki preparattan izometrik kasılma verileri Biopac Systems MP150 aracılığıyla bilgisayar ortamına alınıp; atriyum atım sayısı, atriyum kasılma miktarı ve papiller kasın kasılma miktarı bu verilerden elde edildi.

Atriyum ve papiller kas preparatlarından 45. dakikada elde edilen veriler, dokuların normal fonksiyonu olarak kaydedildi. Daha sonra her iki preparata artan konsantrasyonlarda isoproterenol (izoprenalin) (10^{-10} M, 3×10^{-10} M, 10^{-9} M, 3×10^{-9} M ... 10^{-5} M, 3×10^{-5} M) uygulaması yapıldı. İncelenen parametrelerdeki değişiklik başlangıç değerine göre oran şeklinde kaydedildi. Konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi. Kayıtlar alınırken, verilen her konsantrasyon sonrasında artan kasılma veya atım sayısı plato çizene kadar beklenildi ve diğer konsantrasyona sonrasında geçildi. İzoproterenol cevapları sonrasında preparatlar 45-60 dakika boyunca dinlenmeye bırakıldı, bu dinlenme sırasında da her 15 dakikada bir preparatlar taze solüsyonla yıkandı.

45-60 dakikalık dinlenme periyodunun ardından her iki preparata artan konsantrasyonlarda karbakol (10^{-10} M, 3×10^{-10} M, 10^{-9} M, 3×10^{-9} M ... 10^{-5} M, 3×10^{-5} M) uygulaması yapıldı. İncelenen parametrelerdeki değişiklik başlangıç değerine göre oran şeklinde kaydedildi. Karbakol yanıtları alındıktan sonra deneylere son verildi. Sonrasında konsantrasyon-cevap eğrileri elde edildi.

3.7 İzole Organ Banyosunda Tezosentan Deneyleri

Sıçanlar, kontrol ve LPS gruplarına ayrıldılar. 0. saatte LPS (4 mg/kg, i.p.) veya eşit hacimde salin (2.5mL/kg, i.p.) verildikten sonra 4. saatte sakrifiye edildiler.

Bir önceki bölümde anlatıldığı gibi atriyum izole edilip, banyoya yerleştirilip, izoproterenol yanıtı alınıp 45-60 dakika dinlendirildikten sonra, 10^{-6} M konsantrasyonda tezosentan ile 15 dakika inkübe edildi. 15 dakikalık inkübasyon sonunda isoproterenol (10^{-10} M, 3×10^{-10} M, 10^{-9} M, 3×10^{-9} M ... 10^{-5} , 3×10^{-5} M) yanıtları tekrar alındı. Sonrasındaki 45-60 dakikalık dinlenme periyodunu takiben 10^{-5} M tezosentan inkübasyonu ve daha sonrasında 10^{-4} M tezosentan inkübasyonu ile izoproterenol yanıtları tekrar alındı. Tezosentan inkübasyonu altındaki ve

tezosentan inkübasyonu olmaksızın izoproterenol yanıtlarının konsantrasyon-cevap eğrileri çizildi.

Karbakol yanıtlarında ve papiller kas deneylerinde, LPS ile kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunmadığı için tezosentan inkübasyonu altında tekrar edilmedi.

3.8. Histopatolojik İnceleme

Langendorff deneylerinden sonra düzenden çıkarılan kalpler, %10'luk formol çözeltisinde fikse edilip parafin bloklara gömüldü. Daha sonrasında kesitler alınıp rutin hematoksilin eozin boyasıyla boyandı. Kesitler kör bir şekilde incelendi. Miyokardiyal hücre yapısı, endotel tabakası ve koroner damarlar incelendi. İncelemeler uzman bir patolog eşliğinde gerçekleştirildi.

3.9. Kullanılan Çözeltiler ve İlaçlar

İzole organ banyosunda yapılan deneylerde, fizyolojik solüsyon olarak modifiye Krebs-Henseleit (mM: NaCl 118; KCl 4,7; MgSO₄ 1,2; KH₂PO₄ 1,2; NaHCO₃ 25; Glukoz 11; CaCl₂ 2,5) çözeltisi kullanıldı.

Langendorff izole perfüze kalbi deneylerinde, fizyolojik solüsyon olarak modifiye Krebs-Henseleit çözeltisi (mM: NaCl 118,5; KCl 4,7; MgSO₄ 1,2; KH₂PO₄ 1,2; NaHCO₃ 24,8; Glukoz 11; CaCl₂ 1,3) kullanıldı.

Bütün çözeltiler karbojen (hacimce %95 CO₂, %5 O₂) ile gazlandırılarak hazırlanmıştı.

Deneylerde; tezosentan (Actelion firması tarafından hediye edildi, Actelion Pharmaceuticals, Allschwil, İsviçre), *Escherichia coli* O55:B5 suşuna ait lipopolisakkarit (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, ABD), (-)-isoproterenol hidroklorür (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, ABD), karbamoilkolin (karbakol) (Sigma Chemical Co, St Louis, MO, ABD), kloralhidrat (MERCK KGaA, Darmstadt, Almanya) kullanıldı.

İzole organ banyosunda kullanılacak maddelere ait stok çözeltiler deney günü distile suda çözülerek hazırlandı. Deney hayvanlarına enjekte edilecek maddeler %0,9'luk NaCl çözeltisinde çözülerek hazırlandı. Langendorff izole perfüze kalbi deneylerinde *in vitro* olarak kullanılan tezosentan, Langendorff deneylerinde kullanılan modifiye Krebs-Henseleit çözeltisi kullanılarak seyreltildi.

3.10. Verilerin Değerlendirilmesi

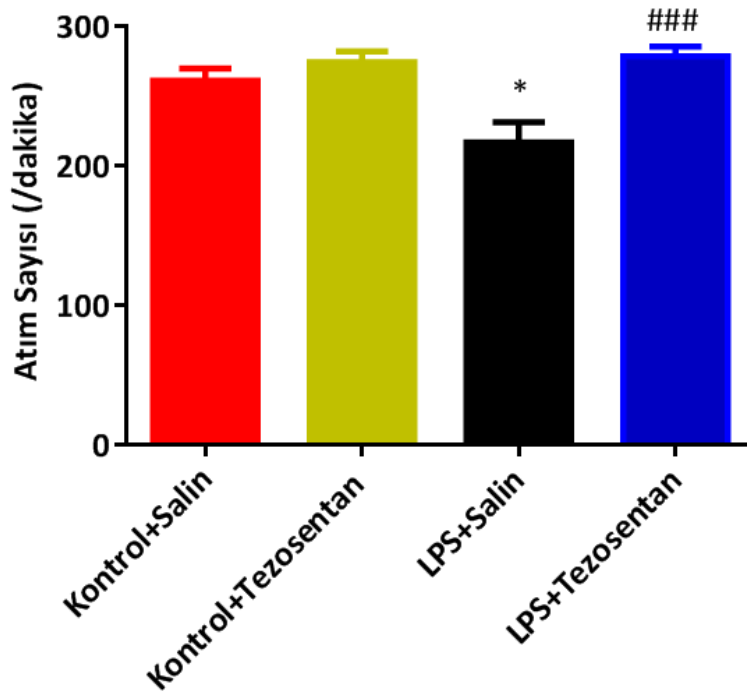
Veriler ortalama \pm standart hata olarak ifade edildi. Veriler GraphPad Prism 6 programı kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel olarak tek yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Tukey, iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Dunnett çoklu karşılaştırma veya Sidak testi, Kruskal-Wallis testi sonrası *post hoc* Dunn'ın çoklu karşılaştırma testi, Student'ın t testi kullanıldı. pD_2 değerleri nonlineer regresyon analiziyle hesaplandı. Hesaplanan p değerinin 0,05'den küçük olduğu durumlarda farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Tezosentanın İntraperitoneal Uygulandığı Sıçanlarda Langendorff İzole Kalp Çalışmaları

4.1.1. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Atım Sayısı Üzerine Etkileri

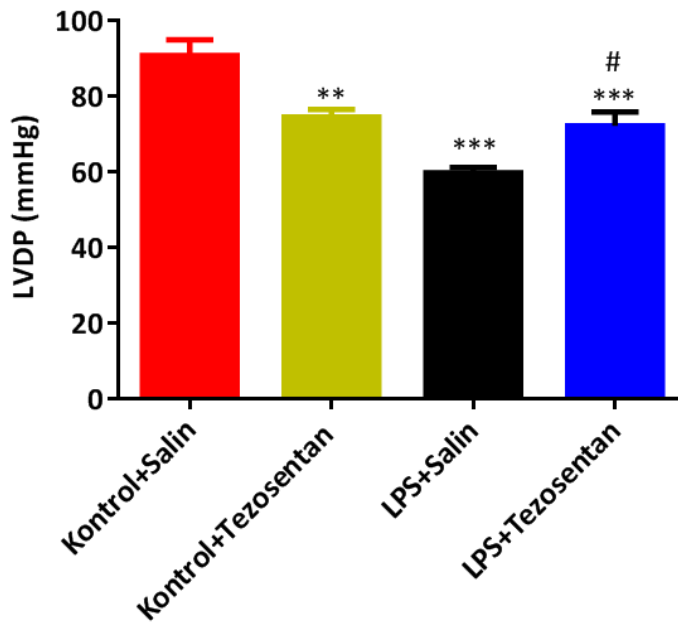
Langendorff düzeneğinde atan kalpte, LPS ($216,5 \pm 14,69$), 40.dakikadaki kalp atım sayısını kontrol grubuna göre ($260,8 \pm 8,70$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltmaktadır ($p<0,05$). Tezosentan verilmiş LPS'li hayvanlarda ($278,3 \pm 6,92$) ise sadece LPS'li hayvanlara ($216,5 \pm 14,69$) göre kalp atım sayısı anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Tezosentan verilmiş sağlıklı hayvanlarda ($274,1 \pm 7,72$) ise kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. 40. dakikada kalp atım sayısı değerleri. Tek yönlü ANOVA testine göre gruplar arasında anlamlı farklılık mevcuttur ($p=0,02$). *Post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. * Kontrol+Salin grubuna göre anlamlı farklılık mevcut. #, LPS + Salin grubuna göre anlamlı farklılık mevcut. (###, $p<0,001$; *, $p<0,05$). $n=10-12$.

4.1.2. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Sol Ventrikülün Geliştirdiği Basınç (LVDP) Üzerine Etkileri

Langendorff düzeneğinde atan kalpte, LPS ($59,72 \pm 1,39$), 40.dakikada sol ventrikülün geliştirdiği basıncı, kontrol grubuna göre ($90,70 \pm 4,15$) istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaltmaktadır ($p < 0,001$). Tezosentan verilmiş LPS'li hayvanlarda ($72,15 \pm 3,67$) ise salin enjekte edilmiş LPS'li hayvanlara ($59,72 \pm 1,39$) göre sol ventrikülün geliştirdiği basınç değeri anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Öte yandan tezosentan verilmiş sağlıklı hayvanlarla ($74,49 \pm 1,99$) kontrol grubu ($90,70 \pm 4,15$) hayvanları arasında anlamlı fark bulunmaktadır ($p < 0,01$), (Şekil 4.2.).

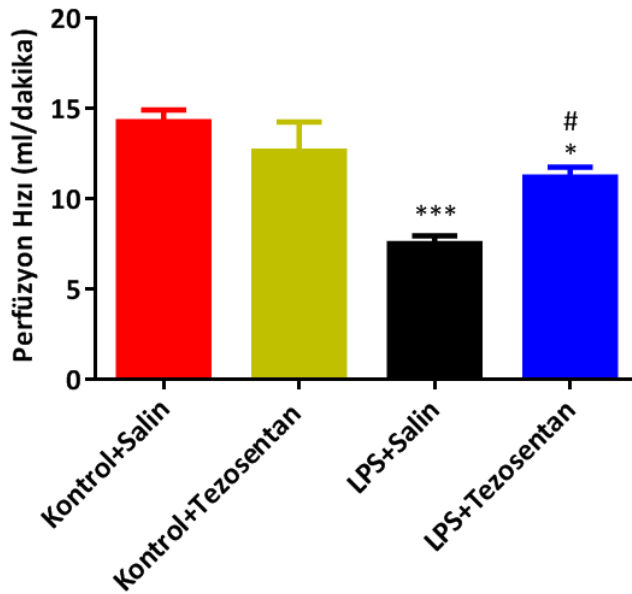


Şekil 4.2. 40.dakikada sol ventrikülün geliştirdiği basınç değerleri. Tek yönlü ANOVA testine göre gruplar arasında farklılık mevcuttur ($p < 0,001$). *Post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. #, LPS + Salin grubuna göre anlamlı farklılık mevcut. *, Kontrol+Salin grubuna göre anlamlı farklılık mevcut. (***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; #, $p < 0,05$). $n=10-12$.

4.1.3. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Koroner Perfüzyon Üzerine Etkileri

Langendorff düzeneğinde atan kalpte, LPS verilmiş hayvanlarda, 40. dakikadaki koroner perfüzyon hızı ($7,5 \pm 0,44$), kontrol grubuna göre ($14,25 \pm 0,66$)

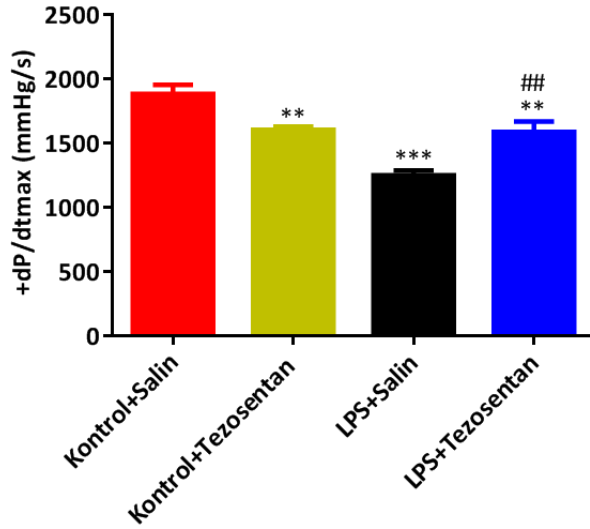
istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmaktadır ($p<0,001$). Tezosentan verilmiş LPS'li hayvanlarda ise ($11,2 \pm 0,54$), sadece LPS verilmiş hayvanlara göre ($7,5 \pm 0,44$) koroner perfüzyon hızı değeri anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan tezosentan verilmiş sağlıklı hayvanlarda ($12,63 \pm 1,62$) kontrol hayvanlarına göre ($14,25 \pm 0,66$) anlamlı bir değişiklik bulunmamaktadır (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. 40.dakikada koroner perfüzyon hızı değerleri. Tek yönlü ANOVA testine göre gruplar arasında farklılık mevcuttur ($p<0,001$). *Post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. #, LPS + Salin grubuna göre anlamlı farklılık mevcut. *, Kontrol+Salin grubuna göre anlamlı farklılık mevcut anlamlılık mevcut. (***, $p<0,001$; *, $p<0,05$; #, $p<0,05$). n=8-12.

4.1.4. LPS ve Tezosentan Uygulamalarının Basınç-Zaman Grafiğinde Maksimum Türev Değeri Üzerinde Etkileri (dP/dt_{max})

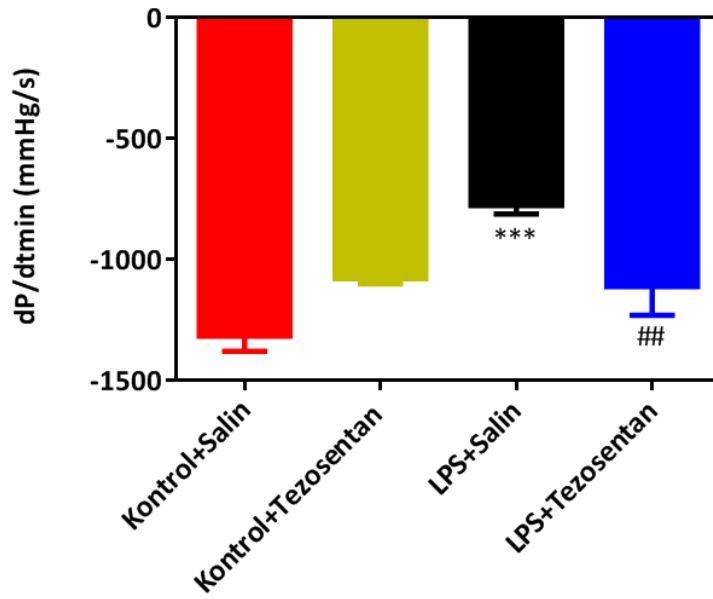
Langendorff izole kalp düzeneğinde, LPS verilmiş sıçanların 40. dakikadaki $+dP/dt_{max}$ değerleri ($1249 \pm 36,55$), kontrol grubundaki sıçanların 40. dakikadaki $+dP/dt_{max}$ değerlerinden ($1882 \pm 70,93$) istatistiksel olarak anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,001$). Tezosentan verilmiş LPS'li hayvanlarda ($1586 \pm 83,12$) ise sadece LPS verilmiş hayvanlara ($1249 \pm 36,55$) göre, $+dP/dt_{max}$ değerleri, anlamlı bir şekilde daha yüksektir ($p<0,01$). Tezosentan verilmiş sağlıklı hayvanlarla ($1602 \pm 26,05$), kontrol grubundaki hayvanların ($1882 \pm 70,93$) $+dP/dt_{max}$ değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p<0,01$), (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. 40.dakikadaki +dP/dt_{max} değerleri. Tek yönlü ANOVA testine göre gruplar arasında farklılık mevcuttur ($p < 0,001$). *Post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. #, LPS+Salin grubu ile anlamlı farklılık mevcut. ***, Kontrol+Salin grubu ile anlamlı farklılık mevcut. (***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; ##, $p < 0,01$). $n=10-12$.

4.1.5. LPS ve Tezoseantan Uygulamalarının Basınç-Zaman Grafiğinin Minimum Türev Değeri Üzerinde Etkileri (dP/dt_{min})

Langendorff izole kalp düzeneğinde, LPS verilmiş sıçanların, 40. dakikadaki dP/dt_{min} değerleri ($-777,7 \pm 35,23$), kontrol grubundaki hayvanların 40. dakikadaki dP/dt_{min} değerlerinden ($-1318 \pm 62,77$), mutlak değerce, anlamlı şekilde düşüktür ($p < 0,001$). Tezoseantan verilmiş LPS'li hayvanlarda ($-1113 \pm 117,90$) ise, sadece LPS verilmiş hayvanlara ($-777,7 \pm 35,23$) göre, dP/dt_{min} değerleri, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksektir ($p < 0,01$). Tezoseantan verilmiş sağlıklı hayvanların değerleri ($-1081 \pm 21,11$) ile, kontrol grubundaki hayvanların değerleri ($-1318 \pm 62,77$) arasında anlamlı fark bulunamamıştır (Şekil 4.5.).

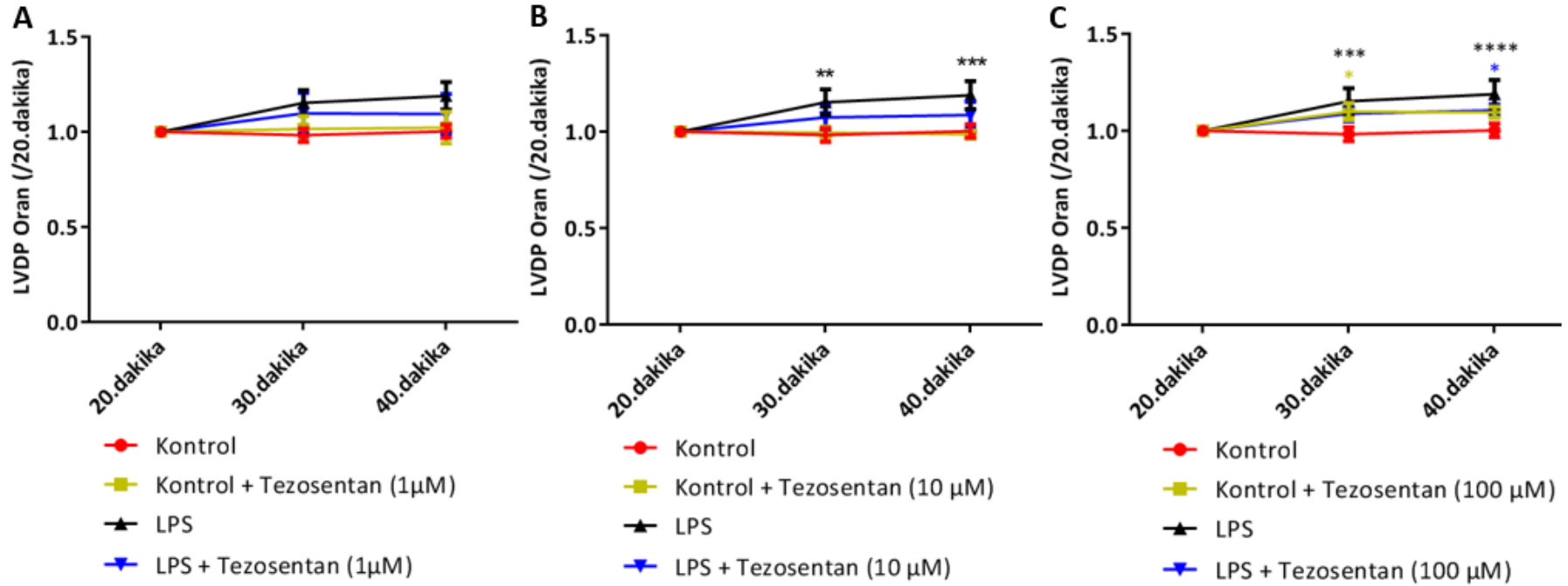


Şekil 4.5. 40.dakikada dP/dt_{min} değerleri. Tek yönlü ANOVA testine göre gruplar arasında farklılık mevcuttur ($p < 0,001$). *Post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verilmiştir. #, LPS+Salin grubu ile anlamlı farklılık mevcut. ***, Kontrol+Salin grubu ile anlamlı farklılık mevcut. (***, $p < 0,001$; ##, $p < 0,01$). $n=10-12$.

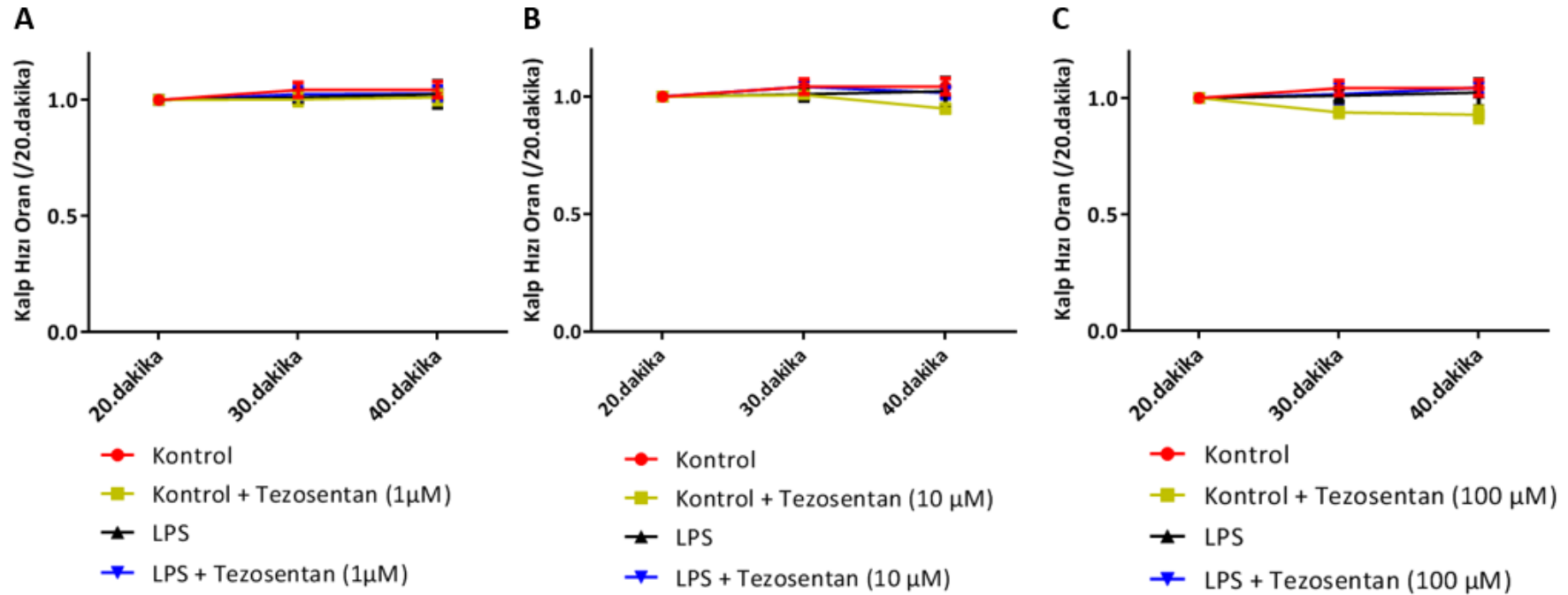
4.2. Tezoseantanın Banyo Ortamında Kalbe Verildiği Langendorff İzole Kalp Çalışmaları

Sol ventrikülün, 30. dakika ve 40. dakikada geliştirdiği basınçların 20. dakikada geliştirdiği basınçlara oranları şekil 4.6'da gösterilmiştir. $1 \mu\text{M}$ 'lık tezoseantanın kullanıldığı deney serisinde 2 yönlü ANOVA testine göre aynı zaman noktasında gruplar arasında ($p=0,46$) veya aynı grup içerisinde zaman noktaları arasında ($p=0,07$) fark bulunamamıştır. Tezoseantanın $10 \mu\text{M}$ kullanıldığı deneylerde gruplar arasında oransal olarak fark bulunmazken ($p=0,09$), aynı grup içerisinde zaman noktaları arasında fark bulunmuştur ($p=0,02$). Bu fark Dunnett'in çoklu karşılaştırmalı testine göre LPS grubundan kaynaklanmaktadır. $100 \mu\text{M}$ tezoseantanla yapılan deneylerde hiçbir zaman noktasında gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p=0,08$). Aynı grup içerisinde ise 20. dakikaya göre karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p < 0,01$). Bu farklar LPS grubunun iki zaman noktasından, Kontrol + Tezoseantan ($100 \mu\text{M}$) grubunun 30. dakikasından ve LPS + Tezoseantan ($100 \mu\text{M}$) grubunun 40. dakikasından kaynaklanmaktadır.

30. ve 40. dakikada kalp hızının 20. dakikadaki kalp hızına oranları şekil 4.7.'de gösterilmiştir. Tezosentanın 1 μM kullanıldığı deney serisinde 2 yönlü ANOVA testine göre aynı zaman noktasında gruplar arasında ($p=0,87$) veya aynı grup içerisinde zaman noktaları arasında ($p=0,22$) fark bulunamamıştır. Benzer şekilde 10 μM tezosentan ($p=0,47$, $p=0,22$) ve 100 μM tezosentanın ($p=0,10$, $p=0,85$) kullanıldığı çalışmalarda sırasıyla gruplar arası veya aynı grup içinde farklı zaman noktalarında kalp hızı oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 4.6. 1 µM (A), 10 µM (B) ve 100 µM (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalarda sol ventrikülün geliştirdiği basıncın 20. dakikadaki basınca oranı. *, o renkteki grupta 20. dakikaya göre $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,0001$. Grafikteki değerler ortalama \pm standart hata şeklinde gösterilmiştir. 2 yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Dunnett testi kullanılmıştır. Her grup için $n=6$.

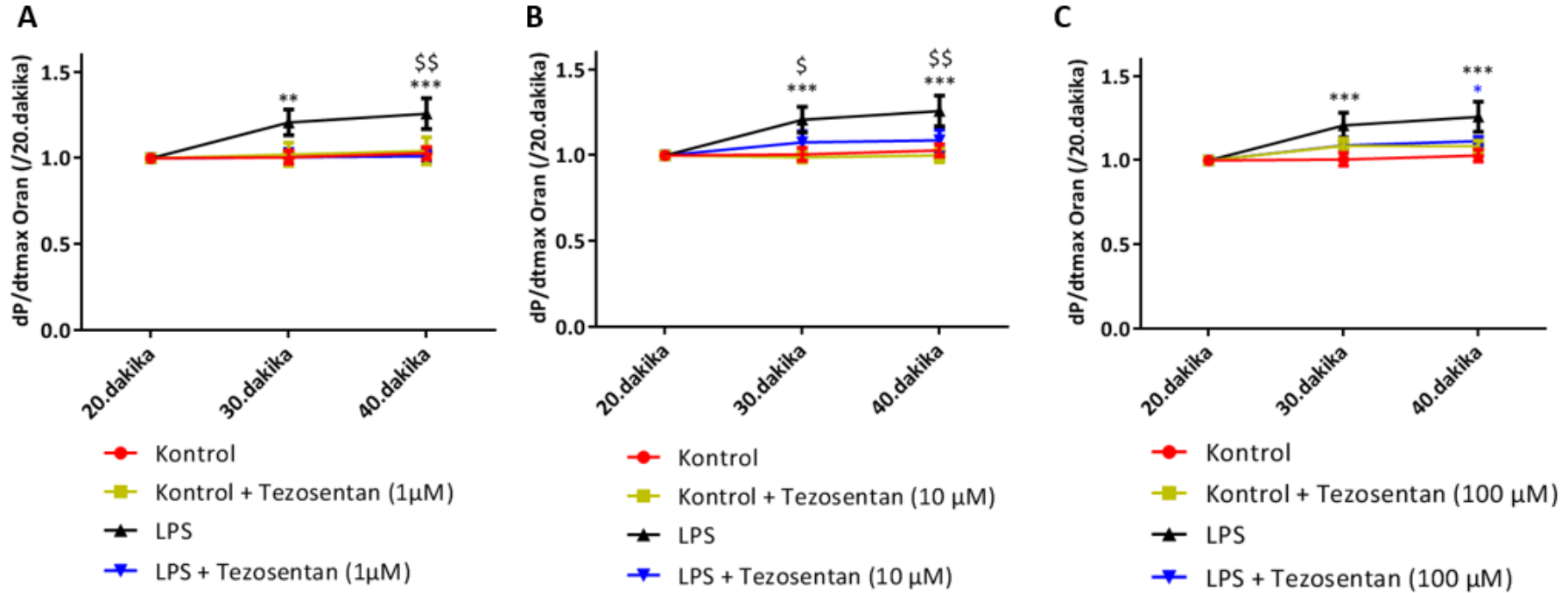


Şekil 4.7. 1 μM (A), 10 μM (B) ve 100 μM (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki kalp hızının 20. dakikadaki kalp hızına oranı. Grafikteki değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. 2 yönlü ANOVA testine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Her grup için n=6.

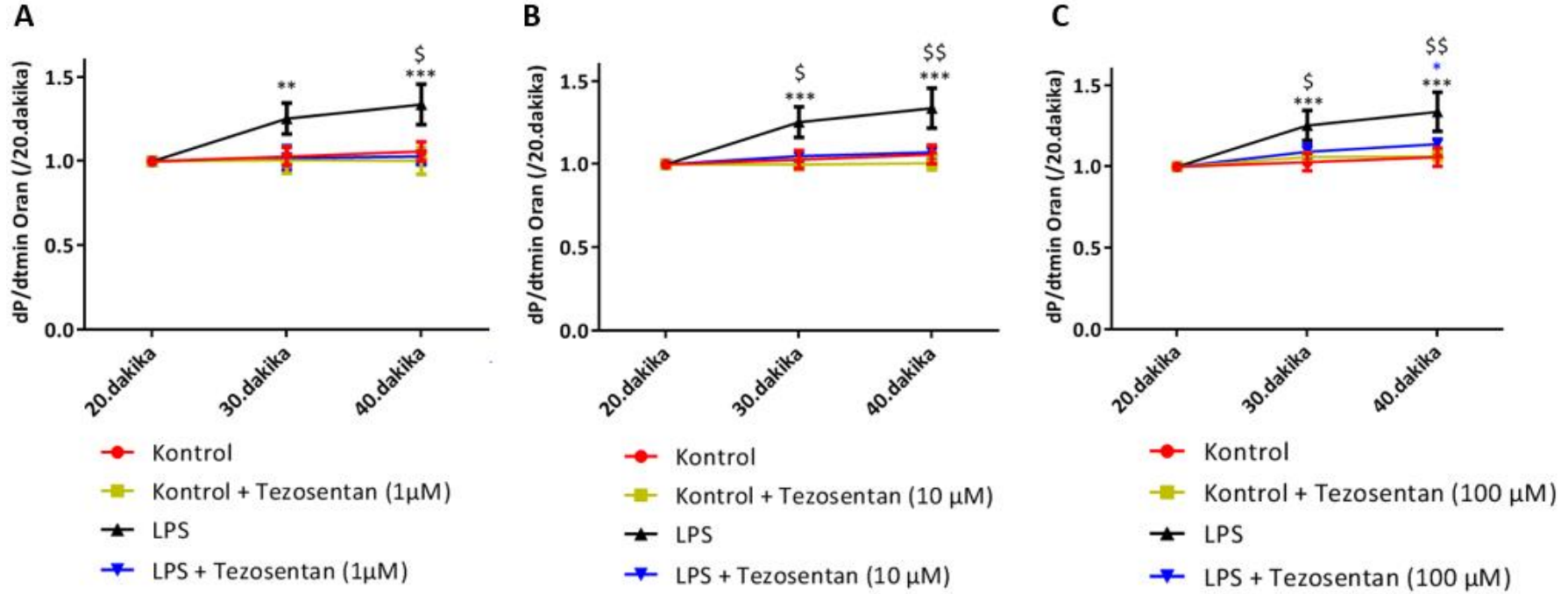
30. ve 40. dakikadaki dP/dt_{max} değerlerinin 20. dakikadaki değerlere oranları şekil 4.8.'de gösterilmiştir. 1 μ M 'lık tezosentanın kullanıldığı deney serisinde 2 yönlü ANOVA testine göre aynı zaman noktasında gruplar arasında sınırdaki fark yoktur. ($p=0,06$). Zaman faktörüne göre ise fark bulunmaktadır ($p<0,01$). Bu fark LPS grubundan kaynaklanmaktadır. 10 μ M tezosentanla yapılan deneylerde hem zaman faktöründe hem de deney grubu faktöründe anlamlı farklılıklar bulunmaktadır ($p<0,01$ ve $p=0,04$). LPS grubunun 30. ve 40. dakikalardaki oranı 1'den anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Öte yandan 30. dakika ve 40. dakikada LPS grubu ile Kontrol + Tezosentan ve Kontrol gruplarının değerleri aynı grupların 20. dakikadaki değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde farklıdır. Tezosentanın 100 μ M'lık konsantrasyonda kullanıldığı çalışmada gruplar arasında hem 30. dakikada hem de 40. dakikada 20. dakikaya oran açısından fark gözlemlenmezken; LPS grubunda 30. ve 40. dakikada, 20. dakikaya göre anlamlı bir yükseliş görülmektedir ($p<0,01$).

30. ve 40. dakikadaki dP/dt_{min} değerlerinin 20. dakikadaki değere oranları şekil 4.9.'da gösterilmiştir. 1 μ M'lık tezosentan konsantrasyonunda LPS grubunda 30. dakikada ve 40. dakikada anlamlı artış gözlenmektedir ($p<0,01$). LPS grubundaki oransal artış 40. dakikada diğer 3 gruba göre anlamlıdır ($p<0,05$). Tezosentanın 10 μ M konsantrasyonunda kullanıldığı deneylerde de sonuçlar benzerdir ($p<0,01$ ve $p=0,02$). 10^{-4} M tezosentan kullanılan çalışmada, LPS 30. ve 40. dakikada; LPS + Tezosentan ise 40. dakikada 20. dakikaya göre oransal olarak anlamlı artış göstermektedir. 30. dakikada ve 40. dakikada, LPS grubu ve kontrol grubu arasında oransal olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0,05$).

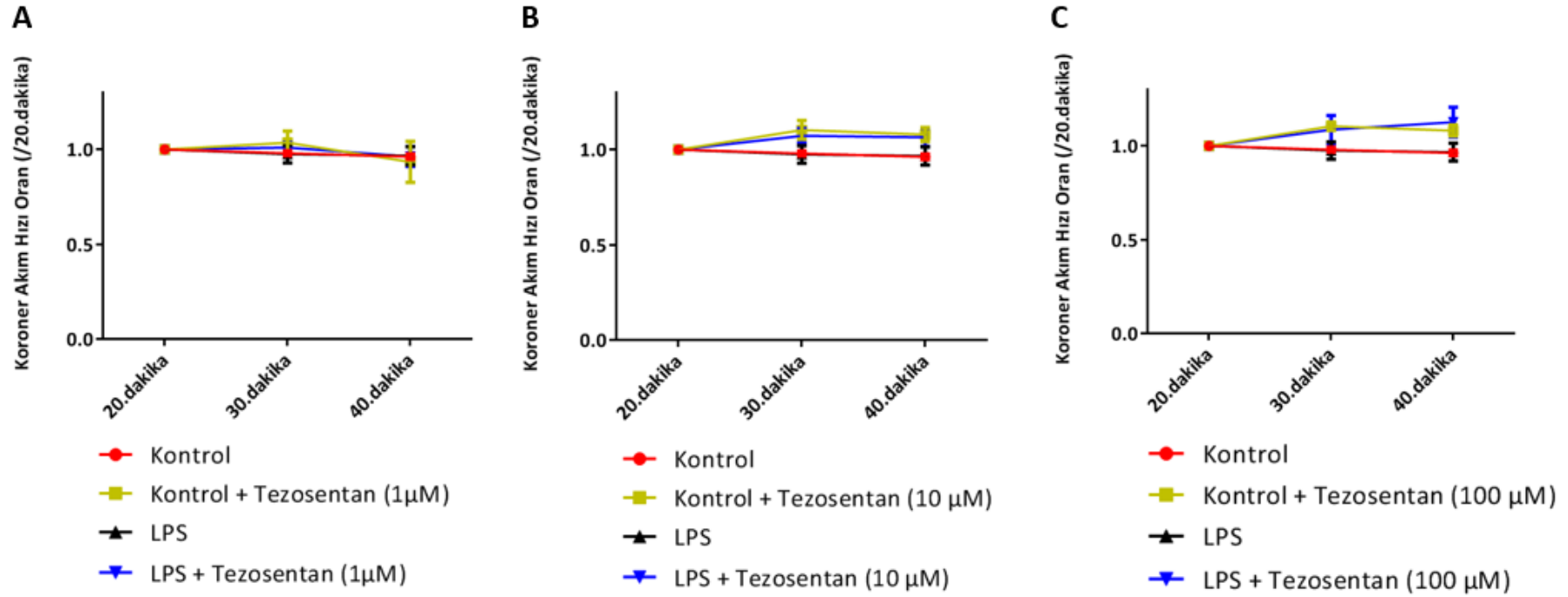
Koroner akım hızının 30. ve 40. dakikada, 20. dakikaya göre değişim oranları şekil 4.10.'da gösterilmiştir. Hiçbir konsantrasyonda hiçbir grupta 30. ve 40. dakikada 20. dakikaya göre anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (1 μ M için $p=0,20$, 10 μ M için $p=0,16$, 100 μ M için $p=0,17$). Deney grupları arasında da her üç konsantrasyonda da anlamlı fark bulunmamaktadır (1 μ M için $p=0,99$, 10 μ M için $p=0,07$, 100 μ M için $p=0,09$).



Şekil 4.8. 1 μM (A), 10 μM (B) ve 100 μM (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki dP/dt_{max} değerinin 20. dakikadaki dP/dt_{max} değerine oranı. Grafikteki değerler ortalama \pm standart hata şeklinde gösterilmiştir. 2 yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Dunnett testi kullanılmıştır. *, o renkteki grupta 20. dakikaya göre $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,0001$. \$, kontrol grubuna göre $p < 0,05$. \$\$, $p < 0,01$. Her grup için $n=6$.



Şekil 4.9. 1 μM (A), 10 μM (B) ve 100 μM (C) tezosenan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki dP/dt_{min} değerinin 20. dakikadaki dP/dt_{min} değerine oranı. Grafikteki değerler ortalama \pm standart hata şeklinde gösterilmiştir. 2 yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Dunnett testi kullanılmıştır. *, o renkteki grupta 20. dakikaya göre $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,0001$. \$, kontrol grubuna göre $p < 0,05$. Her grup için $n=6$.



Şekil 4.10. 1 μ M (A), 10 μ M (B) ve 100 μ M (C) tezosentan kullanılan deney gruplarında, 30. ve 40. dakikalardaki koroner perfüzyon hızı değerinin 20. dakikadaki koroner perfüzyon hızı değerine oranı. Grafikteki değerler ortalama \pm standart hata şeklinde gösterilmiştir. 2 yönlü ANOVA testine göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Her grup için n=6.

4.3. İzole Organ Banyosunda LPS ve Kontrol Grubu DeneYleri

4.3.1. Kontrol ve LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların Bazal Atım Hızları ile Kasılmaları ve İzole Edilen Papiller Kasların Bazal Kasılmaları

Dokular, organ banyosuna yerleştirildikten 45 dakika sonra alınan bazal değerlerinin karşılaştırılmasında; atriyum bazal atım sayısı LPS grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p=0,01$). Atriyum bazal kasılma miktarı arasındaki fark iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı değildir. Papiller kas kasılma miktarı açısından ise iki grup arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ($p=0,7$), (Tablo 4.11.).

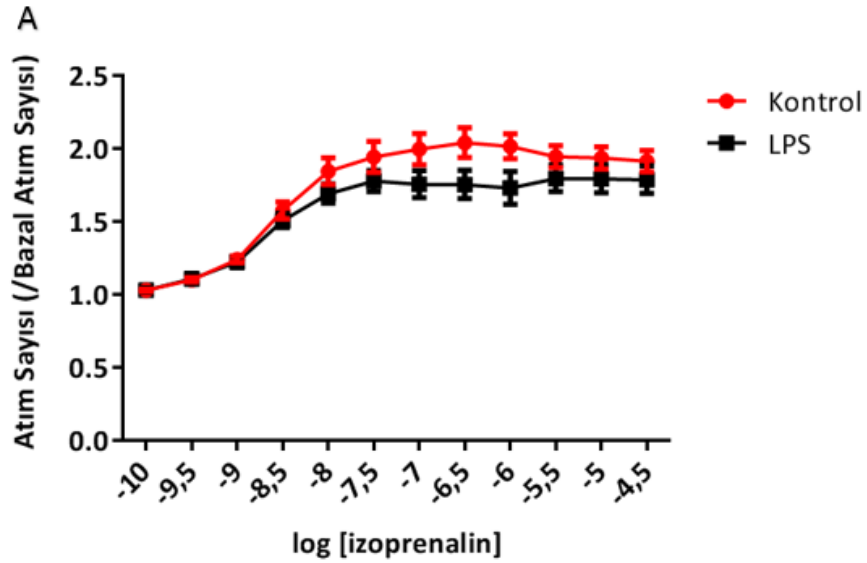
Tablo 4.1. Deney grupları; 45. dakika bazal değerleri

	Kontrol	LPS	p değeri
Atriyum Atım Sayısı (/dakika)	201,6 ± 7,02	226,1 ± 5,93 *	0,01
Atriyum Kasılma (g)	0,25 ± 0,015	0,1975 ± 0,02	0,053
Papiller Kas Kasılma (g)	0,21 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,70

(Her grup için $n=13$; değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterilmiştir. *, $p<0,05$ kontrol grubuna göre)

4.3.2. Kontrol LPS Gruplarından İzole Edilen Atriyumların İzoprenaline Atım Sayısı Cevapları

Dokular organ banyosuna yerleştirilip 45 dakikalık dinlenme periyodundan sonra alınan izoprenaline yanıtının genliği bakımından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. ($p=0,13$) Benzer şekilde izoprenalinin etkisi için hesaplanan pD_2 değerleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,71$), (Şekil 4.11).



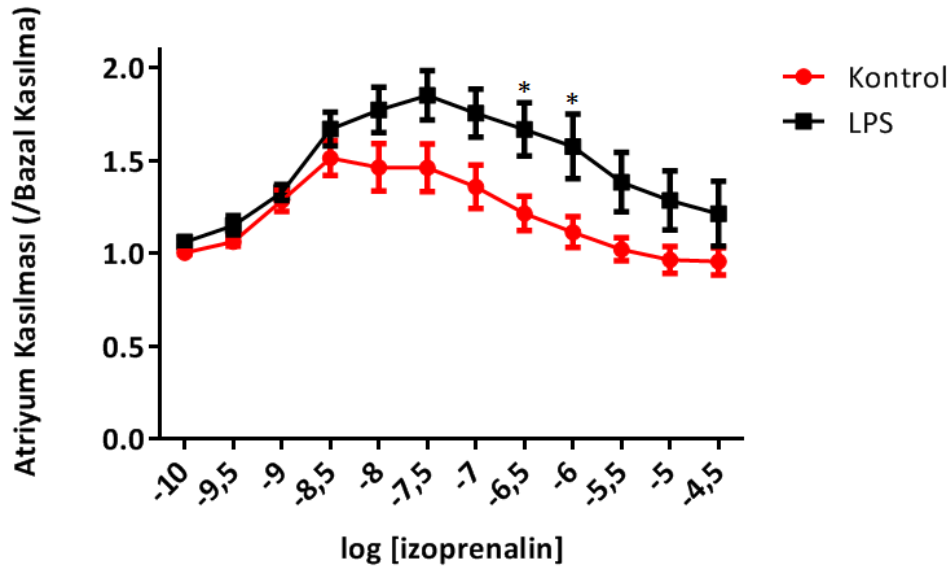
B

Gruplar	n	pD ₂ Değeri (Ortalama ± Standart Hata)	p değeri
Kontrol	13	8,67 ± 0,13	0,71
LPS	13	8,75 ± 0,17	

Şekil 4.11. A, İzole atriyum atım sayısı izoprenalin cevapları. Atriyum atım sayısı izoprenalin konsantrasyon yanıt eğrileri iki grup arasında benzerdir. **B, İzoprenalin pD₂ değerleri.** Gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. Şekil A'da iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Şekil B'deki pD₂ değerleri non-lineer regresyon analizi ile hesaplanmış ve gruplar birbiriyle Student'in t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her grup için n=13.

4.3.3 Kontrol Grubu ve LPS Grubundan İzole Edilen Atriyumların İzoprenaline Kasılma Cevapları

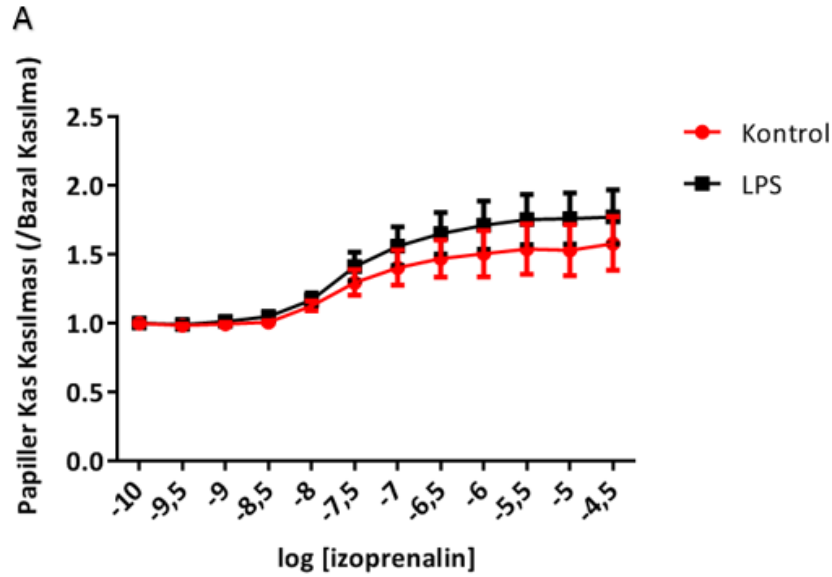
Atriyumların izoprenaline verdiği kasılma yanıtına bakıldığında iki grup arasında fark gözlenmektedir ($p=0,03$). İki grup arasındaki bu fark $0,3 \mu\text{M}$ ve $1 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarından kaynaklanmaktadır (Şekil 4.12.).



Şekil 4.12. İzole atriyum kasılması izoprenalin cevapları. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Gruplar birbiriyle iki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Sidak testiyle karşılaştırılmıştır. *, $p<0,05$ kontrol grubuna göre. Her grup için $n=13$

4.3.4 Kontrol ve LPS Grubundan İzole Edilen Papiller Kasların İzoprenaline Kasılma Cevapları

Dokular organ banyosuna yerleştirilip 45 dakikalık dinlenme periyodundan sonra alınan izoprenalin yanıtlarının genliği bakımından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,4$). Benzer şekilde izoprenalinin etkisi için hesaplanan pD_2 değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,97$) (Şekil 4.13.).



B

Gruplar	n	pD ₂ Değeri (Ortalama ± Standart Hata)	p değeri
Kontrol	13	7,54 ± 0,32	0,97
LPS	13	7,52 ± 0,25	

Şekil 4.13. A, İzole papiller kas kasılması izoprenalin cevapları. İki grup arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. **B, İzoprenalin pD₂ değerleri** Gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. Şekil A'da iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Şekil B'deki pD₂ değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplandı ve gruplar birbiriyle Student'ın t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her grup için n=13.

4.3.5 Kontrol Grubu ve LPS Grubundan İzole Edilen Atriyumların Karbakole Atım Hızı Yanıtları

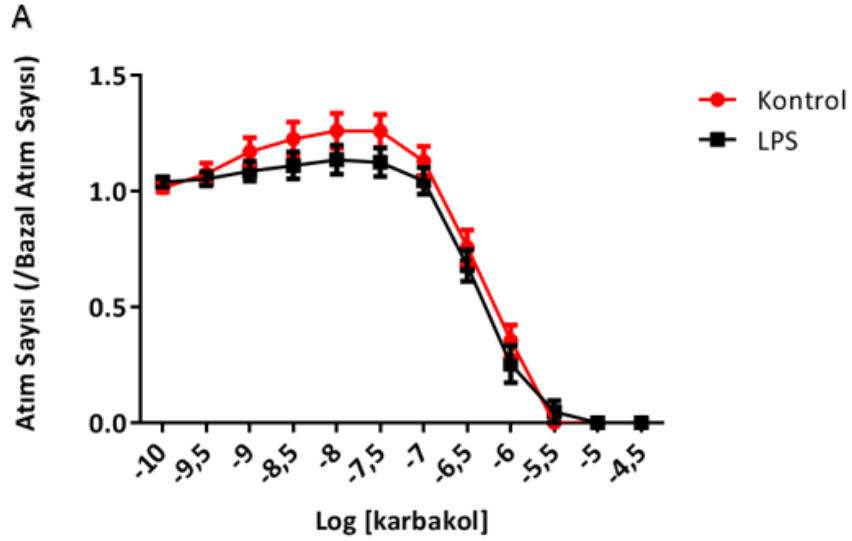
İzoprenalin cevaplarından sonra dokular 45 dakika boyunca dinlendirilip ardından karbakolle doz yanıt eğrileri elde edilmiştir. İki grubun karbakol cevabı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0,25$). Karbakol için hesaplanan pD_2 değerleri de benzer bulunmuştur ($p=0,48$), (Şekil 4.14).

4.3.6 Kontrol Grubu ve LPS Grubundan İzole Edilen Atriyumların Karbakole Gevşeme Yanıtları

Atriyum kasılmalarının karbakol yanıtlarında iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,94$). İki grubun karbakol için hesaplanan pD_2 değerleri benzer bulunmuştur ($p=0,19$), (Şekil 4.15).

4.3.7 Kontrol Grubu ve LPS Grubundan İzole Edilen Papiller Kasların Karbakole Gevşeme Yanıtları

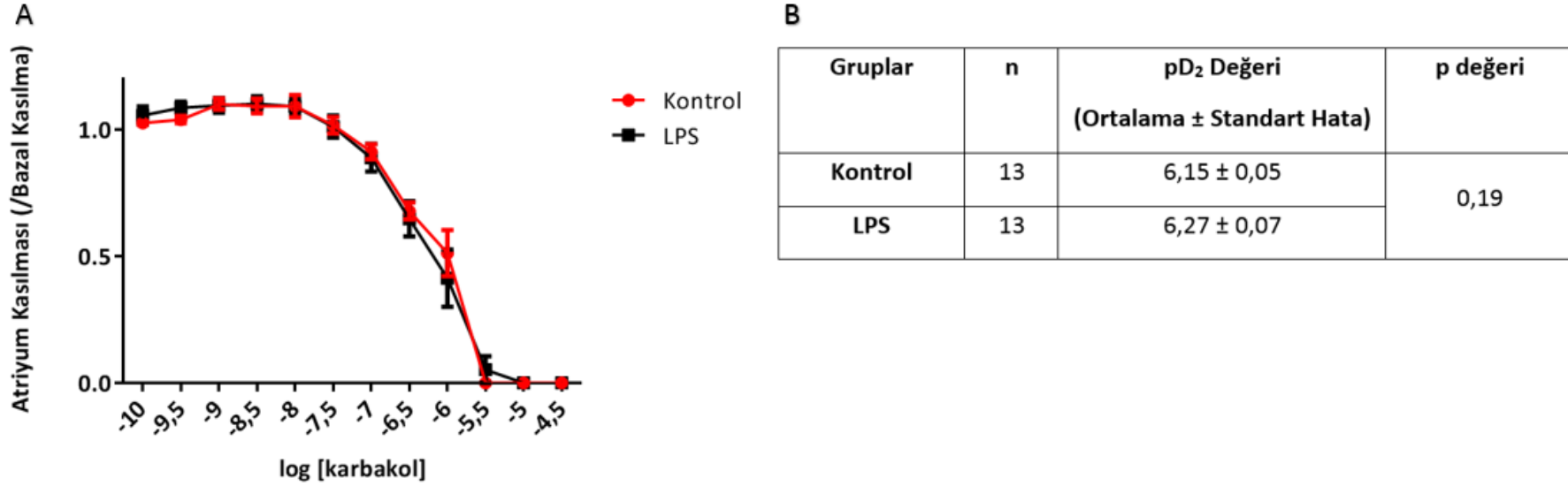
Papiller kas preparatlarında alınan karbakolle gevşeme yanıtlarında LPS ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p=0,66$). Benzer şekilde iki grupta karbakol için hesaplanan pD_2 değerleri de benzer bulunmuştur ($p=0,76$), (Şekil 4.16.).



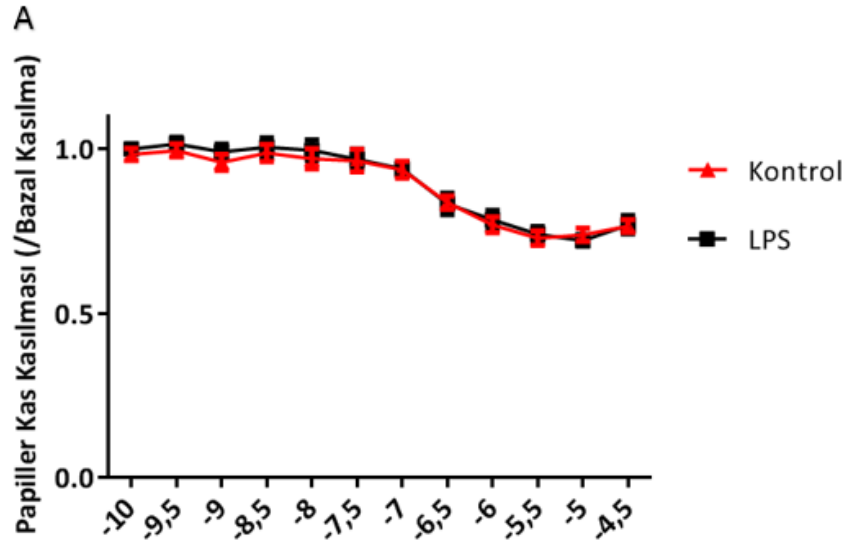
B

Gruplar	n	pD ₂ Değeri (Ortalama ± Standart Hata)	p değeri
Kontrol	13	6,21 ± 0,07	0,48
LPS	13	6,28 ± 0,07	

Şekil 4.14. A, izole atriyum atım sayısı karbakol cevapları. İki grup arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. **B, Karbakol pD₂ değerleri.** Gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. Şekil A'da iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Şekil B'deki pD₂ değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplanmıştır ve gruplar birbiriyle Student'ın t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her grup için n=13.



Şekil 4.15. A, İzole atriyum kasılması karbakol cevapları. İki grup arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. **B, Karbakol pD₂ değerleri.** Gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. Şekil A'da iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Şekil B'deki pD₂ değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplanmıştır ve gruplar birbiriyle Student'ın t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her grup için n=13.



B

Gruplar	n	pD ₂ Değeri (Ortalama ± Standart Hata)	p değeri
Kontrol	13	6,60 ± 0,15	0,76
LPS	13	6,67 ± 0,14	

Şekil 4.16. A, İzole papiller kas kasılması karbakol cevapları. İki grup arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. **B, Karbakol pD₂ değerleri.** Gruplar arasında anlamlı fark yoktur. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. Şekil A'da iki yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Şekil B'deki pD₂ değerleri nonlinear regresyon analizi ile hesaplanmıştır ve gruplar birbiriyle Student'in t testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Her grup için n=13.

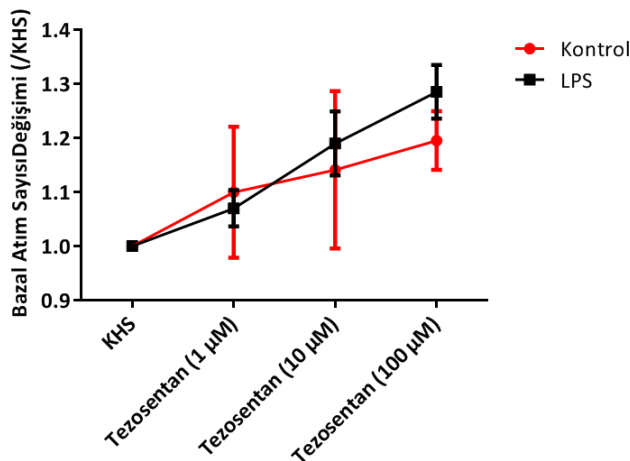
4.4. Tezosentanın Banyoda İnkübe Edildiği İzole Organ Banyosu Deneyleri

LPS grubu ile kontrol grubunun karşılaştırıldığı izole organ banyosu deneylerinde; bazal atriyum kasılma hızları ve atriyum kasılması izoprenalin doz yanıt eğrisinde iki grup arasında anlamlı fark bulunduğu için, tezosentanın banyo ortamına ilave edildiği deneylerde bu parametreler değerlendirildi. Ayrıca atriyum bazal kasılmasında fark olmasına rağmen istatistiksel olarak sınırda anlamsız çıkması ve atriyum atım sayısı izoprenalin doz yanıt eğrisinde istatistiksel anlamlı fark bulunmamasına karşın grafikte fark görülmesi nedeniyle çalışmanın bu kısmına bu yanıtlar da ilave edildi.

4.4.1. Tezosentanın Atriyum Atım Sayısına Etkileri

Tezosentan eklenmesi durumunda her iki grupta da atriyum hızında oransal bir artış görülmektedir. Ancak bu artış sınırda anlamlı bulunmadı ($p=0,0542$), (Şekil 4.17.).

Tezosentanın $1 \mu\text{M}$ banyoya eklenmesi durumunda gruplar arasında anlamlı fark oluşmadı ($p=0,4651$). Benzer şekilde $10 \mu\text{M}$ ve $100 \mu\text{M}$ konsantrasyonlarda banyoya eklenmesi durumunda da sonuçlar benzer bulundu ($p=0,3247$ ve $p=0,1679$), (Şekil 4.19.).

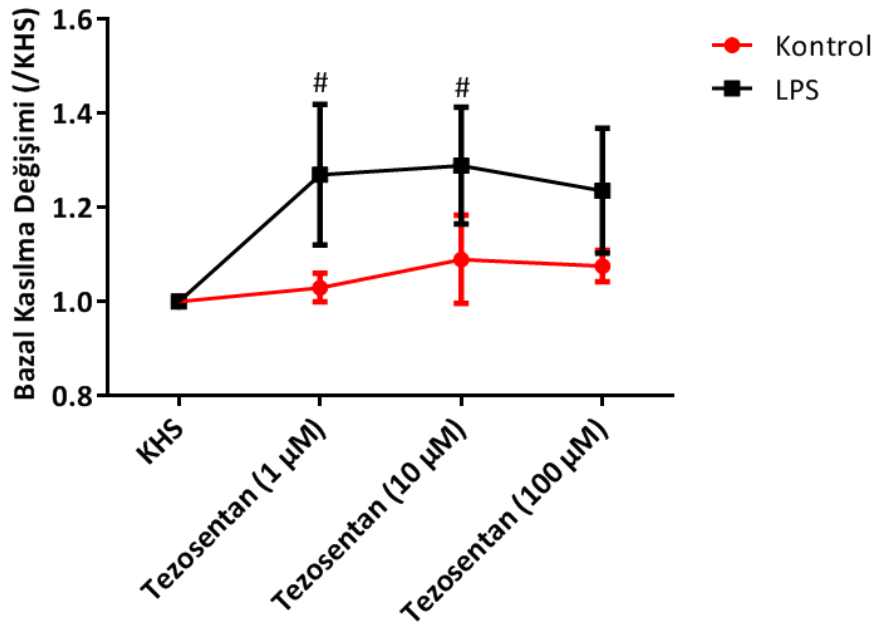


Şekil 4.17. Tezosentanın atriyum atım sayısına oransal etkisi. 2 yönlü ANOVA testine göre hiçbir tezosentan konsantrasyonunda anlamlı fark bulunamamıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Tüm gruplar için $n=3$.

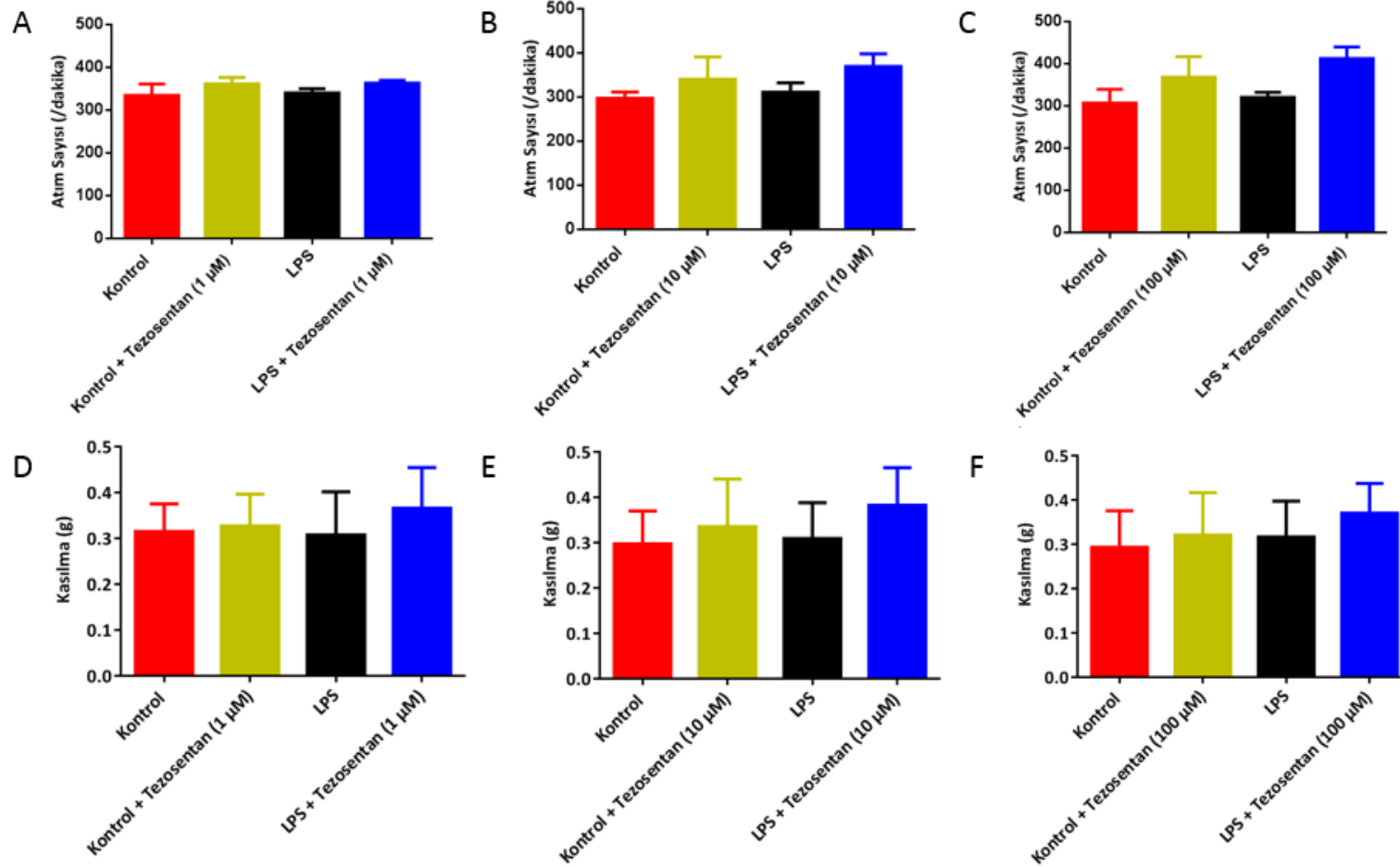
4.4.2. Tezosenanın Atriyum Kasılmasına Etkileri

Tezosenan eklenmesi durumunda her iki grupta da atriyum kasılmasında oransal bir artış görülmektedir. Bu artış LPS grubunda; KHS ile 10 μ M tezosenan konsantrasyonundaki yanıt arasında ve KHS ile 1 μ M tezosenan konsantrasyonundaki yanıt arasında anlamlıdır ($p=0,03$), (Şekil 4.19.).

Tezosenanın banyo ortamına 1 μ M, 10 μ M ve 100 μ M konsantrasyonlarda eklenmesi durumunda, iki grup arasında, atriyum kontraksiyonlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0,90$, $p=0,90$, $p=0,71$), (Şekil 4.18.).



Şekil 4.18. Tezosenanın atriyum kasılmasına oransal etkisi. 2 yönlü ANOVA testine göre konsantrasyona bağımlı değerler arasında anlamlı bir fark bulunmaktadır. Kontrol grubu ve LPS grubu arasında herhangi bir tezosenan konsantrasyonuna oransal artış açısından anlamlı fark bulunamamıştır. Veriler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. *Post hoc* Sidak testi kullanılmıştır. #, $p<0,05$ KHS'ye göre. Tüm gruplar için $n=3$.



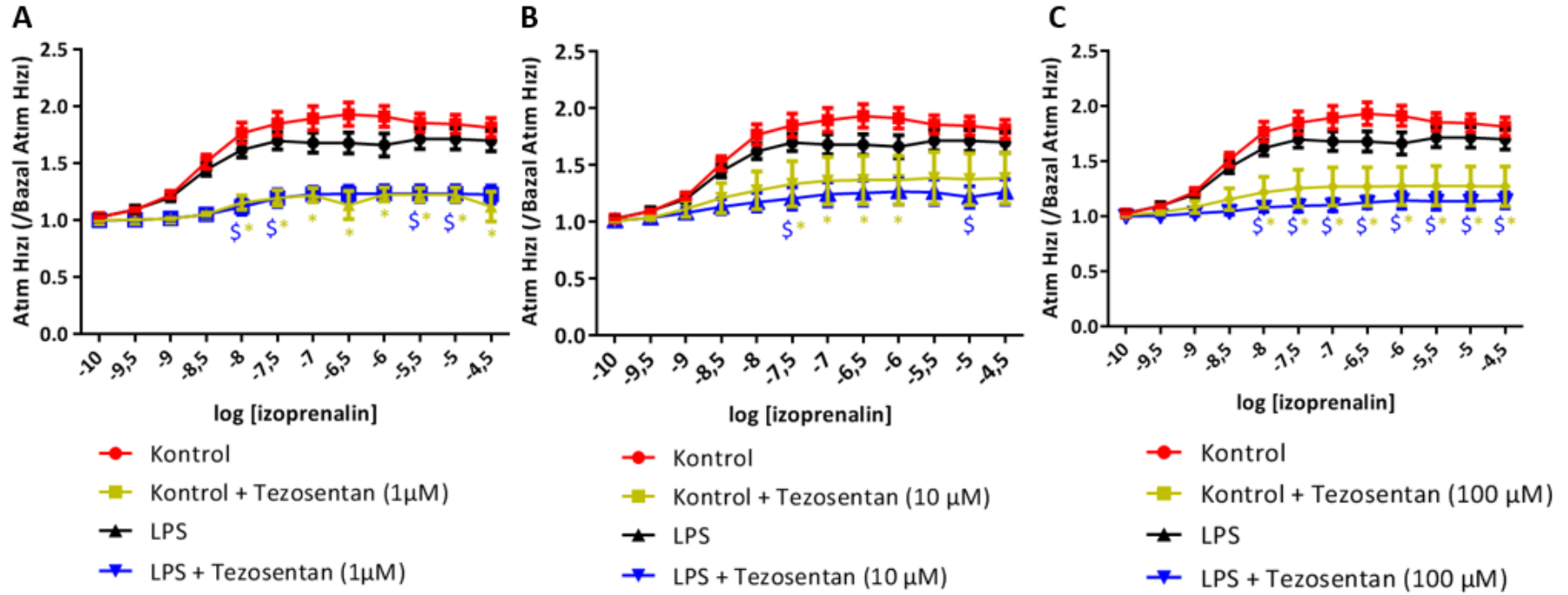
Şekil 4.19. A, B, C Tezosentanın sırasıyla 1 μM, 10 μM, 100 μM konsantrasyonlarda atriyum atım sayısına etkileri. D, E, F Tezosentanın sırasıyla 1 μM, 10 μM, 100 μM konsantrasyonlarda atriyum kasılmasına etkileri. Altı grafikte de gruplar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. Veriler ortalama ± standart hata olarak gösterilmiştir. Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Her grup için n=3

4.4.3 Tezosentanın Atriyum Atım Sayısı İzoprenalin Cevabı Üzerine Etkileri

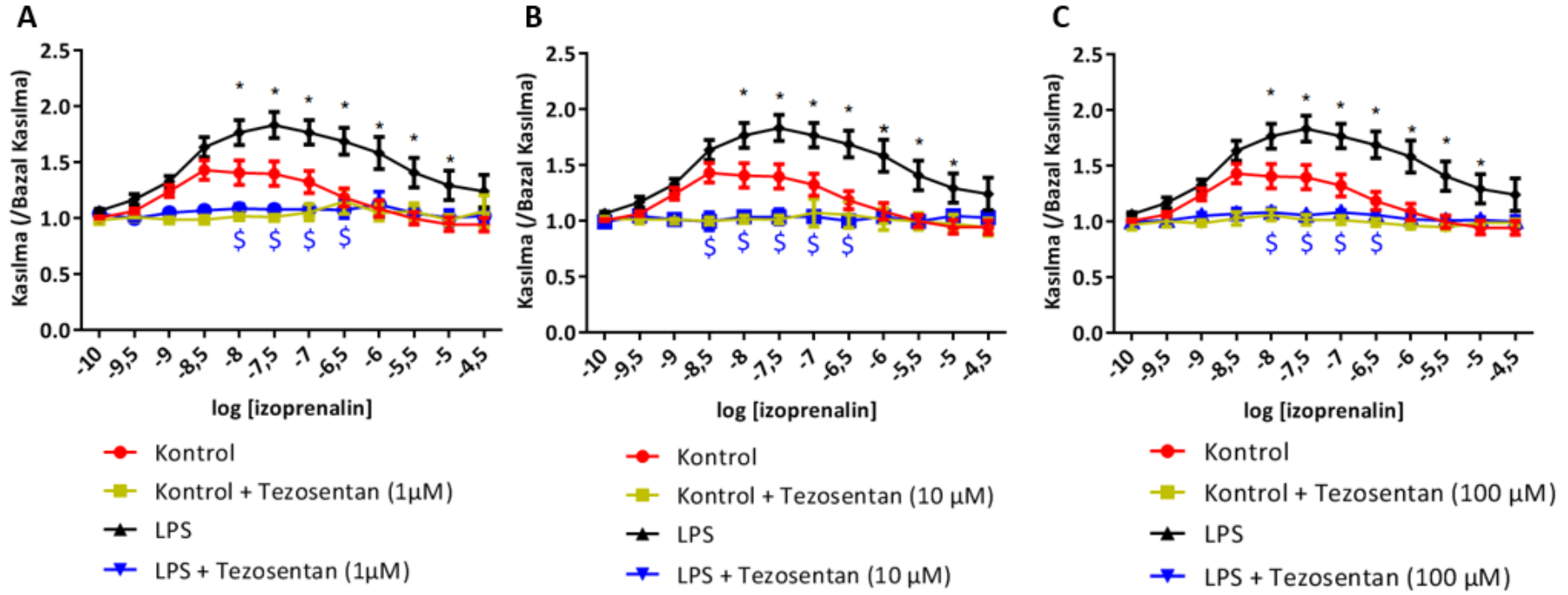
Hem kontrol gurubunda hem de LPS grubundaki hayvanların atriyumları organ banyosuna alınarak; tezosentan olmadan, 15 dakika 1 μM tezosentan inkübasyonu sonrası, 15 dakika 10 μM tezosentan inkübasyonu sonrası ve 15 dakika 100 μM tezosentan inkübasyonu sonrası izoprenalin yanıtları alınmıştır. Kontrol ve LPS grupları arasında anlamlı fark bulunmazken; LPS ile LPS+Tezosentan grupları arasında ve Kontrol ile Kontrol+Tezosentan grupları arasında izoprenalin yanıtlarında anlamlı fark bulunmaktadır.

4.4.4 Tezosentanın Atriyum Kasılması İzoprenalin Cevabı Üzerine Etkileri

Hem kontrol gurubunda hem de LPS grubundaki hayvanların atriyumları organ banyosuna alınarak; tezosentan olmadan, 15 dakika 1 μM tezosentan inkübasyonu sonrası, 15 dakika 10 μM tezosentan inkübasyonu sonrası ve 15 dakika 100 μM tezosentan inkübasyonu sonrası izoprenalin yanıtları alınmıştır. Kontrol ve LPS grupları arasında izoprenalin yanıtları açısından fark bulunmaktadır ($p<0,05$). LPS+Tezosentan ile LPS grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil.4.20. Kontrol ve LPS gruplarının 1 μM (A), 10 μM (B), 100 μM (C) tezosentan inkübasyonu öncesi ve sonrası atriyum atım sayısı izoprenalin yanıtları. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. İki yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. \$, LPS ile LPS+Tezosentan grupları arasında anlamlı fark mevcut ($p<0,05$). *, Kontrol ile Kontrol+Tezosentan grupları arasında anlamlı fark mevcut ($p<0,05$). Kontrol ve LPS grupları arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. $n=3-16$.



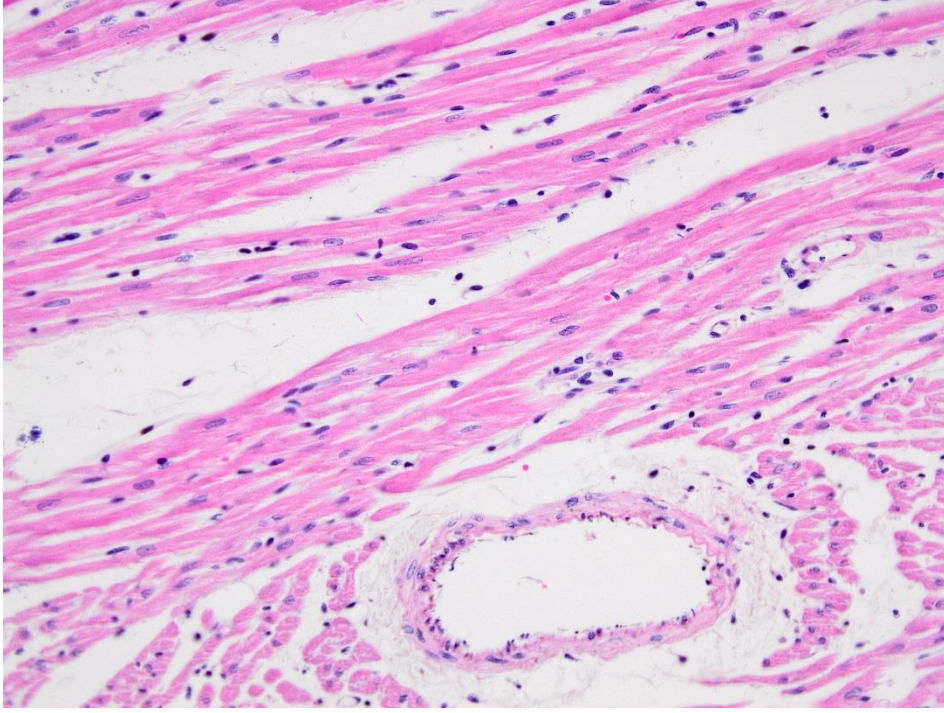
Şekil.4.21. Kontrol ve LPS gruplarının 1 μM (A), 10 μM (B), 100 μM (C) tezosenan inkübasyonu öncesi ve sonrası atriyum kasılması izoprenalin yanıtları. Veriler ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. 2 yönlü ANOVA sonrası *post hoc* Tukey testi kullanılmıştır. *, Kontrol ile LPS grupları arası anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$). \$, LPS ile LPS+Tezosentan grupları arasında anlamlı fark mevcut ($p < 0,05$). $n = 3-16$.

4.5. LPS ve Tezosenanın Kalp Üzerindeki Histopatolojik Etkileri

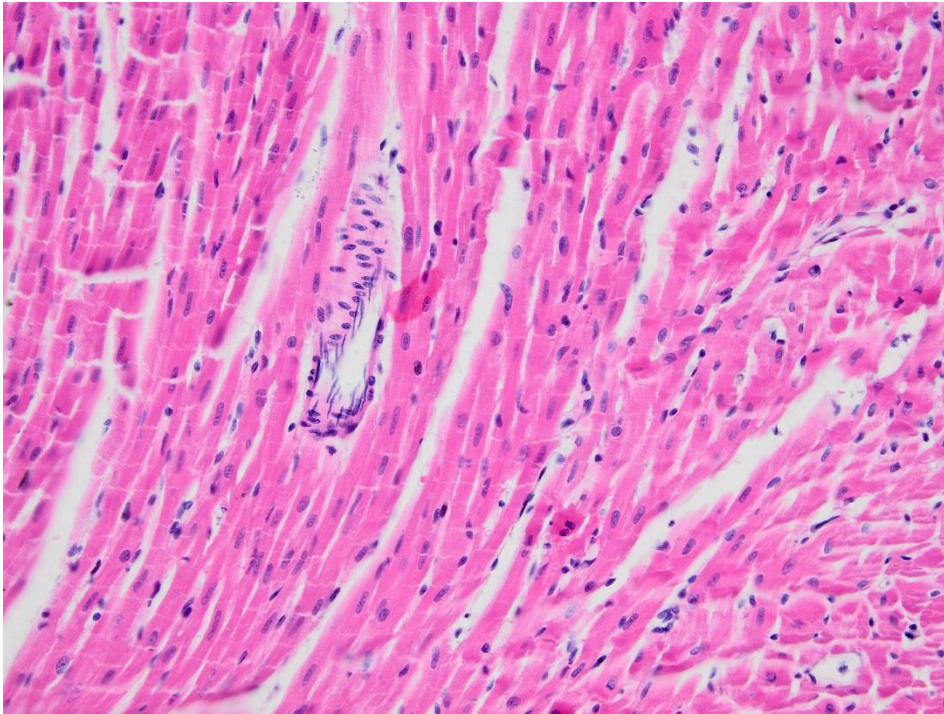
LPS enjeksiyonundan sonraki 4. saatte sakrifiye edilen hayvanların kalplerinde (Şekil 4.23) kontrol grubuna (Şekil 4.22.) göre, miyokardiyal morfoloji açısından anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Bununla birlikte inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve koroner damarların endotelinde histopatolojik olarak bir değişiklik saptanmadı.

LPS veya salinden 2 saat sonra tezosenanın verildiği ve 4. saatte sakrifiye edilen hayvanların kalplerinin Langendorff deneylerinden sonra fikse edilip sonrasında yapılan histopatolojik incelemelerinde, miyokardiyal morfolojide, inflamatuvar hücre göçü ve koroner damarların endotellerinin yapısı açısından, sadece LPS ve kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.25.).

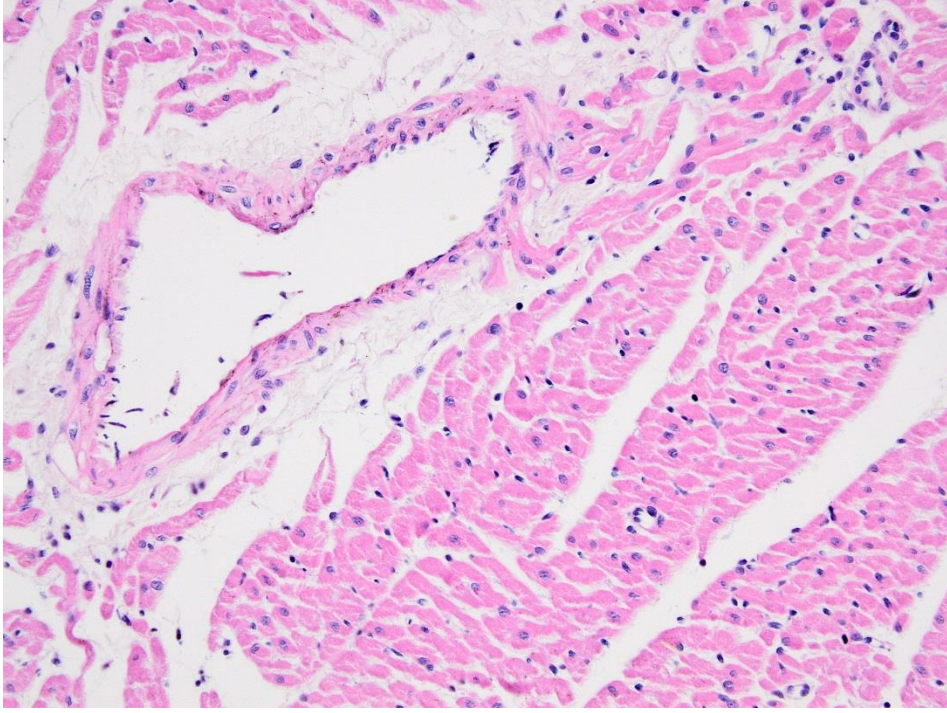
Tezosenanın histopatolojik olarak kontrol grubuna göre miyokardiyal morfoloji, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve koroner endotel morfolojisi açılarından anlamlı bir farka neden olmadı (Şekil 4.24.).



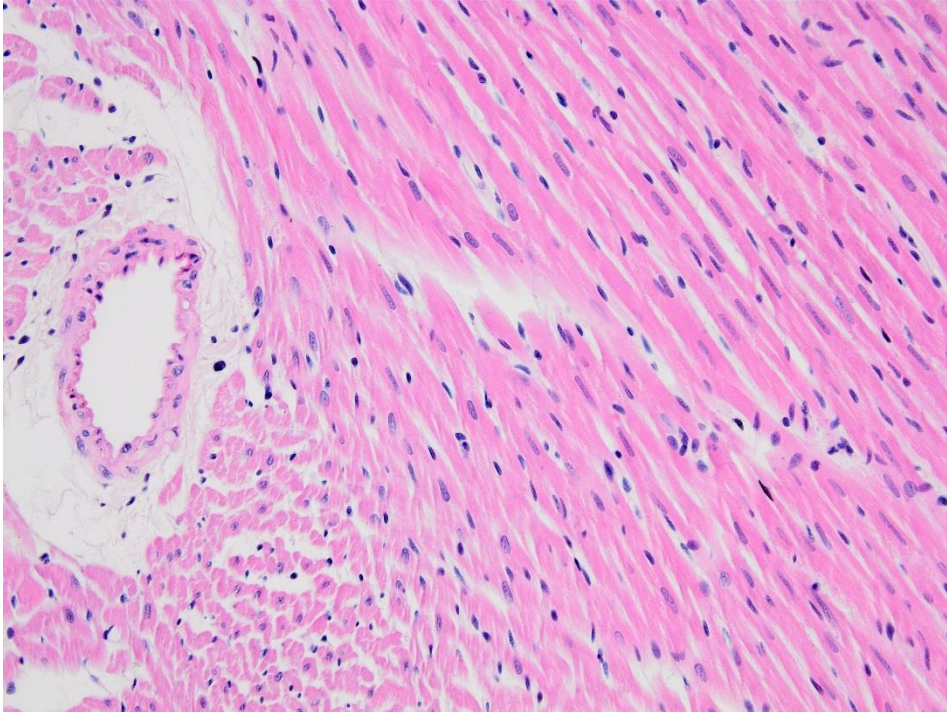
Şekil 4.22. Kontrol grubunun histopatolojik incelemesi



Şekil 4.23. LPS grubunun histopatolojik incelemesi.



Şekil 4.24. Tezosentan grubunun histopatolojik incelemesi.



Şekil 4.25. LPS + Tezosentan grubunun histopatolojik incelemesi.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, Langendorff deney düzeneğinde, LPS'in sol ventrikülün geliştirdiği basıncı, koroner akım hızını, kalbin kasılabilirliğini ve gevşeyebilirliğini gösteren sol ventrikül basınç zaman eğrisinin zamana göre türevinin maksimum ile minimum noktalarını azalttığı, lipopolisakkarit uygulamasından iki saat sonra yapılan intraperitoneal tezosentan enjeksiyonunun bu bozuklukları azalttığı gösterilmiştir. Gerek LPS'in gerekse tezosentanın bu etkileri izole organ banyosunda yapılan atriyum ve papiller kas çalışmalarında gözlenmemiştir. Bu durum izole organ preparatlarında koroner arterler olmadığı için miyokardiyal disfonksiyonun ortaya çıkmadığını ve Langendorff deneylerinde koroner arterlerin varlığından dolayı, lipopolisakkaritin neden olduğu kardiyak disfonksiyon oluştuğunu ve bu nedenle yine çoğunluğu endotel kaynaklı olan endotelinin antagonisti olan tezosentanın fonksiyonlarda düzelmelere neden olduğunu düşündürmektedir. Bilindiği kadarıyla bu çalışma, literatürde izole atriyum, papiller kas ve Langendorff izole kalp deneylerinin bir arada yapıldığı ilk çalışmadır.

Histopatolojik olarak kalp kasında bir değişiklik saptanmamış olması ve endotelin reseptör antagonisti tezosentan ile bozulan fonksiyonların geri dönmesi, bu fonksiyonel düzelmelerin damar endotelinden açığa çıkan endotelinin etkilerinin bloke edilmesiyle gerçekleştiğini desteklemektedir.

Daha önce Langendorff düzeneğiyle yapılan pek çok çalışmada LPS veya CLP ile oluşturulan sepsisin miyokardiyal fonksiyonlarda bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Thangamalai ve arkadaşları (141) sepsisin β_1 adrenoreseptör downregülasyonuna neden olarak miyokardiyal fonksiyon bozukluğuna neden olduğunu göstermişlerdir. TLR4 reseptörlerinin etkili olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (142). Ashruf ve arkadaşları (143) da mitokondriyal oksijen dinamiklerinin bozulduğunu göstermişlerdir. Li ve arkadaşları (144) fenilefrinin PI3K/Akt yolağını kullanarak sepsisin neden olduğu kardiyak inflamasyonu düzelttiği göstermişlerdir.

Bu çalışmada LPS ile indüklenmiş sepsisin 4. saatte kalpte miyokardiyal disfonksiyona neden olduğunu gösterilmiştir. LPS enjeksiyonu sonrasında 2. saatte tezosentan enjeksiyonu bu disfonksiyonu azaltmıştır. Bunu yaparken Langendorff kalbinin atım sayısındaki artışı geri çevirmiş, azalmış olan miyokardiyal perfüzyon akımını artırmış, azalmış kasılabilirliği artırmış ve gevşemedeki bozulmayı hafifletmiştir. Hohlfield ve arkadaşları LPS'in zamana bağlı olarak koroner yatakta spazma neden olduğunu ve bunu TNF- α aracılığıyla endotelin-1 düzeyini artırarak yaptığını, anti TNF- α antikoru ve ET-A reseptör antagonisti kullanarak göstermişlerdir (127). Konrad ve arkadaşları (96) domuzlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada endotokseminin kardiyak parametreleri bozduğunu tezosentanın doza bağlı olarak bu bozulmayı hafiflettiğini göstermişlerdir. Biz çalışmamızda sadece 10 mg/kg'lık dozu kullandık. Doza bağlı etkilerini gözlemlemek adına farklı dozlarda tezosentan kullanmak çalışmamıza değer katabilirdi.

ET-1'in plazma ve kalp kasında, sepsisin indüklenmesinden yaklaşık 4 saat sonra arttığı ve 24 saat sonra normale döndüğü gösterilmiştir (145). Takayuki ve arkadaşlarının (146) yaptığı çalışmada farelerde 0,1 mg/kg LPS'in 6. saatte kalpte ET-1 seviyelerini artırdığı gösterilmiştir, ancak bu çalışmada 4. saate ait bir veri bulunmamaktadır. Bizim yaptığımız çalışmada 4. saatte hayvanları sakrifiye edip kalplerini Langendorff düzeneğine veya izole organ banyosuna yerleştirilmiştir. 6. veya 12. saatte sakrifiye etmek endotelinin etkilerini göstermek için daha etkili bir yöntem olarak düşünülebilir. Yapılan başka bir çalışmada bigET-1 molekülünün hayvanlara verilmesi sonucunda plazmada artış olmaksızın kalp kasında ET-1 gen ekspresyonunun arttığı ve sham hayvanlara ve CLP hayvanlara bigET-1 molekülü verildiği zaman benzer miyokardiyal disfonksiyonu yaptığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar geç olarak görülen miyokardiyal disfonksiyonda ET-1'in etkili olabileceğini düşündürmektedir (147). Yang ve arkadaşlarının (148) yaptığı çalışmada kalp kasında tek başına ET-1 ekspresyonunun artırımının, NF- κ B translokasyonu ve TNF- α ile diğer inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonlarının artışıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Tezosenanın *in vivo* olarak hayvana enjekte edilmesi miyokardiyal fonksiyonlarda düzelmeye yol açarken; banyo ortamında *ex vivo* olarak eklenmesi durumunda aynı etkilere yol açmamıştır. Literatürde tezosenanın farklı konsantrasyonlarda banyo ortamına eklendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu etki farkının nedeni, LPS'in diğer organlarda endotelin üzerinden yol açtığı etkiler sonucunda ortaya çıkan mediyatör veya gerçekleşen biyolojik olayların dolaylı olarak kalbi etkilemesi olabilir. Bu durumda LPS'in 2. saatinde hayvana enjekte edilen endotelin reseptör antagonisti bu etkilerin önüne geçiyor ve sonucunda kalp, kendisinde fonksiyon bozukluklarına yol açabilecek durumlardan daha az etkileniyor olabilir. LPS'in etkisiyle vücuttaki inflamatuvar hücrelerden salınan abartılı TNF- α , bu etkilerin bir nedeni olabilir. Zira, TNF- α 'nın önemli bir miyokardiyal depresan faktör olduğu bilinmektedir (149). Bununla birlikte endotelin-1 ve TNF- α arasında karşılıklı birbirinin sentezini artırma durumu göz önüne alındığında bu fark için önemli bir aday olabilmektedir (127, 148). Bu etki farkının aydınlatılması için daha geniş çalışmalar planlanmalıdır.

Bu çalışmada endotokseminin izole atriyum preparatında kolinerjik yanıtı etkilemediği gösterilmiştir. Bu durum literatürdeki bir çalışmayla çelişmektedir. Contreras ve arkadaşlarının (150) yaptığı bir çalışmada septik sıçanlarda elde ettikleri izole sağ atriyum preparatlarında asetilkoline aşırı duyarlılık olduğu gösterilmiştir. Ayrıca sağ atriyumda asetilkolinin yıkım ürünü olan kolin konsantrasyonunun kontrol hayvanlarına göre düşük olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada sepsis için kullanılan yöntem peritonit modeli ve peritonit gerçekleştirildikten bir gün sonra sağ atriyumlar izole edilip deneyler yapılmış. İki çalışma arasındaki farkın sebebi bu zamansal ve yöntemsel fark olabilir. Benzer şekilde Gholami ve arkadaşları (151) da yaptıkları çalışmada LPS enjeksiyonuyla sepsis oluşturdukları hayvanlardan izole edilen atriyumlarda kolinerjik stimülasyona azalmış cevap bulmuşlardır, adrenerjik yanıtı cevap ise hem kontrol grubunda hem de endotoksemik grupta benzer bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında izole atriyumun bazal atım sayısı LPS grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgu gerek LPS ile oluşturulmuş gerekse CLP yöntemiyle oluşturulmuş septik şok modellerinin kullanıldığı eski çalışmalara benzerdir. Atım sayısındaki bu artış, refleksif sempatik aşırı aktivasyon ve bazı inflamatuvar aracı moleküllerle ilişkilendirilmiştir (150, 152, 153). Tezosenanın septik hayvanlardan izole edilen atriyumlarda kullanıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Ancak seçici olmayan bir endotelin antagonisti olan bosentanın CLP ile oluşturulmuş modelde kullanıldığı bir çalışmada hiperdinamik fazda değil ama hipodinamik fazda bosentanın atriyum atım sayısını düşürdüğü gösterilmiştir (154). Bu tez çalışmasında tezosenanın her iki grupta da banyo ortamına ilave edilmesinin atım sayısını artırdığı gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında izole atriyum kasılmasının LPS sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde değişmediği gözlemlenmiştir. Bu bulgu literatürdeki diğer çalışmalarla benzerdir. Bu durumdan hücre içi kalsiyum dengesinin bozulması ile NO gibi mediyatörler mesul tutulmuştur (155, 156). Tezosenanın, izole atriyumlarda kullanıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanılmamıştır. Bosentanın kullanıldığı bir çalışmada bosentan hem hiperdinamik dönemde hem de hipodinamik dönemde atriyum kasılmasında kısmi bir düzelme sağlamıştır. Bizim çalışmamızda da hem kontrol grubunda hem de LPS grubunda kasılmada artışa yol açmaktadır. Ancak bu bahsedilen çalışmada bosentan hayvanlara verildikten sonra hayvanlar sakrifiye edilmiştir. Bu yönden iki çalışma arasında fark bulunmaktadır (154).

Papiller kas kasılması, LPS grubu ve kontrol grubu arasında benzer bulunmuştur. Literatürde papiller kas kasılmasının azaldığı çalışmalar da (157, 158), değişmediği çalışmalar da bulunmaktadır (154). Azaldığını gösteren çalışmaların kobaylar üzerinde yapıldığı ve türler arası farklılıklar olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Papiller kas kasılması hem LPS hem de kontrol grubunda benzer olunca tezosenanın kullandığı deneyler planlanmamıştır. Ancak tezosenanın izole atriyum üzerinde bulunan pozitif inotropik ve pozitif kronotropik etkileri göz önünde bulduğunda bu deneylerin gerçekleştirilmemesi bu tez çalışmasının eksik kalmış

yönlerinden biri olarak değerlendirilebilir. Literatürde papiller kas kasının kasılma amplitüdünün izoprenalin ve karbakol yanıtlarıyla ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Özer ve arkadaşlarının (154) CLP yöntemini kullanarak yaptığı çalışmada izoprenalin cevabı hiperdinamik dönemde değişmemiştir, hipodinamik dönemde ise artmış bulunmuştur. Karbakol cevabı ise hem hiperdinamik hem de hipodinamik dönemde değişmemiş olarak bulunmuştur.

Atriyum atım sayısının izoprenalin ve karbakol yanıtları LPS ve kontrol gruplarında benzer bulunmuştur. Atriyumun izoprenaline verdiği kasılma yanıtı kontrol ve LPS gruplarında farklı bulunmuştur. Literatürde tezosentanın izole atriyum atım sayısına septik hayvanlarda inceleyen bir çalışma bulunmamıştır. Bu tez çalışmasında, tezosentanın, izoprenaline atriyum atım hızı artışı yanıtını LPS ve kontrol gruplarında azalttığı; LPS grubunda izoprenalin kasılma yanıtını azalttığı gözlemlenmiştir. Tezosentanın kendisinin gösterdiği pozitif inotropi ve pozitif kronotropinin kalbi hız olarak eşik değerine yaklaştırdığı ve bu yüzden izoprenalinin etkisinin sönümlendiği düşünülmektedir. Tezosentanın bu özelliğine yönelik literatürde bir çalışma bulunmamıştır. Ancak ET-1'in kobay atriyumunda pozitif inotropik ve pozitif kronotropik etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalarla, tavşan ve insanda negatif inotropik olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (123). Bir çalışmada seçici olmayan endotelin reseptör antagonisti bosentanın izoprenalinin potensini artırdığı gösterilmiştir (154). Bir başka çalışmada da LPS grubunda izoprenalin yanıtının azaldığı gösterilmiştir.

Kontrol, LPS, kontrol+tezosentan ve LPS + tezosentan grupları arasında histopatolojik olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Sepsis gibi inflamatuvar ortamın olduğu bir klinik durumda, karaciğer ve dalakta gözlemlenen inflamatuvar hücre istilası görmek beklenebilirdi (159). Ancak bu LPS grubunda gözlenmemiştir. Öte yandan sepsiste yaygın endotelial disfonksiyon görülmektedir. Bunun ışık mikroskopunda göstergesi olarak endotel hücre şişmesi LPS grubunda gözlenmemiştir. Miyositlerde de yapısal, uzaysal bir hasar belirtisi gözlenmemiştir. Kardiyak disfonksiyon varlığında histopatolojik bir hasarın gösterilememesi

damardan salınan ve damar üzerinde etkileri olan bazı mediyatörlerin bu etkilerden sorumlu olduğunu desteklemektedir. Wang ve arkadaşları (160) köpeklerde yaptıkları çalışmada 2 mg/kg dozda LPS enjeksiyonundan 6 saat sonra sakrifiye etmişlerdir. Histopatolojik incelemede kanama ve ödem gözlemlenmiştir. Bu farka neden olabilecek olası etmenler; tür farkı, zaman farkı, fiksasyon farkı olabilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sıçanda, LPS ile oluşturulan septik şok modelinde kalp atım sayısı anlamlı olmayan bir şekilde azalırken, LPS enjeksiyonundan iki saat sonra tezosentan enjekte edilen hayvanlarda 4 saat sonra Langendorff düzeneğinde kalp atım sayısı anlamlı olarak artmıştır.

Sol ventrikülün geliştirdiği basınç, LPS enjekte edilmiş hayvanlarda belirgin olarak azalırken, sonrasında tezosentan tedavisi verildiğinde anlamlı bir şekilde yükselmiştir.

LPS enjeksiyonuyla sepsise girmiş hayvanlarda koroner perfüzyon akımı kontrol hayvanlarına göre azalırken, tezosentan tedavisi bu akım düşüşünü geri döndürmüştür.

LPS'li hayvanlarda miyokardiyal kasılabilirliği gösteren basıncın zamana göre türevinin en yüksek değeri (dP/dt_{max}) kontrol hayvanlarına göre azalırken, tezosentan tedavisi bu azalmada iyileşmeye yol açmaktadır. Benzer şekilde miyokardiyal gevşeyebilirliği gösteren ventrikül içi geliştirilen basıncın zamana göre türevinin en düşük değerinde ($-dP/dt_{min}$), LPS enjekte edilmiş hayvanlarda sağlıklı hayvana göre mutlak değerce azalma gözlenmiştir. Tezosentan tedavisi de uygulanmış hayvanlarda ise sadece LPS uygulanmış hayvanlara göre anlamlı bir şekilde bu parametre yüksektir.

LPS enjekte edilmiş sepsis grubuna veya salin enjekte edilmiş kontrol grubuna dinlenme periyodunun bittiği 20. dakikada *ex vivo* ortamda değişik konsantrasyonlarda tezosentan verilerek (1 μ M, 10 μ M, 100 μ M) gerçekleştirilen çalışmalarda iki grup için de tezosentan uygulaması 30. dakika ve 40. dakikada; sol ventrikülün geliştirdiği basınç, kalp hızı, basıncın zamana göre türevinin en büyük ve en küçük değerleri ve koroner perfüzyon akımı gibi parametrelerde oransal olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Tezosentanın direkt olarak deney hayvanına verilmesiyle banyo ortamına verilmesinin arasında terapötik olarak fark bulunması, tezosentanın vücudun başka yerlerinde başka etkileri de olduğunu ve miyokardiyal

performansı artırmasının bu diğer etkilerine ikincil olarak gerçekleştiğini düşündürmüştür. Bu etkiler başka organ sistemi üzerinde etkilerine sekonder gelişebileceği gibi kalbin inervasyonu üzerinde etki etmesi sonucunda da olabilir. Bu konunun yeni araştırmalarla aydınlatılması gerekmektedir.

LPS uygulaması izole atriyumun atım sayısını kontrol grubuna göre artırmaktadır. İzole atriyumun kasılması da LPS enjekte edilmiş hayvanlarda artmıştır ancak bu artış sınırdan anlamlı değildir. Tezoseptan uygulaması ise her iki grupta da atriyum atım sayısını artırmaktadır. Bu artış yine sınırdan anlamlı değildir. Lakin kullanılan hayvan sayısı göz önüne alındığında n sayısının artması durumunda anlamlı tarafa geçmesi olasıdır. Benzer şekilde atriyum kasılmasını da tezoseptan özellikle LPS grubunda anlamlı şekilde artırmaktadır.

Atriyum atım sayısının izoprenaline yanıtı LPS'li hayvanlarla kontrol grubu arasında benzerdir. Karbakol yanıtı da iki grup arasında benzerdir. İzole atriyum kasılma-izoprenalin yanıtları LPS grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmış bulunmuştur. Bu artış sonraki deneylerde tezoseptan inkübasyonu sonrasında ortadan kalkmış gibi görünmekle birlikte tezoseptanın kendisinin neden olduğu atriyum atım sayısındaki artışın atım sayısını eşik noktaya yaklaştırması ve dolayısıyla atım amplitüdünün daha fazla artmaması bir neden olabilir. Tezoseptanın bu etkisinin nedenleri ek çalışmalarla aydınlatılmalıdır.

LPS enjekte edilmiş hayvanlardan izole edilmiş papiller kasların izoprenaline kasılma yanıtı ve karbakole gevşeme yanıtıyla kontrol grubundaki hayvanlardan izole edilmiş papiller kasların bu maddelere yanıtları arasında fark yoktur.

Tezoseptan ve LPS uygulamaları kalpte kasılma fonksiyonlarında değişikliğe neden olurken histopatolojik olarak herhangi bir değişikliğe yol açmamaktadır. Ancak 4 saatlik sepsis süresi histopatolojik değişikliklerin görülmesi için yeterli olmayabilir. Işık mikroskopisiyle görülecek etkiler sınırlı olabilmektedir. Elektron mikroskopisi gibi hücre organelleri gösteren veya immünhisyokimya gibi hücre ve

dokudaki moleküler olayları gösteren yöntemler kullanılarak tezosentanın ve LPS'in kardiyomyosit üzerindeki etkileri daha ayrıntılı gösterilebilir.

Bu çalışmamızda fonksiyonel olarak lipopolisakkarit ve tezosentanın kalp kası üzerindeki etkilerini gösterdik. Ancak moleküler ve hücresel mekanizmaları aydınlatmak adına endotelin sisteminin hücre altı etkileri, lipopolisakkaritin direkt kalp kasındaki etkileri ve inflamatuvar hücre aracılığıyla neden olduğu moleküler değişiklikler göz önünde bulundurularak tezosentanın bu etkilere nasıl neden olduğu aydınlatılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin.* 2009;25(1):83-101, viii.
2. Gul F, Arslantas MK, Cinel I, Kumar A. Changing Definitions of Sepsis. *Turk J Anaesthesiol Reanim.* 2017;45(3):129-38.
3. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.
4. Gyawali B, Ramakrishna K, Dhmoon AS. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. *SAGE Open Med.* 2019;7:2050312119835043.
5. Levy MM, Artigas A, Phillips GS, Rhodes A, Beale R, Osborn T, et al. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2012;12(12):919-24.
6. Walkey AJ, Lagu T, Lindenauer PK. Reply: trends in sepsis and infection sources in the United States. A population-based study. *Ann Am Thorac Soc.* 2015;12(5):785.
7. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193(3):259-72.
8. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *New Engl J Med.* 2003;348(16):1546-54.
9. Esper AM, Martin GS. Extending international sepsis epidemiology: the impact of organ dysfunction. *Crit Care.* 2009;13(1):120.
10. Gotts JE, Matthay MA. Sepsis: pathophysiology and clinical management. *Bmj-Brit Med J.* 2016;353.
11. Angele MK, Pratschke S, Hubbard WJ, Chaudry IH. Gender differences in sepsis: cardiovascular and immunological aspects. *Virulence.* 2014;5(1):12-9.
12. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA.* 1995;274(8):639-44.
13. Martin GS, Mannino DM, Moss M. The effect of age on the development and outcome of adult sepsis. *Crit Care Med.* 2006;34(1):15-21.
14. Falagas ME, Kompoti M. Obesity and infection. *Lancet Infect Dis.* 2006;6(7):438-46.

15. Williams MD, Braun LA, Cooper LM, Johnston J, Weiss RV, Qualy RL, et al. Hospitalized cancer patients with severe sepsis: analysis of incidence, mortality, and associated costs of care. *Crit Care*. 2004;8(5):R291-8.
16. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *Lancet*. 2018;392(10141):75-87.
17. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 2009;302(21):2323-9.
18. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, Ranieri VM, Reinhart K, Gerlach H, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med*. 2006;34(2):344-53.
19. Vincent JL, Lefrant JY, Kotfis K, Nanchal R, Martin-Loeches I, Wittebole X, et al. Comparison of European ICU patients in 2012 (ICON) versus 2002 (SOAP). *Intensive Care Med*. 2018;44(3):337-44.
20. Rabuel C, Mebazaa A. Septic shock: a heart story since the 1960s. *Intens Care Med*. 2006;32(6):799-807.
21. Parker MM, Shelhamer JH, Bacharach SL, Green MV, Natanson C, Frederick TM, et al. Profound but reversible myocardial depression in patients with septic shock. *Ann Intern Med*. 1984;100(4):483-90.
22. Shapiro NI, Howell MD, Talmor D. Serum lactate as a predictor of mortality in emergency department patients with infection: Does the lactate level tell the whole story? In reply. *Annals of Emergency Medicine*. 2005;46(6):562-.
23. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*. 2003;101(10):3765-77.
24. Levi M. Pathogenesis and treatment of disseminated intravascular coagulation in the septic patient. *J Crit Care*. 2001;16(4):167-77.
25. Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest*. 2012;122(8):2731-40.
26. Doig CJ, Sutherland LR, Sandham JD, Fick GH, Verhoef M, Meddings JB. Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;158(2):444-51.
27. Walley KR, Francis GA, Opal SM, Stein EA, Russell JA, Boyd JH. The Central Role of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 in Septic Pathogen Lipid Transport and Clearance. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(11):1275-86.
28. Prowle JR, Bellomo R. Sepsis-associated acute kidney injury: macrohemodynamic and microhemodynamic alterations in the renal circulation. *Semin Nephrol*. 2015;35(1):64-74.
29. Tracey KJ. Reflex control of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(6):418-28.

30. Borovikova LV, Ivanova S, Zhang M, Yang H, Botchkina GI, Watkins LR, et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*. 2000;405(6785):458-62.
31. Ziaja M. Septic encephalopathy. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2013;13(10):383.
32. Iacobone E, Bailly-Salin J, Polito A, Friedman D, Stevens RD, Sharshar T. Sepsis-associated encephalopathy and its differential diagnosis. *Crit Care Med*. 2009;37(10 Suppl):S331-6.
33. Schramm P, Klein KU, Falkenberg L, Berres M, Closhen D, Werhahn KJ, et al. Impaired cerebrovascular autoregulation in patients with severe sepsis and sepsis-associated delirium. *Crit Care*. 2012;16(5):R181.
34. Cabrera-Perez J, Condotta SA, Badovinac VP, Griffith TS. Impact of sepsis on CD4 T cell immunity. *J Leukoc Biol*. 2014;96(5):767-77.
35. Walton AH, Muenzer JT, Rasche D, Boomer JS, Sato B, Brownstein BH, et al. Reactivation of multiple viruses in patients with sepsis. *PLoS One*. 2014;9(2):e98819.
36. Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, Merryweather J, Wolpe S, Milsark IW, et al. Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin. *Science*. 1986;234(4775):470-4.
37. Dunn DL. Role of endotoxin and host cytokines in septic shock. *Chest*. 1991;100(3 Suppl):164S-8S.
38. Schulte W, Bernhagen J, Bucala R. Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets--an updated view. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:165974.
39. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(1):34-45.
40. Ward PA, Gao H. Sepsis, complement and the dysregulated inflammatory response. *J Cell Mol Med*. 2009;13(10):4154-60.
41. Hartl WH, Jauch KW. Metabolic self-destruction in critically ill patients: origins, mechanisms and therapeutic principles. *Nutrition*. 2014;30(3):261-7.
42. Deretic V, Saitoh T, Akira S. Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(10):722-37.
43. Levy BD, Serhan CN. Resolution of acute inflammation in the lung. *Annu Rev Physiol*. 2014;76:467-92.
44. Fullerton JN, O'Brien AJ, Gilroy DW. Pathways mediating resolution of inflammation: when enough is too much. *J Pathol*. 2013;231(1):8-20.
45. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med*. 2013;41(2):580-637.

46. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, Ressler J, Muzzin A, Knoblich B, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med*. 2001;345(19):1368-77.
47. National Heart L, Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials N, Wiedemann HP, Wheeler AP, Bernard GR, Thompson BT, et al. Comparison of two fluid-management strategies in acute lung injury. *N Engl J Med*. 2006;354(24):2564-75.
48. Asfar P, Meziani F, Hamel JF, Grelon F, Megarbane B, Anguel N, et al. High versus low blood-pressure target in patients with septic shock. *N Engl J Med*. 2014;370(17):1583-93.
49. Waechter J, Kumar A, Lapinsky SE, Marshall J, Dodek P, Arabi Y, et al. Interaction between fluids and vasoactive agents on mortality in septic shock: a multicenter, observational study. *Crit Care Med*. 2014;42(10):2158-68.
50. Havel C, Arrich J, Losert H, Gamper G, Mullner M, Herkner H. Vasopressors for hypotensive shock. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011(5):CD003709.
51. De Backer D, Aldecoa C, Njimi H, Vincent JL. Dopamine versus norepinephrine in the treatment of septic shock: a meta-analysis*. *Crit Care Med*. 2012;40(3):725-30.
52. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med*. 2017;43(3):304-77.
53. Gordon AC, Perkins GD, Singer M, McAuley DF, Orme RM, Santhakumaran S, et al. Levosimendan for the Prevention of Acute Organ Dysfunction in Sepsis. *N Engl J Med*. 2016;375(17):1638-48.
54. National Heart L, Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials N, Rice TW, Wheeler AP, Thompson BT, Steingrub J, et al. Initial trophic vs full enteral feeding in patients with acute lung injury: the EDEN randomized trial. *JAMA*. 2012;307(8):795-803.
55. Fisher CJ, Jr., Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, et al. Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein. The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group. *N Engl J Med*. 1996;334(26):1697-702.
56. Opal SM, Fisher CJ, Jr., Dhainaut JF, Vincent JL, Brase R, Lowry SF, et al. Confirmatory interleukin-1 receptor antagonist trial in severe sepsis: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. The Interleukin-1 Receptor Antagonist Sepsis Investigator Group. *Crit Care Med*. 1997;25(7):1115-24.
57. McCloskey RV, Straube RC, Sanders C, Smith SM, Smith CR. Treatment of septic shock with human monoclonal antibody HA-1A. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. CHES Trial Study Group. *Ann Intern Med*. 1994;121(1):1-5.

58. Angus DC, Birmingham MC, Balk RA, Scannon PJ, Collins D, Kruse JA, et al. E5 murine monoclonal antiendotoxin antibody in gram-negative sepsis: a randomized controlled trial. E5 Study Investigators. *JAMA*. 2000;283(13):1723-30.
59. Opal SM, Laterre PF, Francois B, LaRosa SP, Angus DC, Mira JP, et al. Effect of eritoran, an antagonist of MD2-TLR4, on mortality in patients with severe sepsis: the ACCESS randomized trial. *JAMA*. 2013;309(11):1154-62.
60. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, et al. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med*. 2001;344(10):699-709.
61. Eichacker PQ, Natanson C, Danner RL. Surviving sepsis--practice guidelines, marketing campaigns, and Eli Lilly. *N Engl J Med*. 2006;355(16):1640-2.
62. Villa P, Sartor G, Angelini M, Sironi M, Conni M, Gnocchi P, et al. Pattern of cytokines and pharmacomodulation in sepsis induced by cecal ligation and puncture compared with that induced by endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1995;2(5):549-53.
63. Grandel U, Hopf M, Buerke M, Hattar K, Heep M, Fink L, et al. Mechanisms of cardiac depression caused by lipoteichoic acids from *Staphylococcus aureus* in isolated rat hearts. *Circulation*. 2005;112(5):691-8.
64. Iskit AB. Sepsiste Deneysel Modeller. *Yoğun Bakım Dergisi*. 2005;5(2):133-6.
65. Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res*. 1980;29(2):189-201.
66. Alexander JW, Gonce SJ, Miskell PW, Peck MD, Sax H. A new model for studying nutrition in peritonitis. The adverse effect of overfeeding. *Ann Surg*. 1989;209(3):334-40.
67. Martin L, Derwall M, Al Zoubi S, Zechendorf E, Reuter DA, Thiemermann C, et al. The Septic Heart: Current Understanding of Molecular Mechanisms and Clinical Implications. *Chest*. 2019;155(2):427-37.
68. Beesley SJ, Weber G, Sarge T, Nikravan S, Grissom CK, Lanspa MJ, et al. Septic Cardiomyopathy. *Crit Care Med*. 2018;46(4):625-34.
69. Rackow EC, Kaufman BS, Falk JL, Astiz ME, Weil MH. Hemodynamic response to fluid repletion in patients with septic shock: evidence for early depression of cardiac performance. *Circ Shock*. 1987;22(1):11-22.
70. Kakahana Y, Ito T, Nakahara M, Yamaguchi K, Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: pathophysiology and management. *J Intensive Care*. 2016;4:22.
71. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140(6):805-20.
72. Suffredini AF, Fromm RE, Parker MM, Brenner M, Kovacs JA, Wesley RA, et al. The cardiovascular response of normal humans to the administration of endotoxin. *N Engl J Med*. 1989;321(5):280-7.

73. Feng Y, Zou L, Chen C, Li D, Chao W. Role of cardiac- and myeloid-MyD88 signaling in endotoxin shock: a study with tissue-specific deletion models. *Anesthesiology*. 2014;121(6):1258-69.
74. Martin L, Schmitz S, De Santis R, Doemming S, Haase H, Hoeger J, et al. Peptide 19-2.5 inhibits heparan sulfate-triggered inflammation in murine cardiomyocytes stimulated with human sepsis serum. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127584.
75. Alhamdi Y, Abrams ST, Cheng Z, Jing S, Su D, Liu Z, et al. Circulating Histones Are Major Mediators of Cardiac Injury in Patients With Sepsis. *Crit Care Med*. 2015;43(10):2094-103.
76. Zhang C, Mo M, Ding W, Liu W, Yan D, Deng J, et al. High-mobility group box 1 (HMGB1) impaired cardiac excitation-contraction coupling by enhancing the sarcoplasmic reticulum (SR) Ca²⁺ leak through TLR4-ROS signaling in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;74:260-73.
77. Parrillo JE, Burch C, Shelhamer JH, Parker MM, Natanson C, Schuette W. A circulating myocardial depressant substance in humans with septic shock. Septic shock patients with a reduced ejection fraction have a circulating factor that depresses in vitro myocardial cell performance. *J Clin Invest*. 1985;76(4):1539-53.
78. Abraham E, Anzueto A, Gutierrez G, Tessler S, San Pedro G, Wunderink R, et al. Double-blind randomised controlled trial of monoclonal antibody to human tumour necrosis factor in treatment of septic shock. NORASEPT II Study Group. *Lancet*. 1998;351(9107):929-33.
79. Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science*. 1992;257(5068):387-9.
80. Schulz R, Rassaf T, Massion PB, Kelm M, Balligand JL. Recent advances in the understanding of the role of nitric oxide in cardiovascular homeostasis. *Pharmacol Ther*. 2005;108(3):225-56.
81. Bohm M, Kirchmayr R, Gierschik P, Erdmann E. Increase of myocardial inhibitory G-proteins in catecholamine-refractory septic shock or in septic multiorgan failure. *Am J Med*. 1995;98(2):183-6.
82. Shah AM, Spurgeon HA, Sollott SJ, Talo A, Lakatta EG. 8-bromo-cGMP reduces the myofilament response to Ca²⁺ in intact cardiac myocytes. *Circ Res*. 1994;74(5):970-8.
83. Zanotti-Cavazzoni SL, Hollenberg SM. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2009;15(5):392-7.
84. Xu C, Yi C, Wang H, Bruce IC, Xia Q. Mitochondrial nitric oxide synthase participates in septic shock myocardial depression by nitric oxide overproduction and mitochondrial permeability transition pore opening. *Shock*. 2012;37(1):110-5.

85. Brealey D, Brand M, Hargreaves I, Heales S, Land J, Smolenski R, et al. Association between mitochondrial dysfunction and severity and outcome of septic shock. *Lancet*. 2002;360(9328):219-23.
86. Takasu O, Gaut JP, Watanabe E, To K, Fagley RE, Sato B, et al. Mechanisms of cardiac and renal dysfunction in patients dying of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(5):509-17.
87. Martin L, Horst K, Chiazza F, Oggero S, Collino M, Brandenburg K, et al. The synthetic antimicrobial peptide 19-2.5 attenuates septic cardiomyopathy and prevents down-regulation of SERCA2 in polymicrobial sepsis. *Sci Rep*. 2016;6:37277.
88. Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: setting the stage. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(10):854-65.
89. Ganong's Review of Medical Physiology 24th Edition 2012.
90. Bao Y. [Dynamic changes of myocardial beta, alpha 1-adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in endotoxic rats]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 1990;70(7):382-5, 28.
91. Silverman HJ, Lee NH, el-Fakahany EE. Effects of canine endotoxin shock on lymphocytic beta-adrenergic receptors. *Circ Shock*. 1990;32(4):293-306.
92. Langendorff O. Untersuchungen am uberlebenden Saugethierherzen. *Pflugers Arch*. 1895;61:291-332.
93. Bell RM, Mocanu MM, Yellon DM. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 2011;50(6):940-50.
94. de Bakker JM, Coronel R, Tasseron S, Wilde AA, Opthof T, Janse MJ, et al. Ventricular tachycardia in the infarcted, Langendorff-perfused human heart: role of the arrangement of surviving cardiac fibers. *J Am Coll Cardiol*. 1990;15(7):1594-607.
95. Kadipasaoglu KA, Bennink GW, Conger JL, Birovljev S, Sartori M, Clubb FJ, Jr., et al. An ex vivo model for the reperfusion of explanted human hearts. *Tex Heart Inst J*. 1993;20(1):33-9.
96. Konrad D, Oldner A, Rossi P, Wanecek M, Rudehill A, Weitzberg E. Differentiated and dose-related cardiovascular effects of a dual endothelin receptor antagonist in endotoxin shock. *Crit Care Med*. 2004;32(5):1192-9.
97. Enna SJW, M. Short protocols in pharmacology and drug discovery: a compendium of methods from current protocols in Pharmacology.: Hoboken: J.Wiley & Sons; 2007.
98. Türk Farmakoloji Derneği Eğitim Sempozyumları Dizisi III İzole Organ Preparatları: Türk Farmakoloji Derneği Yayınları; 1994.
99. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411-5.

100. Webb DJ. Endothelin: from molecule to man. *Br J Clin Pharmacol*. 1997;44(1):9-20.
101. Haynes WG, Webb DJ. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet*. 1994;344(8926):852-4.
102. Bugaj V, Mironova E, Kohan DE, Stockand JD. Collecting duct-specific endothelin B receptor knockout increases ENaC activity. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2012;302(1):C188-94.
103. Gupta RM, Hadaya J, Trehan A, Zekavat SM, Roselli C, Klarin D, et al. A Genetic Variant Associated with Five Vascular Diseases Is a Distal Regulator of Endothelin-1 Gene Expression. *Cell*. 2017;170(3):522-33 e15.
104. Wei A, Gu Z, Li J, Liu X, Wu X, Han Y, et al. Clinical Adverse Effects of Endothelin Receptor Antagonists: Insights From the Meta-Analysis of 4894 Patients From 24 Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trials. *J Am Heart Assoc*. 2016;5(11).
105. Dhaun N, Webb DJ. Endothelins in cardiovascular biology and therapeutics. *Nat Rev Cardiol*. 2019.
106. Boss C, Bolli MH, Gatfield J. From bosentan (Tracleer(R)) to macitentan (Opsumit(R)): The medicinal chemistry perspective. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016;26(15):3381-94.
107. Krum H, Viskoper RJ, Lacourciere Y, Budde M, Charlon V. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. Bosentan Hypertension Investigators. *N Engl J Med*. 1998;338(12):784-90.
108. Bakris GL, Lindholm LH, Black HR, Krum H, Linas S, Linseman JV, et al. Divergent results using clinic and ambulatory blood pressures: report of a darusentan-resistant hypertension trial. *Hypertension*. 2010;56(5):824-30.
109. Sakai S, Miyauchi T, Kobayashi M, Yamaguchi I, Goto K, Sugishita Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. *Nature*. 1996;384(6607):353-5.
110. Gray GA, Webb DJ. The endothelin system and its potential as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 1996;72(2):109-48.
111. Webb DJ. Evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction in severe chronic heart failure. Endothelin antagonism in heart failure. *Circulation*. 1995;92(12):3372.
112. Zile MR, Bourge RC, Redfield MM, Zhou D, Baicu CF, Little WC. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of sitaxsentan to improve impaired exercise tolerance in patients with heart failure and a preserved ejection fraction. *JACC Heart Fail*. 2014;2(2):123-30.
113. McMurray JJ, Teerlink JR, Cotter G, Bourge RC, Cleland JG, Jondeau G, et al. Effects of tezosentan on symptoms and clinical outcomes in patients with acute

heart failure: the VERITAS randomized controlled trials. *JAMA*. 2007;298(17):2009-19.

114. Motte S, McEntee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. *Pharmacol Ther*. 2006;110(3):386-414.

115. Galie N, Barbera JA, Frost AE, Ghofrani HA, Hoeper MM, McLaughlin VV, et al. Initial Use of Ambrisentan plus Tadalafil in Pulmonary Arterial Hypertension. *N Engl J Med*. 2015;373(9):834-44.

116. Trachtman H, Nelson P, Adler S, Campbell KN, Chaudhuri A, Derebail VK, et al. DUET: A Phase 2 Study Evaluating the Efficacy and Safety of Sparsentan in Patients with FSGS. *J Am Soc Nephrol*. 2018;29(11):2745-54.

117. Barrera-Chimal J, Prince S, Fadel F, El Moghrabi S, Warnock DG, Kolkhof P, et al. Sulfenic Acid Modification of Endothelin B Receptor is Responsible for the Benefit of a Nonsteroidal Mineralocorticoid Receptor Antagonist in Renal Ischemia. *J Am Soc Nephrol*. 2016;27(2):398-404.

118. Abraham DJ, Vancheeswaran R, Dashwood MR, Rajkumar VS, Pantelides P, Xu SW, et al. Increased levels of endothelin-1 and differential endothelin type A and B receptor expression in scleroderma-associated fibrotic lung disease. *Am J Pathol*. 1997;151(3):831-41.

119. [Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT02047708>.

120. Vergouwen MD, Algra A, Rinkel GJ. Endothelin receptor antagonists for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a systematic review and meta-analysis update. *Stroke*. 2012;43(10):2671-6.

121. Voerman HJ, Stehouwer CD, van Kamp GJ, Strack van Schijndel RJ, Groeneveld AB, Thijs LG. Plasma endothelin levels are increased during septic shock. *Crit Care Med*. 1992;20(8):1097-101.

122. Pittet JF, Morel DR, Hensen A, Gunning K, Lacroix JS, Suter PM, et al. Elevated plasma endothelin-1 concentrations are associated with the severity of illness in patients with sepsis. *Ann Surg*. 1991;213(3):261-4.

123. Wanecek M, Weitzberg E, Rudehill A, Oldner A. The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur J Pharmacol*. 2000;407(1-2):1-15.

124. Molenaar P, O'Reilly G, Sharkey A, Kuc RE, Harding DP, Plumpton C, et al. Characterization and localization of endothelin receptor subtypes in the human atrioventricular conducting system and myocardium. *Circ Res*. 1993;72(3):526-38.

125. Ishikawa T, Yanagisawa M, Kimura S, Goto K, Masaki T. Positive inotropic action of novel vasoconstrictor peptide endothelin on guinea pig atria. *Am J Physiol*. 1988;255(4 Pt 2):H970-3.

126. Weitzberg E, Ahlborg G, Lundberg JM. Differences in vascular effects and removal of endothelin-1 in human lung, brain, and skeletal muscle. *Clin Physiol*. 1993;13(6):653-62.

127. Hohlfeld T, Klemm P, Thiemermann C, Warner TD, Schror K, Vane JR. The contribution of tumour necrosis factor-alpha and endothelin-1 to the increase of coronary resistance in hearts from rats treated with endotoxin. *Br J Pharmacol.* 1995;116(8):3309-15.
128. Svartholm E, Bergqvist D, Hedner U, Ljungberg J, Haglund U. Thromboxane A2-receptor blockade and prostacyclin in porcine Escherichia coli shock. *Arch Surg.* 1989;124(6):669-72.
129. Wanecek M, Rudehill A, Hensen A, Lundberg JM, Weitzberg E. The endothelin receptor antagonist, bosentan, in combination with the cyclooxygenase inhibitor, diclofenac, counteracts pulmonary hypertension in porcine endotoxin shock. *Crit Care Med.* 1997;25(5):848-57.
130. Wilson MA, Steeb GD, Garrison RN. Endothelins mediate intestinal hypoperfusion during bacteremia. *J Surg Res.* 1993;55(2):168-75.
131. Oldner A, Wanecek M, Weitzberg E, Sundin P, Sollevi A, Rubio C, et al. Differentiated effects on splanchnic homeostasis by selective and non-selective endothelin receptor antagonism in porcine endotoxaemia. *Br J Pharmacol.* 1999;127(8):1793-804.
132. Mitaka C, Hirata Y, Yokoyama K, Nagura T, Tsunoda Y, Amaha K. Improvement of renal dysfunction in dogs with endotoxemia by a nonselective endothelin receptor antagonist. *Crit Care Med.* 1999;27(1):146-53.
133. Morise Z, Ueda M, Aiura K, Endo M, Kitajima M. Pathophysiologic role of endothelin-1 in renal function in rats with endotoxin shock. *Surgery.* 1994;115(2):199-204.
134. Endo S, Inada K, Nakae H, Takakuwa T, Kasai T, Yamada Y, et al. Blood levels of endothelin-1 and thrombomodulin in patients with disseminated intravascular coagulation and sepsis. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 1995;90(2):277-88.
135. Ishizuka T, Takamizawa-Matsumoto M, Suzuki K, Kurita A. Endothelin-1 enhances vascular cell adhesion molecule-1 expression in tumor necrosis factor alpha-stimulated vascular endothelial cells. *Eur J Pharmacol.* 1999;369(2):237-45.
136. Cheng TH, Shih NL, Chen SY, Wang DL, Chen JJ. Reactive oxygen species modulate endothelin-I-induced c-fos gene expression in cardiomyocytes. *Cardiovasc Res.* 1999;41(3):654-62.
137. Fink M. Cytopathic hypoxia in sepsis. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.* 1997;110:87-95.
138. Clozel M, Ramuz H, Clozel JP, Breu V, Hess P, Loffler BM, et al. Pharmacology of tezosentan, new endothelin receptor antagonist designed for parenteral use. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;290(2):840-6.
139. Dingemans J, Clozel M, van Giersbergen PL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tezosentan, an intravenous dual endothelin receptor

antagonist, following chronic infusion in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2002;53(4):355-62.

140. Caracuel L, Jimenez-Altayo F, Romo M, Marquez-Martin A, Dantas AP, Vila E. Transient mesenteric ischemia leads to remodeling of rat mesenteric resistance arteries. *Front Physiol*. 2011;2:118.

141. Thangamalai R, Kandasamy K, Sukumarn SV, Reddy N, Singh V, Choudhury S, et al. Atorvastatin prevents sepsis-induced downregulation of myocardial beta1-adrenoceptors and decreased cAMP response in mice. *Shock*. 2014;41(5):406-12.

142. Zhang M, Zou L, Feng Y, Chen YJ, Zhou Q, Ichinose F, et al. Toll-like receptor 4 is essential to preserving cardiac function and survival in low-grade polymicrobial sepsis. *Anesthesiology*. 2014;121(6):1270-80.

143. Ashruf JF, Ince C. Myocardial Microcirculation and Mitochondrial Energetics in the Isolated Rat Heart. *Adv Exp Med Biol*. 2016;876:159-65.

144. Li HM, Li KY, Xing Y, Tang XX, Yang DM, Dai XM, et al. Phenylephrine Attenuated Sepsis-Induced Cardiac Inflammation and Mitochondrial Injury Through an Effect on the PI3K/Akt Signaling Pathway. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2019;73(3):186-94.

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

146. Shindo T, Kurihara H, Kurihara Y, Morita H, Yazaki Y. Upregulation of endothelin-1 and adrenomedullin gene expression in the mouse endotoxin shock model. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31 Suppl 1:S541-4.

147. Brahmbhatt S, Gupta A, Sharma AC. Bigendothelin-1 (1-21) fragment during early sepsis modulates tau, p38-MAPK phosphorylation and nitric oxide synthase activation. *Mol Cell Biochem*. 2005;271(1-2):225-37.

148. Yang LL, Gros R, Kabir MG, Sadi A, Gotlieb AI, Husain M, et al. Conditional cardiac overexpression of endothelin-1 induces inflammation and dilated cardiomyopathy in mice. *Circulation*. 2004;109(2):255-61.

149. Odeh M. Tumor necrosis factor-alpha as a myocardial depressant substance. *Int J Cardiol*. 1993;42(3):231-8.

150. Contreras P, Migliaro ER, Suhr B. Right atrium cholinergic deficit in septic rats. *Auton Neurosci*. 2014;180:17-23.


151. Gholami M, Mazaheri P, Mohamadi A, Dehpour T, Safari F, Hajizadeh S, et al. Endotoxemia is associated with partial uncoupling of cardiac pacemaker from cholinergic neural control in rats. *Shock*. 2012;37(2):219-27.

152. Yang S, Cioffi WG, Bland KI, Chaudry IH, Wang P. Differential alterations in systemic and regional oxygen delivery and consumption during the early and late stages of sepsis. *J Trauma*. 1999;47(4):706-12.

153. Takayama K, Yuhki K, Ono K, Fujino T, Hara A, Yamada T, et al. Thromboxane A2 and prostaglandin F2alpha mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med.* 2005;11(5):562-6.
154. Ozer EK, Iskit AB. Effects of endothelin and nitric oxide on cardiac muscle functions in experimental septic shock model. *Hum Exp Toxicol.* 2016;35(3):267-75.
155. Ashorobi RB, Kpohraror BO. Effects of calcium ions and atropine on endotoxin-induced contractility deficit in rat atrial muscle. *East Afr Med J.* 1995;72(4):263-6.
156. Keller RS, Jones JJ, Kim KF, Myers PR, Adams HR, Parker JL, et al. Endotoxin-induced myocardial dysfunction: is there a role for nitric oxide? *Shock.* 1995;4(5):338-44.
157. Parker JL, Adams HR. Myocardial effects of endotoxin shock: characterization of an isolated heart muscle model. *Adv Shock Res.* 1979;2:163-75.
158. Parker JL, Adams HR. Development of myocardial dysfunction in endotoxin shock. *Am J Physiol.* 1985;248(6 Pt 2):H818-26.
159. Iskit AB, Sungur A, Gedikoglu G, Guc MO. The effects of bosentan, aminoguanidine and L-canavanine on mesenteric blood flow, spleen and liver in endotoxaemic mice. *Eur J Pharmacol.* 1999;379(1):73-80.
160. Wang X, Su L, Yang R, Zhang H, Liu D. Myocardial strain/stress changes identified by echocardiography may reveal early sepsis-induced myocardial dysfunction. *J Int Med Res.* 2018;46(4):1439-54.

8. EKLER

Ek-1: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı



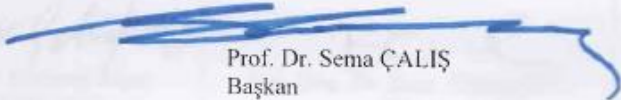
T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 52338575 - 125

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 28.11.2017 (SALI)
TOPLANTI SAYISI	: 2017/11
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2017/74
KARAR NUMARASI	: 2017/74 -02
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Alper B. İSKİT
HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI	: Süleyman Cihan KARA, Prof. Dr. Alper B. İSKİT
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 128 Adet Wistar Sıçan (200-300gr)

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Alper B. İSKİT' in araştırma yürütücüsü olduğu 2017/74 kayıt numaralı "*Deneysel Septik Şok Modelinde Tezosentan, S-Aminoetilöüre (AETU), Nw-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-Name) ve Aminoguanidine'in Kardiyak Disfonksiyon Üzerine Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.


Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Başkan

Ek-2: Dijital Makbuz**Dijital Makbuz**

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Süleyman Cihan Kara
Ödev başlığı: TEZ20190107
Gönderi Başlığı: ENDOTELİN RESEPTÖR ANTAGO...
Dosya adı: Dosya boyutu 2.48M
Sayfa sayısı: 93
Kelime sayısı: 15,163
Karakter sayısı: 103,421
Gönderim Tarihi: 03-Tem-2019 05:35PM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1148954042



Ek-3: Ekran Görüntüsü

ENDOTELİN RESEPTÖR ANTAGONİSTİ TEZOSENTANIN
 SIÇANDA LİPOLİSAKARİT İLE OLUŞTURULAN
 DENEYSEL SEPSİS MODELİNDE KARDİYAK DİSFONKSİYON
 ÜZERİNE ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 10 BENZERLİK ENDEKSİ	% 8 İNTERNET KAYNAKLARI	% 3 YAYINLAR	% 5 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	--------------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 4
2	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	% 1
3	d-nb.info İnternet Kaynağı	% 1
4	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	<% 1
5	Submitted to Afyon Kocatepe University Öğrenci Ödevi	<% 1
6	tbgder.org İnternet Kaynağı	<% 1
7	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	e.bangor.ac.uk	

9. ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı	Süleyman Cihan Kara
Doğum Yeri, Tarihi	Alanya, 13.02.1993
Uyruğu	T.C
İletişim Adresi	Ahmet Taner Kışlalı Mahallesi, Metiş Çayyolu Sitesi, 4. blok, No:13, Çankaya, ANKARA
İletişim Telefonu	0 537 889 02 82
E-posta Adresi	sck172@hotmail.com

Eğitim

Lise	Antalya Yusuf Ziya Fen Lisesi (2011) (Okul 1.si olarak)
Lisans	Hacettepe Üniversitesi İngilizce Tıp Fakültesi (2019)
Doktora	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı (2019)
Tıp-Bilim Doktoru Bütünleşik Programı	Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (2013-2019)

Ödüller

1. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Prof. Dr. Şeref Zileli Yılın Başarılı Stajyeri Ödülü, 2016

Yurt Dışı Stajları

1. Complutense Üniversitesi Clinico San Carlos Hastanesi Kardiyoloji Bölümü Yaz Stajı, Madrid, İspanya, 2014

Katılınılan Kurs, Toplantı ve Konferanslar

1. Hacettepe Üniversitesi MEDISEP Topluluğu Bilimsel Yayın Çalıştayı, Ankara, 2011

2. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Topluluğu (HUTBAT) Diabetes Mellitus Günü ve Kursu, Ankara, 2012
3. HÜKÖK (Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Topluluğu) 1. Kök Hücre ve Rejeneratif Tıp Günü, Ankara, 2012
4. Bilkent Üniversitesi Genetik Topluluğu, Horizons in Molecular Biology and Genetics V, Ankara, 2013
5. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Topluluğu (HUTBAT) Bilim Günleri, Ankara, 2013
6. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kulübü (ANTBAT) Uluslararası Tıp Öğrencileri Kongresi, Ankara, 2013
7. Hacettepe Üniversitesi Kök Hücre Araştırma ve Uygulama Merkezi (PEDI-STEM) Kök Hücre Günü, Ankara, 2013
8. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Temel ve İleri Yaşam Desteği Kursu, Ankara, 2019

ÜYELİKLER

1. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Topluluğu (HUTBAT), 2013
2. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Topluluğu (HUTBAT) Bilim Günleri Düzenleme Kurulu, 2013

